

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

TESE

Atributos Edáficos e Potencial Biotecnológico em
Ecossistemas Naturais e Agrícolas Costeiros do Rio
de Janeiro, Brasil

Júlia Ferreira Xavier

2025



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

**ATRIBUTOS EDÁFICOS E POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO EM
ECOSSISTEMAS NATURAIS E AGRÍCOLAS COSTEIROS DO RIO
DE JANEIRO, BRASIL**

JÚLIA FERREIRA XAVIER

Sob a Orientação da Professora
Irene da Silva Coelho

e Co-orientação dos Professores
Everaldo Zonta
Marcos Gervásio Pereira

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

Seropédica, RJ
Setembro de 2025

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

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

X3a

Xavier, Júlia Ferreira, 1993-

Atributos edáficos e potencial biotecnológico em ecossistemas naturais e agrícolas costeiros do Rio de Janeiro, Brasil / Júlia Ferreira Xavier.

- Seropédica, 2025.

92 f: il.

Orientadora: Irene da Silva Coelho.

Coorientadores: Everaldo Zonta e Marcos Gervasio Pereira

Tese (Doutorado). – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro,
Programa de Pós-Graduação em Agronomia-Ciência do Solo, 2025.

1. Organossolos. 2. Solos salinos. 3. Sustentabilidade. 4. Propriedades do solo. 5. Promoção de crescimento vegetal. I. Coelho, Irene da Silva, 1979-, orient. II. Zonta, Everaldo, 1970-, coorient. III. Pereira, Marcos Gervasio, 1965-, coorient. IV. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Agronomia-Ciência do Solo. V. Título.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Também teve o apoio da Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) – Processo nº E-26/201.678/2025 (310972).

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



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
(CIÊNCIAS DO SOLO)



HOMOLOGAÇÃO DE TESE DE DOUTORADO Nº 22 / 2025 – CPGA-CS (12.28.01.00.00.00.27)

Nº do Protocolo: 23083.058244/2025-71

Seropédica-RJ, 06 de outubro de 2025.

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

JÚLIA FERREIRA XAVIER

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

TESE APROVADA EM 30/09/2025.

Irene da Silva Coelho. Dra. UFRRJ
(Orientadora)

Caio Távora Rachid Coelho da Costa. Dr. UFRJ

Eduardo Carvalho da Silva Neto. Dr. UFRRJ

Luc Felicianus Marie Rouws. Dr. Embrapa Agrobiologia

Maria Elizabeth Fernandes Correia. Dra. Embrapa Agrobiologia

(Assinado digitalmente em 06/10/2025 18:38)

EDUARDO CARVALHO DA SILVA NETO

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR

DeptS (12.28.01.00.00.00.33)

Matrícula: 1246489

(Assinado digitalmente em 07/10/2025 13:59)

IRENE DA SILVA COELHO

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR

DMIV (12.28.01.00.00.00.54)

Matrícula: 1815763

(Assinado digitalmente em 20/10/2025 13:45)

LUC FELICIANUS MARIE ROUWS

ASSINANTE EXTERNO

CPF: 014.563.806-56

(Assinado digitalmente em 07/10/2025 15:15)

MARIA ELIZABETH FERNANDES CORREIA

ASSINANTE EXTERNO

CPF: 932.320.637-72

(Assinado digitalmente em 07/10/2025 09:51)

CAIO TAVORA RACHID COELHO DA COSTA

ASSINANTE EXTERNO

CPF: 313.854.138-08

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrrj.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número: 22, ano: 2025, tipo: **HOMOLOGAÇÃO DE TESE DE DOUTORADO**, data de emissão: 06/10/2025 e o código de verificação: **f4ed953b31**

AGRADECIMENTOS

Ao Sagrado por me proporcionar saúde e perseverança para concluir mais uma etapa da minha vida.

Aos meus pais, Silvana e Ubirajara, pelo amor e dedicação, e por me proporcionar suporte necessário para meus estudos e sempre ter incentivado aos meus propósitos.

A minha orientadora Prof^a Irene Coelho da Silva, pelos anos de orientação, confiança e conhecimentos transmitidos.

A Mam'etu Oiadeci (Lecticia Cordeiro), pelos momentos de incentivo. As minhas irmãs e irmãos do Centro de Cultura Afrobrasileiro Abaça Oyàsimbêlepá.

Ao meu companheiro Aluxini, pelo incentivo e parceria! Te amo!

A minha Mestre de capoeira Janete Góes, pelos ensinamentos transmitidos.

A todas e todos do Laboratório de Bacteriologia e Genética Molecular. Em especial, aos meus companheiros de laboratório Juliana, Érico, Maura, Fernanda e Rufino, grata pelo apoio e conversas.

Ao meu amigo João Victor da Silva, pela parceria nesses anos acadêmicos e incentivo.

Ao meus coorientares Everaldo Zonta e Marcos Gervasio Pereira, pela disponibilidade em ajudar e conceder o espaço e suporte necessário para a realização desse trabalho.

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. Ao PPGA-CS pelo ensino de pós-graduação.

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

E a CAPES e FAPERJ 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 Agrônômica 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. Em 2021, apresentou a dissertação intitulada “Isolamento e Caracterização de Bactérias Associadas a Rizosfera de Plantas Halófitas”. No ano de 2021 ingressou no Doutorado no Programa de Pós-graduação em Agronomia - Ciências do Solo pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, desenvolvendo trabalhos no tema de diversidade microbiana em organossolos, solos salinos e com a bioprospecção de bactérias rizosféricas.

RESUMO GERAL

Xavier, Julia Ferreira. **Atributos edáficos e potencial biotecnológico em ecossistemas naturais e agrícolas costeiros do Rio de Janeiro, Brasil.** 2025. 92f. Tese (Doutorado em Agronomia, Ciência do solo). Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, RJ, 2025.

Os ecossistemas costeiros possuem grande importância ecológica e econômica. No entanto, essas zonas estão sendo degradadas principalmente em decorrência das atividades humanas. A compreensão das propriedades físicas, químicas e biológicas dos solos costeiros torna-se fundamentais para o desenvolvimento de estratégias integradas de uso e manejo sustentável. Neste contexto, a presente tese foi estruturada em três capítulos, com o objetivo de avaliar os atributos edáficos e o potencial biotecnológico de solos em ecossistemas naturais e agrícolas costeiros do Rio de Janeiro, Brasil. No Capítulo I, foram analisados os impactos do manejo convencional nas propriedades edáficas de Organossolos Tiomórficos no estado do Rio de Janeiro. O manejo promoveu alterações significativas nas propriedades químicas e biológicas, incluindo redução do pH, do teor e do estoque de carbono orgânico, do conteúdo de nutrientes, da densidade da macrofauna e da atividade enzimática. Além disso, observou-se diminuição da diversidade bacteriana, com predominância de Chloroflexota nos solos cultivados e de Bacteroidota nas áreas de referência (regeneração natural sem manejo). No Capítulo II, foram avaliadas as propriedades químicas e a diversidade bacteriana da rizosfera de cinco espécies halófitas em diferentes ambientes salinos costeiros. As comunidades microbianas rizosféricas mostraram-se complexas e distintas entre as espécies, sendo fortemente influenciadas pelos atributos químicos do solo. Os filos dominantes foram Proteobacteria, Actinobacteria e Acidobacteria, com variações de espécies-chave de acordo com a planta hospedeira e o ambiente. No Capítulo III, a atividade da enzima ACC deaminase foi investigada em 105 isolados bacterianos provenientes da rizosfera de plantas halófitas, pertencentes às classes Gammaproteobacteria, Bacilli e Alphaproteobacteria. Dentre eles, 8,25% apresentaram capacidade de crescimento utilizando ACC como única fonte de nitrogênio. Com base nos resultados obtidos, evidenciou-se que os solos orgânicos costeiros apresentam elevada sensibilidade às pressões antrópicas, especialmente sob manejo agrícola convencional, que promoveu alterações significativas nos seus atributos químicos e biológicos. Verificou-se, ainda, que a rizosfera de plantas halófitas abriga comunidades bacterianas altamente específicas, moldadas pela combinação entre espécie vegetal e condições edáficas; e que os ecossistemas costeiros naturais podem ser ambientes promissores para o isolamento de bactérias promotoras de crescimento vegetal, ressaltando seu potencial biotecnológico e a necessidade de conservação desses ambientes.

Palavras-chave: Organossolos. Solos salinos. Sustentabilidade. Propriedades do solo. Promoção de crescimento vegetal.

GENERAL ABSTRACT

Xavier, Julia Ferreira. 2025. **Edaphic attributes and biotechnological potential in natural and agricultural coastal ecosystems of Rio de Janeiro, Brazil**. 92p. Thesis (Doctorate in Agronomy, Soil Science). Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2025.

Coastal ecosystems hold significant ecological and economic importance. However, these areas are currently undergoing degradation, mainly due to human activities. Understanding the physical, chemical, and biological properties of coastal soils is crucial for developing integrated strategies for sustainable use and management. In this context, this thesis was structured into three chapters, aiming to evaluate the edaphic attributes and the biotechnological potential of soils within natural and agricultural coastal ecosystems in Rio de Janeiro, Brazil. In Chapter I, the impacts of tillage on the edaphic properties of organic soils in Rio de Janeiro state were analyzed. The management promoted significant changes in chemical and biological properties, including a reduction in pH, organic carbon content and stock, nutrient levels, macrofauna density, and enzymatic activity. Furthermore, a decrease in bacterial diversity was observed, with a predominance of Chloroflexota in cultivated soils and Bacteroidota in reference areas (natural regeneration without management). Chapter II evaluated the chemical properties and bacterial diversity of the rhizosphere of five halophyte species across different coastal saline environments. The rhizospheric microbial communities proved to be complex and distinct among the species, being strongly influenced by the soil's chemical attributes. The dominant phyla were Proteobacteria, Actinobacteria, and Acidobacteria, with variations in key species according to the host plant and the environment. In Chapter III, the activity of the ACC deaminase enzyme was investigated in 105 bacterial isolates from the rhizosphere of halophytes, belonging to the classes Gammaproteobacteria, Bacilli, and Alphaproteobacteria. Among these, 8.25% demonstrated the ability to grow using ACC as the sole nitrogen source. Based on the results obtained, it was demonstrated that coastal organic soils exhibit high sensitivity to anthropogenic pressures, particularly under conventional agricultural management, which led to significant changes in their chemical and biological attributes. It was also observed that the rhizosphere of halophytic plants hosts highly specific bacterial communities shaped by the interplay between plant species and edaphic conditions. Furthermore, natural coastal ecosystems may represent promising environments for the isolation of plant growth-promoting bacteria, highlighting their biotechnological potential and the need for conservation of these habitats.

Key words: Histosol. Saline soil. Sustainability. Soil properties. Plant growth promotion.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Diagrama das áreas de estudo com mapa e localização. (a) paisagem da área de coleta; (b) área de plantio convencional de mandioca; (c) área de referência – floresta secundária em regeneração natural. 16
- Figura 2.** Esquema representativo do processo de coleta e amostragem de solos em campo. (a) Visualização das trincheiras utilizadas para a exposição do perfil do solo; (b) detalhamento das camadas do solo e dos respectivos atributos que foram analisados. 17
- Figura 3.** Esquema do procedimento de coleta e caracterização da macrofauna edáfica. (a) Amostragem de monólitos de solo em campo; (b) processo de triagem dos organismos em laboratório; (c) identificação taxonômica e quantificação dos indivíduos encontrados.... 18
- Figura 4.** (a) Abundância relativa (%) da macrofauna da serrapilheira nas áreas de cultivo e floresta. (b) Abundância relativa da macrofauna do solo na profundidade de 0-10 cm nas áreas de cultivo e floresta. 24
- Figura 5.** Análise de Componentes Principais (CAP) com base nas características edáficas dos solos, diferenciando áreas de cultivo (azul) e floresta (verde). 25
- Figura 6.** Índices de alfa diversidade (riqueza, índices Shannon e Gini-Simpson). Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre as áreas de cultivo e floresta. . 26
- Figura 7.** Composição taxonômica bacteriana em solos de cultivo e floresta. (a) Diagrama de Venn demonstrando o compartilhamento de ASVs bacterianos entre as áreas e (b) abundância relativa dos filos bacterianos na profundidade de 0-10 cm de solos de áreas de cultivo e floresta. 26
- Figura 8.** Composição diferencial da comunidade bacteriana nos solos de cultivo e floresta. (a) diferenciação entre filos bacterianos; (d) diferenciação entre famílias bacterianas. 27
- Figura 9.** Redes de coocorrência microbiana (interações) em solos de cultivo e floresta. Os grupos altamente correlacionados ($|r| \geq 0,75$ e $p \leq 0,05$) foram representados no gráfico. Cada nó representa um ASV, colorido de acordo com o filo correspondente, enquanto as arestas indicam correlações positivas (linhas azuis) e negativas (linhas vermelhas). 28
- Figure 10.** Diagram representing the collection areas with a map of the area, location, landscape, and plant species present in the region. (a) Guaratiba/RJ Hypersaline Plain - Plant (a1) *Salicornia fruticosa*; (b) Surroundings of the hypersaline lagoon in Saquarema/RJ - Plant (b1) *Sporobolus virginicus* and plant (b2) *Cyperus ligularis*; (c) Abandoned salt pan area in São Pedro da Aldeia/RJ - Plant (c1) *S. fruticosa* and (c2) *Blutaparon portulacoides*. 39
- Figure 11.** Main alpha-diversity indices and structure of bacterial communities comparing the halophytes plant rhizosphere. Log10 of the number of ASVs (a), Shannon index (b) and Simpson (c). Samples connected by the horizontal line differed significantly by the Dunn post-hoc test ($p < 0.05$). Multivariate models based on non- metric multidimensional scaling (NMDS) and unweighted UniFrac distance matrix (d) and distance-decay based on the Bray-Curtis distance matrix as a function of the geographic distance between collection points (e) and the soil edaphic distance (f). Rhizosphere systems: S1 - *Salicornia fruticosa* in a hypersaline plain; S2 - *Sporobolus virginicus* in a hypersaline lagoon; S3 - *Cyperus ligularis* in a hypersaline lagoon; S4 – *Salicornia fruticosa* in an abandoned salt pan; S5 - *Blutaparon portulacoides* in an abandoned salt pan. 43
- Figure 12.** Composition of bacterial taxa at each halophytes plant rhizosphere. Venn diagram showing the sharing of ASVs between sites (a) and relative frequency of the ten most abundant bacterial phyla (b) and eleven classes (c), where the percentages in parentheses represent the overall relative frequency of phyla and classes in the sum of all samples.

Rhizosphere systems: S1 - *Salicornia fruticosa* in a hypersaline plain; S2 - *Sporobolus virginicus* in a hypersaline lagoon; S3 - *Cyperus ligularis* in a hypersaline lagoon; S4 – *S. fruticosa* in an abandoned salt pan; S5 - *Blutaparon portulacoides* in an abandoned salt pan..... 45

Figure 13. Differential expression analysis (DEA) comparing enrichment at different taxonomic levels between the halophytes plant rhizosphere. The colored circles represent the DEA score of each ASV, being analyzed from the taxonomic level of phylum to genus (when possible). Sample S5 did not show any enriched ASVs. The vertices in the center of the graph represent significant correlations (<0.05) of the Spearman coefficient (ρ) between taxa, filtering absolute values ≥ 0.9 , a condition in which no significant correlations were found. The blue bars in the intermediate region more towards the center of the graph indicate the absolute abundance of the number of reads of each ASV. For this analysis, only the more abundant ASVs were considered, with reads ≥ 100 . Rhizosphere systems: S1 - *Salicornia fruticosa* in a hypersaline plain; S2 - *Sporobolus virginicus* in a hypersaline lagoon; S3 - *Cyperus ligularis* in a hypersaline lagoon; S4 – *Salicornia fruticosa* in an abandoned salt pan; S5- *Blutaparon portulacoides* in an abandoned salt pan. 46

Figure 14. Associations of chemical variables with bacterial taxa and relation of Euclidean distance of significant chemical elements with beta diversity. The monotonic associations contrasted the Spearman correlations between chemical variables and bacterial classes (a) and the Pearson correlations between chemical factors and the main alpha diversity metrics (b), thus highlighting the influence of Euclidean distance of P (c) and K (d) concentrations available in soil with beta diversity measured using the Bray–Curtis dissimilarity, demonstrating the linear influence of the concentrations of these elements on the differentiation of the structure of microbial communities (beta-diversity) in the investigated environments. Rhizosphere systems: S1 - *Salicornia fruticosa* in a hypersaline plain; S2 - *Sporobolus virginicus* in a hypersaline lagoon; S3 - *Cyperus ligularis* in a hypersaline lagoon; S4 – *Salicornia fruticosa* in an abandoned salt pan; S5 - *Blutaparon portulacoides* in an abandoned salt pan..... 47

Figure 15. Neutral model fitting for bacterial communities in halophyte plant rhizospheres. The occurrence frequency (occupancy) of the ASVs was demonstrated in relation to the relative abundance of the communities (a). The solid line curve shows the neutral model fitting, while the dashed line curves show the 95 % confidence intervals. ASVs that occur more frequently than predicted by the neutral model were shown above the upper dashed curve, while those that occur less frequently than predicted were demonstrated under the lower dashed curve. To classify the ASVs as part of the core, the cumulative explanatory value with the addition of the next ranking taxon to the core was calculated for each of the rhizosphere sets (b). The gray vertical lines distinguish the central taxa by the first-order difference and the colored dashed lines, by the last increase of 25% in the explanatory value by Bray-Curtis dissimilarity. The relative frequencies of the top ten phyla (c) and classes (d) that composed the rhizosphere cores were calculated. The values “m” and “RMSE” are the coefficient of the neutral model and the Root Mean Squared Error, respectively. Rhizosphere systems: S1 - *Salicornia fruticosa* in a hypersaline plain; S2 - *Sporobolus virginicus* in a hypersaline lagoon; S3 - *Cyperus ligularis* in a hypersaline lagoon; S4 – *Salicornia fruticosa* in an abandoned salt pan; S5 - *Blutaparon portulacoides* in an abandoned salt pan..... 49

Figure 16. Co-occurrence networks of the rhizosphere soils. The highly correlated groups (SparCC > 0.95 , $p < 0.01$) were demonstrated by the graph, showing the signal of correlation (positive and negative) and highlighting the nodes belonging to the main module (M1) through the standard colors of the niches. Rhizosphere systems: S1 -

Salicornia fruticosa in a hypersaline plain; S2 - *Sporobolus virginicus* in a hypersaline lagoon; S3 - *Cyperus ligularis* in a hypersaline lagoon; S4 – *Salicornia fruticosa* in an abandoned salt pan; S5 - *Blutaparon portulacoides* in an abandoned salt pan. 52

Figure 17. Functional prediction through the FAPROTAX database. Absolute number of predicted functions in total microbial communities (a); Relative frequency of the top ten predicted functions in each of the five microbial cores (b); Analysis of rarefaction curves of the predicted functions in each microbial core, highlighting the higher number of functions in the S3 system (highest position of the central sphere) compared to the other sites (c)..... 53

Figure 18. Classes mais abundantes de bactérias rizosféricas cultiváveis provenientes da rizosfera de plantas halófitas. 63

Figura 19. Placas de Petri contendo meio de cultura DF suplementado com (a) sulfato de amônio como fonte de nitrogênio, (b) sem fonte de nitrogênio e (c) ACC 3 mM como fonte de nitrogênio e isolado SS58, SS102 e SS150..... 65

Figura 20. Tubos de ensaio contendo meio de cultura líquido DF. Controle negativo: BR 11790 sem suplementação de nitrogênio; Controle positivo: BR11790 com suplementação de ACC como fonte de nitrogênio; *Bacillus* sp. e *Salinicola* sp.: isolados que apresentaram crescimento com suplementação de ACC. 66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Caracterização dos atributos químicos áreas de cultivo convencional e floresta. ...	23
Tabela 2. Densidade, riqueza e índices ecológicos da macrofauna edáfica da serrapilheira e da camada de 0-10 cm nas áreas de cultivo e floresta.	24
Tabela 3. Atividade das enzimas β -glicosidase e arilsulfatase comparando solos sob cultivo e solos de floresta.	25
Tabela 4. Atributos de rede de coocorrência microbiana (ou interações) em solos sob diferentes usos (cultivo e floresta).	27
Table 5. Chemical properties of soils from different saline environments.	40
Table 6. Attributes of the co-occurrence network of bacterial communities of rhizospheres soil in different saline environments.	51
Tabela 7. Descrição dos isolados bacterianos que cresceram em meio sólido com ACC como fonte de nitrogênio.	67

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA GERAL	3
2.1 Ecossistemas Costeiros	3
2.2 Solos em Ambientes Costeiros	3
2.2.1 Solos orgânicos tiomórficos	4
2.2.2 Solos salinos	5
2.3 Impactos do Uso e Manejo do Solo	6
2.4 Atributos Edáficos: Indicadores de Alterações no Solo	7
2.5 Microrganismos Promotores de Crescimento Vegetal: Atividade da ACC Deaminase ..	9
3. CAPÍTULO I IMPACTOS DO USO AGRÍCOLA NAS PROPRIEDADES EDÁFICAS DE ORGANOSSOLOS TIOMÓRFICOS NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO	11
3.1 RESUMO	12
3.2 ABSTRACT	13
3.3 INTRODUÇÃO	14
3.4 MATERIAL E MÉTODOS	16
3.4.1 Localização e caracterização das áreas de estudo	16
3.4.2 Análises químicas	17
3.4.3 Análises físicas	18
3.4.4 Análise da macrofauna	18
3.4.5 Análise enzimática	19
3.4.6 Análise estatística	19
3.4.7 Análise da diversidade de bactérias	19
3.4.8 Rede de coocorrência	20
3.5 RESULTADOS	22
3.5.1 Atributos químicos e físicos do solo	22
3.5.2 Macrofauna do solo	22
3.5.3 Análise da atividade enzimática do solo	24
3.5.4 Diversidade bacteriana	25
3.6 DISCUSSÃO	29
3.7 CONCLUSÕES	32
4. CAPÍTULO II DIFERENTES ESPÉCIES DE HALÓFITAS INFLUENCIAM A DIVERSIDADE MICROBIANA NA RIZOSFERA DE SOLOS IMPACTADOS PELA SALINIDADE	33
4.1 RESUMO	34
4.2 ABSTRACT	35
4.3 INTRODUCTION	36

4.4 MATERIALS AND METHODS.....	38
4.4.1 Study area and sampling	38
4.4.2 Chemical analyses of soil.....	39
4.4.3 Genomic DNA extraction from the rhizosphere and preparation of 16S rRNA libraries.....	40
4.4.4 Processing of raw genetic data.....	41
4.4.5 Statistical analysis	41
4.5 RESULTS	43
4.5.1 Diversity and structure of bacteria in the halophyte rhizosphere.....	43
4.5.2 Taxonomic composition and enrichment	44
4.5.3 Associations between bacterial diversity and soil chemical attributes	47
4.5.4 Core bacteria communities.....	48
4.5.5 Species co-occurrence in ecological interaction networks.....	50
4.5.6 Functional predictions based on the 16S rRNA gene	51
4.6 DISCUSSION	54
4.7 CONCLUSIONS	58
5. CAPÍTULO III BIOPROSPECÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS PROVENIENTES DE PLANTAS HALÓFITAS PRODUTORAS DE ACC DEAMINASE	59
5.1 RESUMO.....	60
5.2 ABSTRACT.....	61
5.3 INTRODUÇÃO	62
5.4 MATERIAL E MÉTODOS	63
5.4.1 Origem dos isolados.....	63
5.4.2 Avaliação da atividade da ACC deaminase – Método qualitativo.....	63
5.5 RESULTADOS	65
5.6 DISCUSSÃO	68
5.7 CONCLUSÕES	70
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	71
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73
8. ANEXOS	89

1. INTRODUÇÃO GERAL

As zonas costeiras abrangem ecossistemas de transição entre os ambientes terrestre e marinho, caracterizando-se por elevada complexidade ecológica (HECKBERT et al., 2011). Os ecossistemas costeiros ocupam cerca de 20% da superfície terrestre global, e exercem papel fundamental na regulação climática, na ciclagem de nutrientes e na manutenção da biodiversidade, além de sustentarem importantes atividades econômicas e sociais (BARBIER, 2013; MEHVAR et al., 2018; IPCC, 2019). Esses ambientes configuram relevantes centros econômicos e demográficos, abrigando cerca de um terço da população mundial (ASSESSMENT, 2005). Em razão dessa intensa ocupação e uso, a economia e a resiliência das comunidades costeiras dependem fortemente dos serviços ecossistêmicos fornecidos por esses ambientes (MEHVAR et al., 2018).

No entanto, esses ecossistemas especialmente nas regiões tropicais, estão sob enorme ameaça decorrente das mudanças climáticas e de atividades humanas (LEEMANS et al., 2005; IPCC, 2019). Desde 1900, mais da metade das áreas úmidas costeiras foram perdidas e, anualmente cerca de um quarto das zonas costeiras apresentam aumento das taxas de erosão (CROITORU, MIRANDA; SARRAF, 2019; IPCC, 2019). As alterações nas funções ecossistêmicas dessas áreas têm resultado em intensos processos de degradação ambiental e na consequente perda de serviços ecossistêmicos (ASSESSMENT, 2005; NEUMANN et al., 2015). A compreensão dos componentes bióticos, abióticos e dos impactos das atividades humanas é essencial para promover a sustentabilidade dos ambientes costeiros (GIMÉNEZ et al., 2010). Dessa forma, reforça-se a necessidade de estudos que detalhem o funcionamento dos ecossistemas costeiros, principalmente em ambientes tropicais. A caracterização edáfica dos solos costeiros é fundamental para o desenvolvimento de estratégias de manejo mais sustentáveis (ASSESSMENT, 2005; ROSOLEM et al., 2025). Entretanto, a complexidade e a dinâmica desses ambientes representam um desafio na plena compreensão das interações entre os processos ecológicos e os atributos edáficos (ROSOLEM et al., 2023).

O solo é o resultado de interações dinâmicas ao longo do tempo e do espaço entre o clima, os organismos vivos (como raízes de plantas, animais e microrganismos), o material de origem e a topografia (ELLERT et al., 1997; COLEMAN et al., 2004). Essas complexas interações entre componentes bióticos e abióticos repercutem em propriedades específicas do ecossistema (FRANK et al., 2015). Em ambientes costeiros, os solos podem apresentar particularidades edáficas que influenciam diretamente nas funções ecológicas e no potencial produtivo dessas áreas (SANTOS et al., 2020). As principais características edáficas encontradas nesses ambientes são o excesso de água, a salinidade e a presença de sulfetos (SANTOS et al., 2020).

As zonas úmidas costeiras são ambientes caracterizados pela drenagem deficiente, o que resulta na saturação do solo por água na maior parte do tempo (MEHVAR et al., 2018). O excesso hídrico, resultante do alagamento, leva à predominância de condições de anaerobiose e, conseqüentemente, à redução da taxa de decomposição da matéria orgânica (PEREIRA et al., 2005). Esse processo favorece o acúmulo significativo de matéria orgânica em ecossistemas costeiros, culminando na formação de solos orgânicos (PEREIRA et al., 2005). Adicionalmente, os solos orgânicos costeiros podem apresentar horizontes sulfúricos e/ou a presença de sais (PEREIRA et al., 2005). Apesar dessas limitações naturais inerentes, o uso agrícola é comumente relatado nessas áreas, sendo majoritariamente realizado pela agricultura familiar (EBELING et al., 2013). O uso e o manejo do solo em áreas agrícolas costeiras podem alterar profundamente os atributos edáficos, comprometendo a qualidade do solo e influenciando na diversidade biológica associada (SANTOS et al., 2020).

A salinidade é comumente relacionada aos ecossistemas costeiros devido à influência e do contato do solo com a água salina (SANTOS et al., 2020). A salinidade do solo caracteriza-se pela acumulação progressiva de sais solúveis na superfície, o que culmina na formação de crostas e manchas salinas (SANTOS et al., 2020). Embora a salinidade desses solos restrinja significativamente o seu potencial produtivo agrícola, os solos salinos costeiros são cruciais na proteção contra a degradação ambiental e na promoção da resiliência e recuperação de áreas impactadas (ETESAMI; BEATTIE, 2018; MEHVAR et al., 2018). As interações bióticas no solo são fortemente condicionadas por suas propriedades físicas e químicas (MILLERET et al., 2009). Dessa forma, diversas espécies vegetais desenvolveram adaptações para tolerar condições adversas como alagamento, salinidade, sodicidade e tiomorfismo, características comuns de solos costeiros, especialmente em áreas alagadas (SCHAEFFER-NOVELLI et al., 2005). Da mesma forma, os microrganismos presentes nesses ecossistemas são altamente adaptados às condições extremas, e desempenham papel essencial em ciclos biogeoquímicos (ETESAMI; BEATTIE, 2018). Além disso, podem contribuir para a tolerância ao estresse em plantas, atuando como importantes aliados na manutenção da funcionalidade ecológicas (ETESAMI; BEATTIE, 2018). Diante dessas características, esses microrganismos podem ser fontes promissoras de compostos e funções com potencial biotecnológico, especialmente para aplicações em agricultura e recuperação ambiental (ETESAMI; BEATTIE, 2018).

Apesar da relevância ecológica e socioeconômica dessas áreas, ainda são escassos os estudos que envolvem a caracterização edáfica e o potencial biotecnológico de solos em regiões costeiras tropicais. Dessa forma, a avaliação dos atributos edáficos de ecossistemas costeiros do estado do Rio de Janeiro pode contribuir em estratégias de uso e manejo sustentável desses ambientes. Neste contexto, as hipóteses do trabalho são que I – em função das práticas de manejo convencional do solo, ocorrem alterações significativas nas propriedades físicas, químicas e biológicas de Organossolos Tiomórficos, com destaque para o teor de carbono e para os atributos microbiológicos; II - que diferentes habitats associados a plantas halófitas abrigam padrões distintos de comunidades microbianas, refletindo em adaptações específicas às condições salinas; III - que a rizosfera de plantas halófitas são ambientes promissores para o isolamento de bactérias com potencial para produção de ACC deaminase.

A tese foi dividida em três capítulos: I - Impactos do uso agrícola nas propriedades edáficas de Organossolos Tiomórficos no estado do Rio de Janeiro, cujo o objetivo foi avaliar os efeitos do revolvimento e drenagem nas propriedades física, química e biológicas de Organossolos Tiomórficos; II - Diferentes espécies de halófitas influenciam a diversidade microbiana na rizosfera em solos impactados pela salinidade, cujo o objetivo foi analisar as comunidades bacterianas de plantas halófitas de diferentes ambientes costeiros no estado do Rio de Janeiro; III - Bioprospecção de rizobactérias provenientes de plantas halófitas produtoras de ACC deaminase, cujo o objetivo foi avaliar a atividade da ACC deaminase de rizobactérias de plantas halófitas.

2. REVISÃO DE LITERATURA GERAL

2.1 Ecossistemas Costeiros

Os ecossistemas costeiros englobam diversos ambientes de transição entre os sistemas terrestres e marinhos (HECKBERT et al., 2011). São predominantemente sistemas heterotróficos, em razão do elevado aporte de nutrientes e sedimentos oriundos de ambientes terrestres, transportados por rios e fluxos de maré (HECKBERT et al., 2011). Entre os ambientes costeiros, destacam-se as zonas úmidas que incluem ecossistemas como estuários, lagoas, solos orgânicos costeiros e praias (MEHVAR et al., 2018). Também são consideradas parte dessa categoria as zonas adjacentes à linha de costa que apresentam profundidade máxima de até 6 metros durante a maré baixa (BARBIER, 1994; ASSESSMENT, 2005).

Essas zonas úmidas possuem elevada importância ambiental, pois fornecem habitat para a vegetação nativa e fauna silvestre, contribuem para a redução da erosão, auxiliam na recarga de aquíferos, no armazenamento de água e na manutenção do fluxo hídrico em períodos secos (HAYASHI et al., 2016). Além disso, atuam na retenção de sedimentos e poluentes, melhoram a qualidade da água e garantem disponibilidade hídrica para usos na agricultura e na pecuária (HAYASHI et al., 2016). Esses ambientes apresentam relevância global como grandes estocadores de carbono sendo importantes no ciclo do carbono e na concentração de CO₂ na atmosfera (SERRANO et al., 2019). A conservação e restauração de ecossistemas costeiros são fundamentais para mitigação de mudanças climáticas, e contribuem para atingir metas e esforços de acordos globais para atenuar o aumento do aquecimento global (HOEGH-GULDBERG et al., 2019).

No Brasil, a zona costeira ocupa cerca de 9.200 km e aproximadamente 18% da população brasileira reside nessas áreas (ABREU, 2015). As atividades econômicas associadas aos ambientes costeiros representam 20% do Produto Interno Bruto, dessa forma, esses ambientes são extremamente importantes para a economia brasileira (ABREU, 2015; HADDAD et al., 2025). Esses ecossistemas estão sujeitos a intensas transformações, impulsionadas por fatores diretos e indiretos (ASSESSMENT, 2005). Os fatores diretos englobam forças naturais, como inundações e processos erosivos, cuja frequência e intensidade aumentam em função das mudanças climáticas (ASSESSMENT, 2005). Os impactos das mudanças climáticas, decorrentes principalmente do efeito antrópico dos gases de efeito estufa, podem alterar a composição atmosférica, resultando em alterações nos ecossistemas costeiros (ASSESSMENT, 2005). No entanto, os principais fatores diretos de alteração nos ecossistemas costeiros, principalmente no Brasil, incluem a conversão de terras, que modifica o uso e a cobertura do solo (ASSESSMENT, 2005; MACEDO-SOARES et al., 2010; MORAES et al., 2014). Entre os principais fatores indiretos das mudanças ambientais em áreas costeiras destacam-se o crescimento populacional e o desenvolvimento econômico (ASSESSMENT, 2005). Tanto os fatores diretos quanto os indiretos contribuem para a redução dos serviços ecossistêmicos costeiros, resultando na degradação dos ecossistemas e comprometendo o desenvolvimento sustentável nas zonas costeiras (MEHVAR et al., 2018).

2.2 Solos em Ambientes Costeiros

A formação e as propriedades dos solos em zonas costeiras são fundamentais para o manejo sustentável das terras, sobretudo em zonas úmidas (FINKL, 2019). Esses fatores determinam não apenas a capacidade produtiva, mas também a resiliência ecológica frente às mudanças climáticas e às pressões antrópicas (GIMÉNEZ et al., 2010; FINKL, 2019). Em regiões costeiras, a salinidade natural dos solos é uma condição recorrente, particularmente em áreas sob influência periódica das marés, que também estão sujeitas a episódios intermitentes

de excesso hídrico (SANTOS et al., 2020). Geralmente, as zonas úmidas apresentam deficiência em oxigênio (SANTOS et al., 2020). Em decorrência disso, a respiração do solo e a liberação de carbono provenientes da decomposição da matéria orgânica por microrganismos são significativamente reduzidas, promovendo maior acúmulo de matéria orgânica em comparação aos ecossistemas terrestres (SANTOS et al., 2020).

Os principais processos pedogenéticos desses solos incluem a gleização, a sulfidização, a paludização, a salinização e a solodização (FERREIRA et al., 2007; BOMFIM et al., 2015; GOMES et al., 2016; SARTOR et al., 2018; FERREIRA et al., 2023). A intensidade desses processos é influenciada por fatores locais e por fatores regionais, como a geologia e o clima (FERREIRA et al., 2010; GOMES et al., 2016; FERREIRA et al., 2022). Os solos tiomórficos são encontrados em zonas úmidas costeiras atuais ou antigas, e caracterizam-se pela influência da produção de ácido sulfúrico decorrente da oxidação de sulfetos, especialmente a pirita (FeS_2) (KARIMIAN et al., 2018). A complexidade e a variabilidade dinâmica dos ambientes costeiros representam desafios substanciais para a compreensão das interações entre os processos ambientais e os atributos edáficos (ROSOLEM et al., 2023).

2.2.1 Solos orgânicos tiomórficos

Os solos orgânicos hidromórficos apresentam características específicas que refletem ao ambiente de drenagem deficiente e saturação por água na maior parte do tempo (ONNAMPERUMA, 1972). A condição de deficiência de oxigênio leva a redução química de uma série de elementos ou compostos relacionados a dinâmica da matéria orgânica (ONNAMPERUMA, 1972). Esta condição propicia o acúmulo de matéria orgânica devido a redução da taxa de decomposição. De acordo com o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (SiBCS), os Organossolos são classificados como pouco evoluídos resultantes da acumulação de resíduos vegetais, em graus variáveis de decomposição (SANTOS et al., 2018). Dentre as classes de Organossolos, as que apresentam maior fragilidade e menor potencial agrícola são aquelas formadas em ambientes costeiros, onde a deposição e o acúmulo de matéria orgânica estão associados a influência das marés, com a ocorrência de horizonte sulfúrico e, ou, com alta presença de sais (PEREIRA et al., 2005).

No Brasil, apesar da importância ambiental e ecológica, os Organossolos são intensamente utilizados pela agricultura familiar (EBELING et al., 2013). A produção agrícola em áreas de Organossolos é restrita apresentando diversas limitações, principalmente as ocasionadas pelas condições de hidromorfismo, e normalmente exige o uso de drenagem do excesso de água (LOSS et al., 2015). Sob manejo convencional, práticas como o preparo intensivo do solo, o revolvimento frequente e a reduzida incorporação de resíduos vegetais aceleram a decomposição da matéria orgânica, resultando em significativo decréscimo de seu conteúdo ao longo do tempo (PEREIRA et al., 2005). Consequentemente, o manejo inadequado pode reduzir a fertilidade e comprometer o funcionamento ecológico desses ambientes altamente sensíveis.

Na zona costeira da cidade do Rio de Janeiro, os Organossolos ocupam aproximadamente 3,14% do território (LUMBRERAS; GOMEZ, 2004). Nas paisagens próximas à orla marítima dos bairros de Santa Cruz e Sepetiba, destacam-se Organossolos Tiomórficos sob influência direta da maré, caracterizados pela presença de materiais sulfídricos e condições hidromórficas (LUMBRERAS; GOMEZ, 2004). A utilização agrícola desses ambientes é expressiva, sobretudo por agricultores urbanos, embora muitas das práticas adotadas sejam inadequadas às condições ambientais e à elevada sensibilidade desses solos (EBELING et al., 2004). O manejo convencional, frequentemente baseado em drenagem excessiva, preparo intenso e baixa adição de matéria orgânica, tende a acelerar processos de degradação, incluindo subsidência, oxidação de sulfetos, acidificação e perda de carbono do

solo (EBELING et al., 2004; PEREIRA et al., 2005). Diante desse contexto, o estudo dos Organossolos, especialmente aqueles localizados em ambientes costeiros sensíveis, como os tiomórficos da zona oeste do Rio de Janeiro, torna-se essencial para compreender sua dinâmica ambiental, suas vulnerabilidades e os impactos decorrentes do uso inadequado.

2.2.2 Solos salinos

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 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).

As planícies hipersalinas (apicuns) são áreas planas com alta salinidade ou acidez, frequentemente relacionados a florestas de mangue; e estão localizadas na parte mais interna do ecossistema, acima do nível médio das marés altas (HADLISH; UCHA, 2009). Essas características favorecem condições hipersalinas nestes ambientes, que 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 (HADLISH; UCHA, 2009). Devido à alta salinidade, a vegetação presente nesse ambiente é composta por plantas halófitas, este grupo vegetal apresenta adaptações para tolerar ambientes salinos (DIAS et al., 2016). A alta salinidade e o hidromorfismo dos solos presentes nas planícies hipersalinas são fatores fortemente limitantes para o cultivo de espécies de interesse agrícola. A dessalinização e a drenagem nesses ambientes são técnicas inviáveis devido à proximidade com o mar, tornando essas áreas inaptas para produção agrícola, dessa forma, sendo recomendada para preservação ambiental (RAMALHO FILHO; BEEK, 1995). As planícies hipersalinas apresentam regime de alagamento, dessa forma, é comum o aumento da matéria orgânica no solo, apresentando horizontes superficiais com cores mais escuras e materiais orgânicos em decomposição (MARQUES et al., 2014).

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 km². 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).

2.3 Impactos do Uso e Manejo do Solo

Os solos são componentes essenciais dos ecossistemas, nesse ambiente ocorre processos ecológicos importantes para sistema terrestre (PEREIRA et al., 2018; WALL et al., 2012). Na perspectiva humana, ao longo da história das civilizações os solos foram fundamentais para as atividades básicas (WALL et al., 2012). A produção de alimentos, a qualidade da água e do ar são serviços ecossistêmicos do solo considerados como necessidades básicas humanas (PEREIRA et al., 2018). A qualidade e quantidade de serviços ecossistêmicos oferecidos dependem de características abióticas e bióticas do ecossistema como o clima e a biota (PEREIRA et al., 2018). Estas características determinam grande parte das propriedades e funções do solo que são a base para o abastecimento e regulação dos serviços ecossistêmicos (PEREIRA et al., 2018). As interações entre as propriedades físicas, químicas e biológicas do solo estão relacionados com as funções do solo (BLUM, 2005).

Os solos de áreas florestais sustentam uma elevada biodiversidade e proporcionam uma importante regulação ambiental, como a manutenção de nutrientes; inundações, erosão, pragas, e controle de doenças; reciclagem de resíduos e sequestro de carbono (ROBINSON et al., 2017). Os serviços prestados pelas florestas são extremamente importantes para situação social, econômica e de saúde humana, especialmente nos países em desenvolvimento que dependem de recursos naturais (LAKERVELD et al., 2015). Em áreas agrícolas, a produtividade está correlacionada com as propriedades do solo e com o manejo adotado (PEREIRA et al., 2018). A regulação dos serviços ecossistêmicos é fundamental para manter a produtividade agrícola. A capacidade do solo de conservar o conteúdo de carbono, água e nutrientes são características que determinam a produtividade e a vulnerabilidade a degradação (BALBI et al., 2015). O manejo não sustentável do solo pode causar efeitos negativos nos serviços ecossistêmicos em áreas agrícolas (PEREIRA et al., 2018).

A conversão de uma floresta com uma comunidade clímax a uma área de produção agrícola é comumente acompanhada de mudanças na composição e biomassa vegetal, na entrada e perdas de carbono orgânico e subsequentemente alterações no solo como diminuição da umidade, da estabilidade dos agregados e de porcentagem de espaço poroso (WEI et al., 2013; BEHESHTI et al., 2012; KHORMALI et al., 2009; GOLCHIN; ASGARI, 2008; SOLOMON et al., 2002). Estas mudanças podem refletir no metabolismo, biomassa e composição dos microrganismos, em atividades enzimáticas e no influxo de carbono orgânico;

todos esses fatores estão ligados a diminuição da qualidade e função do solo (DINESH et al., 2004; AN et al., 2008; CHAER et al., 2009). Após o desmatamento há a diminuição entrada de carbono orgânico que gera perda de matéria orgânica do solo e baixo sequestro de carbono nos solos ao longo do tempo; e finalmente um declínio na fertilidade e qualidade do solo (BEHESHTI et al., 2012; KHORMALI et al., 2009; AN et al., 2008; DINESH et al., 2004; GUO; GIFFORD, 2002; SOLOMON et al., 2002). Qualquer alteração nas propriedades dos solos pode levar mudanças em suas funções ecossistêmicas, que podem negativamente afetar a qualidade dos solos (HANNAM; BOER, 2004).

O aumento do uso intensivo do solo e o uso de pesticidas e herbicidas são as principais práticas que favorecem a degradação dos serviços ecossistêmicos (VAN ZANTEN et al., 2014). Como consequências aos distúrbios no solo devido as práticas não conservacionistas, diversos desserviços podem ser favorecidos como a acidificação, salinização, erosão, compactação, perda de água e nutrientes, emissão de gases de efeito estufa e aumento da poluição (PEREIRA et al., 2018). A degradação ambiental afeta diretamente a produtividade, e apresenta alto custo para restauração (ROBINSON et al., 2014). Enquanto, o manejo sustentável do solo tem impacto positivo nos serviços ecossistêmicos, mantendo ou melhorando esses serviços (KRAGT et al., 2014). As práticas sustentáveis de manejo do solo incluem principalmente a priorização de investimentos em restauração e conservação ambiental são bastante abordadas nos serviços ecossistêmicos (EGOH et al., 2007; WAINGER et al., 2010).

2.4 Atributos Edáficos: Indicadores de Alterações no Solo

O solo, dentre os recursos naturais, representa um importante indicador de sustentabilidade agrícola por ser diretamente afetado pelo uso ou manejo inadequado das áreas destinadas às atividades agrícolas, além de estar integrado a outros recursos naturais, como a água e a biodiversidade (SANTOS et al., 2018). Alterações nos atributos físicos, químicos e biológicos do solo podem indicar modificações em áreas antes cobertas por ecossistemas florestais nativos que foram submetidas a processos de antropização (FREITAS et al., 2017). Essas mudanças estão relacionadas a fatores de degradação que permitem identificar a resiliência do solo e sua capacidade de recuperação por meio de manejo apropriado ou até mesmo uma mudança no tipo de uso, de acordo com a aptidão agrícola do solo (FREITAS et al., 2017).

As propriedades físicas dos solos estão diretamente relacionadas aos processos que viabilizam o desenvolvimento radicular, o armazenamento hídrico, o fornecimento de nutrientes, a aeração (trocas gasosas) e a manutenção das atividades biológicas (ARSHAD et al., 1996). A estrutura representa o atributo físico do solo predominantemente afetado pela matéria orgânica. Em consequência, outras características físicas, como porosidade, densidade aparente, aeração, infiltração e retenção de água, sofrem alterações (CARDOSO et al., 2013). A densidade do solo é uma propriedade dinâmica e varia de acordo com a textura e condições estruturais do solo (ARSHAD et al., 1996). Solos de florestas nativas, sujeitos a menor interferência antrópica, tipicamente exibem menor densidade aparente (BINI et al., 2013). Isso se deve aos altos níveis de matéria orgânica, que promovem uma melhor agregação e estrutura edáfica (BINI et al., 2013). O processo de compactação do solo pode alterar a estrutura e aumentar sua densidade; que consequentemente irá diminuir a porosidade e reduzir a permeabilidade alterando o crescimento vegetal (BATEY; MCKENZIE, 2006). A estabilidade dos agregados se correlaciona com a erodibilidade do solo, pois influencia na infiltração, retenção de água, aeração e a resistência a penetração de raízes e erosão hídrica e eólica (TISDALL; OADES, 1982). Microagregados são mais estáveis e menos sensíveis ao uso e manejo do solo, sendo responsáveis pela estabilização do carbono orgânico em longo prazo

(SIX et al., 2004). Por outro lado, os macroagregados são mais suscetíveis ao manejo e estão particularmente relacionados à dinâmica da matéria orgânica no solo (SIX et al., 2004).

As propriedades químicas do solo estão relacionadas com variáveis referentes a fertilidade do solo como o valor de pH, teor de matéria orgânica, conteúdo de nutrientes, elementos tóxicos, saturação por bases (V%), CTC, saturação por alumínio (KAREN et al., 1992). O pH do solo representa um parâmetro essencial, pois se correlaciona diretamente com a disponibilidade/solubilidade dos nutrientes e exerce influência sobre a atividade microbiana (CARDOSO et al., 2013). O conteúdo de matéria orgânica dos solos é um fator importante para inferir sobre a qualidade do solo, pois a matéria orgânica é suscetível a alterações em relação as práticas de manejo e se relaciona com a maioria das propriedades do solo (MIELNICKZUK, 1999). A interação entre macronutrientes e micronutrientes no sistema solo-planta, assim como sua disponibilidade, é importante na avaliação da qualidade do solo em diferentes tipos de manejo (KAREN et al., 1992).

Os atributos biológicos dos solos são avaliados através da biodiversidade da macrofauna e dos microrganismos (TURCO; BLUME, 1999). Os indicadores biológicos do solo englobam processos relacionados à atividade microbiana e à decomposição da matéria orgânica, incluindo microrganismos e a atividade enzimática (CARDOSO et al., 2013). Também abrangem índices de abundância, diversidade e composição da fauna edáfica (como minhocas, nematoides e artrópodes), que são sensíveis às mudanças ambientais e amplamente utilizados para avaliar a qualidade e a recuperação dos solos (CARDOSO et al., 2013).

A macrofauna é composta por organismos como minhocas, térmitas e protozoários são frequentemente utilizados como bioindicadores (TURCO; BLUME, 1999). A macrofauna edáfica é amplamente reconhecida como um indicador sensível da qualidade do solo, refletindo os efeitos das práticas de conservação e manejo sobre os processos ecológicos e a sustentabilidade dos ecossistemas (COULIS, 2021; LI et al., 2021). Esses organismos têm papel de destaque em processos fundamentais do solo, como a ciclagem de nutrientes (QUADROS; ZIMMER, 2018), a humificação e mineralização da matéria orgânica (FROUZ, 2018; FROUZ et al., 2020), a taxa de infiltração de água devido à formação de canais e galerias (LAMOUREUX; O'KANE, 2012), alterações no pH e no teor de nitrogênio do solo (SHEEHAN et al., 2006; FROUZ et al., 2020) e a modificação da porosidade do solo (VAN VLIET et al., 1993; BOTTINELLI et al., 2010; MELO et al., 2019). A macrofauna pode influenciar as propriedades físicas e químicas do solo, e por sua vez, esses fatores abióticos, em interação com a comunidade vegetal, afetam direta e indiretamente a própria comunidade de macrofauna (CORREIA, 2002). Os invertebrados do solo são determinantes primários dos processos edáficos em ecossistemas tropicais (LAVELLE et al., 1994). A caracterização da atividade biológica e da diversidade do solo contribui para a compreensão de sua dinâmica, estrutura e fluxos de nutrientes (BLANCHART et al., 2006).

As atividades das enzimas do solo, biomassa e diversidade de microrganismos são importantes indicadores microbiológicos e de processos bioquímicos pois estão envolvidos na decomposição da matéria orgânica, no sequestro de carbono, na ciclagem e na disponibilidade de nutrientes (NANNIPIERI et al., 2002; DICK, 1997; SPARLING, 1997). Estes indicadores são utilizados para avaliar a fertilidade e qualidade do solo, e demonstram ser afetados negativamente pelas mudanças do uso do solo e atividades agrícolas (WANG et al., 2012; CHAER et al., 2009; AN et al., 2008; ACOSTA-MARTÍNEZ et al., 2003; TRASAR-CEPEDA et al., 2008). As enzimas do solo são mediadoras e catalizadoras de processos bioquímicos que são importantes para o funcionamento do solo, como a mineralização e a ciclagem de nutrientes, decomposição e formação de matéria orgânica do solo (AN et al., 2008). Estudos demonstram que a longo prazo que o plantio direto aumenta o conteúdo orgânico de carbono e atividades enzimáticas como amilohidrolases (L-asparaginase, L-glutaminase, amidase e urease), glicosidases (β -glucosidase, α -glucosidase, β -galactosidase e α -galactosidase), fosfatases

(fosfatase alcalina, fosfatase ácida e fosfodiesterase) e arilsulfatase (ACOSTA-MARTÍNEZ et al., 2003). A atividade da β -glucosidase está envolvida na etapa final de degradação de celulose, fornecendo açúcares simples para os microrganismos (ACOSTA-MARTÍNEZ et al., 1999). A enzima β -glucosaminidase está envolvida na hidrólise importante no processo de ciclagem de carbono e nitrogênio nos solos, participando de processos em que a quitina é convertida a açúcares amino, esta é a principal fonte de N mineralizável no solo (EKENLER; TABATABAI, 2002; STEVENSON, 1994;). Esta enzima é afetada pelos sistemas agrícolas e fertilização dos solos (EKENLER; TABATABAI, 2002). A atividade da arilsulfatase está envolvida em processos em que o enxofre orgânico é mineralizado (TABATABAI, 1994); e sua atividade total são afetadas pelo manejo do solo (NDIAYE et al., 2000; BANDICK; DICK, 1999; KLOSE et al., 1999). A fosfatase alcalina e fosfatase ácida catalisam a hidrólise de P orgânico e ácido fosfórico em P inorgânico (ACOSTA-MARTÍNEZ et al., 2003). Os microrganismos são as principais fontes de enzimas no solo, portanto, a composição das comunidades microbianas afeta fortemente o potencial do solo para catálise de um substrato mediada por enzimas (AN et al., 2008).

A atividade e a diversidade microbiana do solo desempenham papéis cruciais na sustentabilidade ao manterem funções essenciais para a saúde do solo, como a ciclagem de carbono e nutrientes (JEFFRIES et al., 2003; IZQUIERDO et al., 2005). Os indicadores microbianos são mais sensíveis a mudanças ambientais, como o uso e manejo do solo, do que os atributos físicos e químicos (MELO; MARCHIORI, 1999; MASTO et al., 2009). Por essa razão, eles podem antecipar qualquer distúrbio na sustentabilidade de um ambiente (). Interações complexas ocorrem entre microrganismos, plantas e solo na rizosfera; esta região específica é onde os microrganismos interagem com as plantas, e é diretamente afetado por exsudatos radiculares (KESWANI et al., 2019). A rizosfera é um ambiente de transformação de matéria orgânica e interações planta-microbioma (TIAN et al., 2020). Os microrganismos do solo podem utilizar diretamente os metabólitos presentes na rizosfera como fontes de carbono, especialmente compostos orgânicos de baixo peso molecular, que são derivados de exsudatos de raízes de plantas, metabólitos microbianos e decomposição de matéria orgânica vegetal, microbiana e do solo (DENNIS et al., 2010). Estes compostos orgânicos têm um forte impacto na estrutura da comunidade microbiana e vice-versa (SWENSON et al., 2018). A diversidade e a composição da comunidade bacteriana da rizosfera uma função principalmente das espécies de plantas e das propriedades do solo (VORHOLT et al., 2017). As populações de microrganismos sensíveis como bactéria, fungos e algas estão envolvidos em processos ecológicos no solo como desnitrificação e amonificação (VISSER; PARKINSON, 1992).

2.5 Microrganismos Promotores de Crescimento Vegetal: Atividade da ACC Deaminase

Diversos relatos demonstraram que bactérias rizoféricas promotoras de crescimento vegetal que foram isoladas de plantas halófitas são capazes de aumentar a tolerância a salinidade de espécies vegetais agrícolas (ETESAMI; BEATTIE, 2018). Estudos relacionados a diversidade e estrutura da comunidade microbiana da rizosfera de plantas halófitas favorecem o melhor entendimento dos mecanismos de tolerância a salinidade e interações com microrganismos rizosféricos (ETESAMI; BEATTIE, 2018; LI et al., 2021). A fixação de nitrogênio, solubilização de fósforo, produção de sideróforos, reguladores de crescimento, ácidos orgânicos e enzimas como ACC-desaminase e glucanase são mecanismos que promovem o crescimento vegetal (BERG, 2009; GLICK et al., 2007; HAYAT et al., 2010).

A exposição de plantas a condições de estresse, seja biótico ou abiótico, pode desencadear a síntese de etileno, que é conhecido como “hormônio do estresse” (OROZCO-MOSQUEDA et al., 2020). Nesse contexto, o etileno é um hormônio vegetal gasoso produzido por meio de um processo de biossíntese em duas fases, que envolve enzimas como a sintase 1-

aminociclopropano-1-carboxílica (ACS) e a ACC oxidase (OROZCO-MOSQUEDA et al., 2020; SHAHID et al., 2023). A biossíntese do etileno em vegetais é modulada por uma complexa interação de variáveis ambientais e fisiológicas. Dentre esses fatores, destacam-se a temperatura, a luminosidade, o estado nutricional, outros hormônios vegetais e a ocorrência de estresses biológicos (GLICK, 2013). Quantidades excessivas de etileno reduzem o crescimento radicular, e por consequência limita o crescimento vegetal (ARSHAD et al., 2002). As respostas das plantas à salinidade incluem uma sequência de mudanças em níveis moleculares, bioquímicos e fisiológicos (RYU; CHO, 2015).

Os microrganismos promotores, principalmente bactérias, podem modificar os níveis de hormônios endógenos das plantas pois é comum produzirem fito hormônios e seus precursores (ILANGUMARAN; SMITH, 2017; ZAHIR et al., 2010). A capacidade de secretar a enzima ACC deaminase confere aos microrganismos promotores o papel de atenuar a fitotoxicidade do etileno. Ao diminuir a concentração desse hormônio, a enzima minimiza a indução do estresse e, conseqüentemente, alivia os impactos fisiológicos negativos no desenvolvimento vegetal (ETESAMI; BEATTIE, 2018). A ACC deaminase é uma enzima produzida por microrganismos do solo que converte a ACC (1-aminociclopropano-1-carboxilato) em amônia e α -cetobutirato (SHAHID et al., 2023). A bactéria faz com que a planta sintetize mais ACC do que realmente precisa para exsudar o ACC (GLICK, 2013). Desse modo, o ACC exsudado é metabolizado pela bactéria e transformado em uma fonte de nitrogênio (GLICK, 2013). A amônia, por sua vez, serve para metabolismo de nitrogênio e α -cetobutirato para o metabolismo de carbono para a bactéria (JHA et al., 2021). Essa enzima desempenha um papel fundamental na interação com as plantas, já que a ACC deaminase catalisa o ACC (1-aminociclopropano-1-carboxilato), que é um precursor da produção de etileno nas plantas (SHAHID et al., 2023).

3. CAPÍTULO I

IMPACTOS DO USO AGRÍCOLA NAS PROPRIEDADES EDÁFICAS DE ORGANOSSOLOS TIOMÓRFICOS NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

3.1 RESUMO

Os Organossolos apresentam elevados teores de matéria orgânica e atuam como importantes reservatórios naturais de carbono. Entretanto, quando submetidos ao manejo convencional, tornam-se altamente suscetíveis à degradação, especialmente à perda de carbono. Dessa forma, o manejo adequado é essencial para a sustentabilidade desses solos. A hipótese científica do trabalho é que em função das práticas de manejo convencional do solo, ocorrem alterações significativas nas propriedades físicas, químicas e biológicas dos Organossolos Tiomórficos, com destaque para o teor de carbono e para os atributos microbiológicos. O objetivo deste trabalho foi avaliar e comparar as características edáficas de um Organossolo sob manejo agrícola e em área de floresta. Houve a redução do teor de carbono orgânico total, de nutrientes e a acidificação dos solos sob cultivo. Na caracterização da macrofauna, observou-se que a serrapilheira e o solo apresentaram composições distintas, e a densidade de organismos nos solos sob cultivo foi 69,5% menor do que na floresta. Verificou-se diminuição da atividade enzimática nos solos sob cultivo, com reduções de 19,85% para a β -glicosidase e 40,25% para a arilsulfatase, em relação à floresta. Houve uma distinção na estrutura das comunidades bacterianas nos solos sob cultivo e floresta. As diferenças entre as comunidades foram influenciadas pelas variáveis químicas do solo como teor de carbono e pH, e pela densidade do solo. A diversidade bacteriana dos solos sob cultivo foi reduzida, apresentando menores valores de riqueza, bem como dos índices de Shannon e Gini-Simpson. Nos solos sob cultivo, a rede de coocorrência apresentou maior densidade e porcentagem de interações positivas. A rede de ambas as áreas apresentou diversas espécies chave, porém a composição de espécies chave diferenciaram entre as áreas. De forma geral, observou-se que as práticas agrícolas adotadas alteraram os atributos químicos e biológicos do solo. A perda de carbono e a acidificação do solo evidenciaram que esses solos podem estar em processo de degradação. Os atributos químicos do solo, principalmente o teor de C e o pH possivelmente foram as principais variáveis que alteraram os atributos biológicos destes solos.

Palavras-chave: Atributos químicos. Macrofauna. Atividade enzimática. Diversidade bacteriana.

3.2 ABSTRACT

Organic soils contain high levels of organic matter and function as important natural carbon reservoirs. However, when subjected to conventional management practices, they become highly susceptible to degradation, particularly through carbon loss. Thus, appropriate management is essential to ensure their long-term sustainability. The scientific hypothesis of this study is that conventional soil management practices induce significant changes in the physical, chemical, and biological properties of organic soils, with particular emphasis on carbon content and microbiological attributes. The objective of this study was to evaluate and compare the edaphic characteristics of an *Organossolo* (Histosol) under agricultural management and in a forest area. In cultivated soils, reductions in total organic carbon, nutrient content, and an increase in soil acidity were observed. Macrofauna characterization revealed distinct compositions between the litter layer and the soil, and the density of organisms in cultivated soils was 69.5% lower than in the forest. Enzymatic activity was also reduced under cultivation, with decreases of 19.85% for β -glucosidase and 40.25% for arylsulfatase compared to the forest. The structure of bacterial communities differed between cultivated and forest soils. These differences were influenced by soil chemical variables such as carbon content and pH, as well as soil bulk density. Bacterial diversity in cultivated soils was lower, with reduced richness and lower Shannon and Gini–Simpson diversity indices. In cultivated soils, the co-occurrence network showed greater density and a higher percentage of positive interactions. Both areas presented several key species, although the composition of these species differed between them. Overall, the agricultural practices adopted altered the chemical and biological attributes of the soil. Carbon loss and soil acidification indicate that these soils may be undergoing degradation. Soil chemical attributes, particularly carbon content and pH, were likely the main factors driving changes in the biological properties of the *Organossolos Tiomórficos*.

Keywords: Soil chemical attributes. Macrofauna. Enzymatic activity. Bacterial diversity.

3.3 INTRODUÇÃO

Os Organossolos são solos pouco evoluídos e constituídos predominantemente por materiais orgânicos (SANTOS et al., 2018). Estes solos desenvolvem-se em condições geomórficas e climáticas específicas em que a produção de biomassa vegetal supera a decomposição, resultando no acúmulo gradual de matéria orgânica (MARTINI et al., 2006). A taxa de decomposição da matéria orgânica nestes solos é reduzida devido a vários fatores como baixas temperaturas, saturação por água no perfil do solo, extrema acidez, escassez de nutrientes e/ou altas concentrações de sais (MARTINI et al., 2006; VALLADARES et al., 2016). Tais condições, ao limitarem a atividade microbiana, reduzem as taxas de decomposição da matéria orgânica, favorecendo sua acumulação ao longo do tempo (VALLADARES et al., 2016).

De acordo com o Sistema Brasileiro de Classificação do Solos (SiBCS), os horizontes orgânicos diagnósticos são chamados de horizontes hísticos e apresentam coloração escura com conteúdo de $C \geq 80 \text{ g.kg}^{-1}$ (SANTOS et al., 2018). A formação dos horizontes hísticos (horizonte H) em regiões costeiras é fortemente influenciada pelo relevo plano e pela proximidade com o lençol freático, onde a drenagem deficiente favorece a acumulação de materiais sob saturação hídrica prolongada (PEREIRA et al., 2005; SANTOS et al., 2018). Nessas áreas, a influência da água marinha pode conferir características particulares para os Organossolos, como a presença de horizontes tiomórficos, marcados por altos teores de sulfatos, sulfetos e/ou sais (PEREIRA et al., 2005). A ocorrência desses horizontes ou de materiais sulfídricos no perfil do solo é um critério fundamental para a diferenciação das subordens dentro do grupo dos Organossolos (SANTOS et al., 2018).

Os Organossolos cobrem 3% da superfície terrestre (LIMPENS et al., 2008). No Brasil, estima-se que os Organossolos ocupem 0,03 – 0,07% de superfície terrestre (ANJOS et al., 2012). Embora possuam distribuição geográfica limitada, esses solos contêm aproximadamente 30% do carbono global presente na biomassa do planeta nas camadas do solo, destacando-os como grandes reservatórios naturais de carbono (LIMPENS et al., 2008). Os Organossolos desempenham funções ecossistêmicas importantes principalmente na dinâmica global da matéria orgânica do solo e na regulação do ciclo hidrológico (VALLADARES et al., 2016; SILVA NETO et al., 2023).

O cultivo em Organossolos geralmente demanda a adoção de práticas agrícolas específicas, como a drenagem e revolvimento do solo, que são essenciais para estabelecer as condições edáficas necessárias ao desenvolvimento das culturas (PEREIRA et al., 2005). Essas práticas provocam diversas modificações nas propriedades químicas, físicas e biológicas desses solos (DRIESSEN, 2001). No entanto, o uso agrícola de solos orgânicos oferece risco principalmente ambientais associado à perda de matéria orgânica e da poluição de recursos hídricos (PEREIRA et al., 2005).

A implantação de sistemas de drenagem é a etapa inicial e a mais crítica no manejo agrícola desses solos, por ser determinante para viabilizar seu uso produtivo (DRIESSEN, 2001). Uma vez que removido o excesso de água, os materiais orgânicos depositados irão se consolidar aumentando a densidade do material e conseqüentemente ocorre o rebaixamento superficial do solo (DRIESSEN, 2001). Esse processo é chamado de subsidência e resulta na degradação do solo caracterizada pelo aumento da aeração e do colapso dos poros (DRIESSEN, 2001). O aumento da aeração do solo favorece a atividade microbiana aeróbica, acelerando a decomposição da matéria orgânica, o que leva a significativas perdas de volume e massa do solo (PEREIRA et al., 2005). O revolvimento do solo, a aplicação de calcário e fertilizantes podem intensificar a taxa de mineralização da matéria orgânica (PEREIRA et al., 2005).

Dentre as classes de Organossolos, as que apresentam maior fragilidade e menor potencial agrícola são aquelas formadas em ambientes costeiros (PEREIRA et al., 2005). Em Organossolos Tiomórficos que são submetidos a influência marinha, a drenagem ocasiona um

ambiente que favorece maior oxidação e o sulfeto se transforma em sulfato, ocorrendo a formação de ácido sulfúrico, em que o pH pode se tornar inferior a 3,5 (OLIVEIRA et al., 1992). A redução do pH aumenta as limitações ao uso agrícola desses solos, comprometendo a disponibilidade de nutrientes e prejudicando o crescimento e o desenvolvimento do sistema radicular (PEREIRA et al., 2005).

A perda de carbono orgânico é uma das principais consequências do uso agrícola dos Organossolos (PEREIRA et al., 2005). A redução no aporte de matéria orgânica associada ao aumento da aeração do solo, favorece a perda de carbono para a atmosfera (PEREIRA et al., 2005). O processo de degradação em Organossolos pode liberar gases como CO₂ e CH₄, que contribuem com o efeito estufa (HAYES; CLAPP, 2001). Devido ao elevado teor de matéria orgânica acumulada, a taxa de liberação de carbono proveniente da oxidação desses solos, quando degradados, é alarmante (HAYES; CLAPP, 2001). Há estimativas de que essa emissão possa ser até 10 vezes superior àquela gerada por combustíveis fósseis, se comparada por unidade de área e tempo, evidenciando seu papel crítico nas mudanças climáticas (HAYES; CLAPP, 2001).

Esses solos apresentam importância econômica e social sendo utilizados principalmente por agricultores urbanos (SANTOS et al., 2023). Dessa forma, torna-se fundamental investigar os efeitos do manejo sobre as propriedades dos Organossolos, visando gerar subsídios técnicos e científicos para a definição de estratégias de manejo sustentável, que promovam a conservação de suas características edáficas e assegurem a manutenção de suas funções ecológicas (VALLADARES et al., 2016).

Considerando que a produção agrícola e o manejo do solo influenciam diretamente as características e a funcionalidade dos Organossolos, a análise dos atributos químicos, físicos e biológicos é essencial para estabelecer parâmetros que permitam mensurar o grau de degradação. Tais atributos podem servir como ferramentas estratégicas para orientar práticas de manejo mais adequadas, especialmente em sistemas conduzidos por agricultores familiares. Assim, a hipótese científica do trabalho é que em função das práticas de manejo com revolvimento e drenagem do solo, ocorrem alterações significativas nas propriedades físicas, químicas e biológicas de Organossolos Tiomórficos, com destaque para o teor de carbono e para os atributos microbiológicos, e o objetivo foi avaliar os impactos da drenagem e do revolvimento do solo nos atributos edáficos de Organossolos Tiomórficos do estado do Rio de Janeiro.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

3.4.1 Localização e caracterização das áreas de estudo

O estudo foi realizado em uma propriedade agrícola localizada na região de Santa Cruz, município do Rio de Janeiro, Brasil (Figura 1). O clima da região é classificado como Aw, segundo Köppen, com temperatura e precipitação média anual de 21°C e 2300 mm, respectivamente. Os solos presentes nessas áreas são formados por sedimentos argilo-arenosos ricos em matéria orgânica, normalmente com altos teores de sais e enxofre (DANTAS et al., 2011). Os solos presentes nessas áreas são classificados como Organossolos Tiomórficos Sápricos típicos, de acordo com Santos et al. (2021).

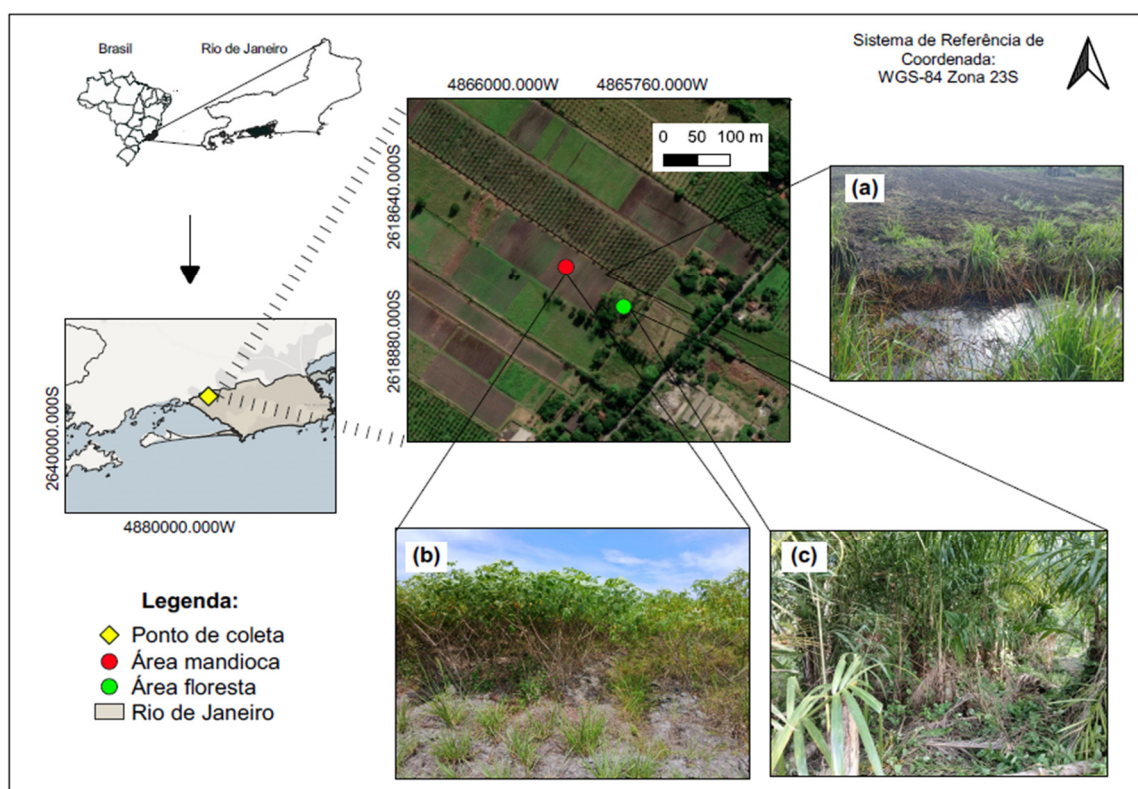


Figura 1. Diagrama das áreas de estudo com mapa e localização. (a) paisagem da área de coleta; (b) área de plantio convencional de mandioca; (c) área de referência – floresta secundária em regeneração natural.

Até a primeira metade do século XX, a região mantinha predominantemente características rurais, marcada por extensas áreas preservadas. A partir da década de 1940, a propriedade em questão foi habitada por agricultores familiares (SANTOS, 2020). Inicialmente esses agricultores receberam incentivos governamentais para a implementação de projetos de olericultura. Nas décadas subsequentes, as áreas cultivadas experimentaram uma redução da produtividade (SANTOS, 2020). Em resposta a esse declínio, há aproximadamente 25 anos, foram implementadas a adoção de culturas mais adaptadas às condições edafoclimáticas locais como coco (*Cocos nucifera*) e mandioca (*Manihot esculenta*) (SANTOS, 2020).

Para este estudo, foram selecionadas duas áreas com históricos de uso e práticas de cultivo distintos nos últimos 25 anos, sendo ambas originalmente submetidas a práticas de drenagem na década de 1940. E estão situadas em uma topografia relativamente plana, com uma elevação média de 1 metro acima do nível do mar. A área de referência (22°53'25" S,

43°42'40" O) corresponde a uma floresta tropical secundária (Figura 1c), onde a regeneração natural foi estabelecida por aproximadamente 25 anos. A vegetação atual é composta por espécies arbóreas, palmeiras e lianas. A área de cultivo (22°53'27''S, 43°42'38''O) (Figura 1b) foi utilizada para o plantio de mandioca (*Manihot esculenta*), utilizando preparo convencional do solo. O manejo incluiu aragem a uma profundidade de 0,20 m, seguida por gradagem, sulcamento e plantio em canteiros elevados de aproximadamente 0,30 m de altura.

A coleta dos solos ocorreu no período de abril de 2024. Em cada área, foram abertas cinco trincheiras, separadas por aproximadamente 20 metros de distância entre si (Figura 1a). Em cada trincheira, foram coletadas amostras de solo a granel nas seguintes profundidades: 0-10 cm, 10-20 cm, 20-40 cm e de 40-60 cm (Figura 2b). A coleta do solo nas profundidades de 40-60 cm foi realizada com o auxílio de um trado holandês. Para as análises laboratoriais dos atributos do solo, cinco amostras simples de cada profundidade foram homogeneizadas para formar um total de quatro amostras compostas por área e por profundidade.

As propriedades químicas do solo foram determinadas nas camadas de 0–10 cm, 10–20 cm e 20–40 cm. O estoque de carbono, a densidade do solo e a densidade de partículas foram avaliados nas camadas de 0–10 e 10–20 cm. A macrofauna foi analisada na serrapilheira e na camada superficial de 0–10 cm. A atividade enzimática e a diversidade bacteriana do solo foram determinadas apenas na camada de 0–10 cm (Figura 2b).

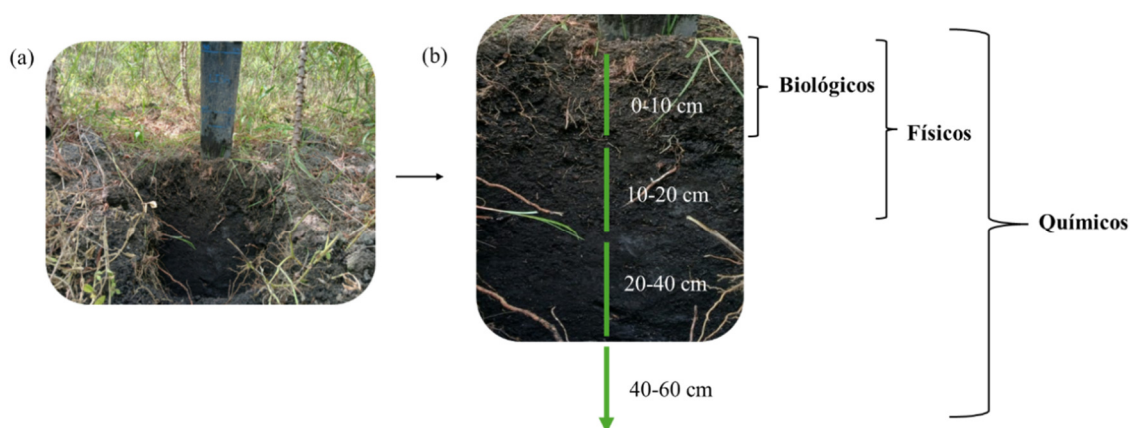


Figura 2. Esquema representativo do processo de coleta e amostragem de solos em campo. (a) Visualização das trincheiras utilizadas para a exposição do perfil do solo; (b) detalhamento das camadas do solo e dos respectivos atributos que foram analisados.

3.4.2 Análises químicas

As amostras foram secas ao ar, destorroadas e passadas por peneira de 2 mm de malha para a obtenção da terra fina seca ao ar (TFSA). A partir da TFSA foram realizadas as análises de pH em água na relação 1:2,5 (solo:água); Ca^{+2} , Mg^{+2} , Al^{+3} trocáveis extraídos com KCl 1 mol L^{-1} , analisados por titulometria; P, K e Na extraídos com o extrator de Mehlich-1 e analisados por colorimetria e fotometria de chama, respectivamente; H+Al avaliados por meio de solução de acetato de cálcio 0,025 mol L^{-1} . Todos os métodos foram realizados de acordo com Teixeira et al. (2017).

Também foi determinado os teores de carbono orgânico total (C_{org}) segundo Yeomans e Bremner (1988). A partir dos dados dos teores de carbono orgânico e da D_s , foram calculados os estoques de carbono (EstC) pelo método de massa equivalente (ELLERT e BETTANY, 1995), conforme Equação 1 abaixo:

$$\text{EstC} = (\text{COT} \times D_s \times h)/10 \quad (1)$$

Onde:

EstC é o estoque de carbono (MgC ha^{-1}); COT é teor de carbono orgânico total (g kg^{-1});

Ds é a densidade do solo (Mg m^{-3}); h é a espessura da camada avaliada (cm).

A determinação do nitrogênio total (NT) foi realizada por digestão sulfúrica, seguida de destilação pelo método de Kjeldahl (TEIXEIRA et al., 2017). Posteriormente foi calculada a razão estequiométrica C/N.

3.4.3 Análises físicas

A densidade do solo (Ds) e densidade das partículas (Dp) foram determinadas de acordo com Teixeira et al. (2017). A partir de amostras indeformadas (blocos) na camada de 0-10 cm foi avaliada a estabilidade dos agregados. Para separação dos agregados, as amostras coletadas foram passadas por peneiras de 8,00 e 4,00 mm de diâmetro de malha. Posteriormente, a partir dos agregados que ficaram retidos na peneira de 4,00 mm, foram pesados 25 g e transferidos para peneira de 2,00 mm de malha, que compõe um conjunto de peneiras com malhas crescentes (2,00; 1,00; 0,50; 0,25 e 0,105 mm). Os agregados foram submetidos à tamisação vertical via úmida por 15 minutos a 42 oscilações por minuto no aparelho de Yoder (YODER, 1936), começando com a peneira de 2,00 mm. Após decorrido o tempo, o material retido em cada peneira foi separado e levado à estufa até o alcance de massa constante, sendo calculados: o diâmetro médio ponderado (DMP) dos agregados (TEIXEIRA et al., 2017).

3.4.4 Análise da macrofauna

Para amostragem de fauna edáfica foi utilizado o método “Tropical Soil Biology and Fertility” (TSBF) descrito por Anderson e Ingram (1994). Em cada área foram coletadas cinco amostras, que consistiam em monólitos de solo coletados a partir de um marcador constituído de chapas de ferro galvanizadas com 25 x 25 cm a 10 cm de profundidade (Figura 3a). Após a coleta, foi realizada a triagem dos organismos de forma manual, os quais foram armazenados em recipientes contendo solução de álcool 70% para preservação dos indivíduos (Figura 3b). Posteriormente, os organismos foram identificados e quantificados, com auxílio de lupa binocular (Figura 3c). A identificação foi realizada em grandes grupos taxonômicos de acordo com Gallo et al. (2002) e Pereira et al. (2018).

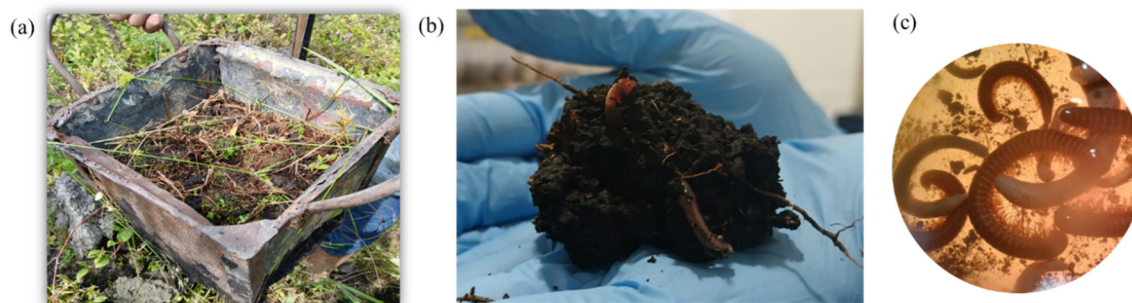


Figura 3. Esquema do procedimento de coleta e caracterização da macrofauna edáfica. (a) Amostragem de monólitos de solo em campo; (b) processo de triagem dos organismos em laboratório; (c) identificação taxonômica e quantificação dos indivíduos encontrados.

A partir da quantificação foi estimada a densidade da macrofauna edáfica, expressa em número de indivíduos por metro quadrado. As comunidades da macrofauna foram comparadas por meio do índice de diversidade de Shannon ($H = -\sum p_i \cdot \log p_i$; onde $p_i = n_i/N$; n_i = densidade de cada grupo, $N = \sum$ da densidade de todos os grupos), equitabilidade: $e = H/\log R$; onde: R = riqueza, representada pelo número de grupos taxonômicos.

3.4.5 Análise enzimática

Para a análise enzimática do solo, foram avaliadas as atividades das enzimas β -glicosidase e arilsulfatase, utilizando-se substratos específicos conforme metodologia descrita por Tabatabai (1994). As amostras de solo foram incubadas com os respectivos substratos: p-nitrofenil- β -D-glicopiranosídeo para β -glicosidase, e p-nitrofenil sulfato de potássio para arilsulfatase. A incubação foi realizada sob condições controladas de temperatura e pH adequados para cada enzima. Após o período de incubação, a reação foi interrompida com a adição de solução alcalina (NaOH), promovendo a liberação de p-nitrofenol (PNP), que foi quantificado por espectrofotometria (colorimetria) em comprimento de onda específico, expressando a atividade enzimática em $\mu\text{g PNP g}^{-1}$ de solo h^{-1} .

3.4.6 Análise estatística

Os dados das propriedades químicas, físicas e enzimática dos solos foram analisados quanto a normalidade dos resíduos e a homocedasticidade das variâncias, por meio dos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett, respectivamente. Em seguida, com os pressupostos da ANOVA atendidos, foi aplicado o Teste de F a 5% de probabilidade, com o uso software R (RSTUDIO 2023). As médias foram comparadas pelo teste de T de Bonferroni a 5% de probabilidade, pelo software R (RSTUDIO, 2023).

3.4.7 Análise da diversidade de bactérias

Para a extração de DNA dos solos foi utilizado o kit de extração DNeasy PowerSoil Kit (QIAGEN, Inc., Netherlands), segundo o protocolo do fabricante. Para avaliação da fração bacteriana foi utilizado como alvo, a região variável V3-V4 do 16S rRNA, através dos primers Bakt_341F (CCTACGGGNGGCWGCAG) e Bakt_805R (GACTACHVGGGTATCTAATCC). O sequenciamento em um sistema paired-end 2x250 na plataforma NovaSeq (Illumina, EUA) foram realizados na Novogene Inc. (www.novogene.com).

Para a aferição inicial da qualidade dos dados sequenciados, utilizou-se o programa "FastQC" (v.0.11.9) (ANDREWS, 2020). Adicionalmente, as bibliotecas foram submetidas as funções "fastx_info" e "fastq_eestats2", do programa "USEARCH" (v.11.0.667) (EDGAR, 2010), onde constatou-se a distribuição de qualidades, tamanhos de sequência e erros esperados. Neste mesmo programa, utilizou-se a função "search_oligodb", fornecendo como parâmetros as sequências do par de primers referentes a região V3-V4 do gene 16S rRNA (341F '5-CCTAYGGGNGGCWGCAG-3'; 805R '5 GACTACHVGGGTATCTAATCC-3'), de modo a detectar a presença e posição desses nas leituras. Em seguida, realizou-se a remoção dos primers com o programa "Atropos" (v.1.1.310) (DIDION; MARTIN; COLLINS, 2017), filtrando sequências cujos primers não estavam presentes ("--discard-untrimmed"). A porção final das sequências foram podadas de modo a assegurar uma melhor qualidade. Para isso, utilizou-se o programa "Fastp" (v.0.23.2) (CHEN et al., 2018) de modo a remover até 20 ("--max_len1 230") e 30 ("--max_len2 220") bases finais de baixa qualidade das bibliotecas forward e reverse, respectivamente. Além disso, leituras completas cuja média total do Phred Score (Q) fosse

inferior a Q20 foi removidas ("--average_qual 20"). Por fim, os pares de bibliotecas foram fundidas por sobreposição, através do programa "Flash" (v.1.2.11) (MAGOČ; SALZBERG, 2011), aceitando uma sobreposição mínima de 10 bases ("--min-overlap 10").

As leituras fundidas com tamanhos entre 390 e 430 bases foram submetidas ao pipeline "DADA2" (CALLAHAN et al., 2016). Para isso, utilizamos o pacote "dada2" (v.1.22.0) do programa estatístico "R" (v.4.1.2) (R CORE TEAM, 2021). Inicialmente, as leituras foram filtradas pela função "filterAndTrim", considerando um erro esperado de 4 ("maxEE = 4"). Em seguida, estimou-se as probabilidades de erros em bases ("learnErrors") e, então, corrigiu-se as sequências com base no modelo obtido ("dada"). Dessa forma, foram designadas as Sequências Variantes de Amplicons (ASVs) presentes em cada amostra, as quais foram investigadas e filtradas quanto a presença de possíveis sequências quiméricas ("removeBimeraDenovo"). As ASVs foram anotadas taxonomicamente contra o banco de dados de sequências-referências SILVA (v.138) (QUAST et al., 2013) com suporte adicional dos bancos RDP (v.18) (COLE et al., 2014) e GTDB (v.202) (PARKS et al., 2022) para detecção de contaminantes. Foram filtradas ASVs não-anotadas como bactérias ou arqueias, bem como aquelas cuja anotação remetia a cloroplastos ou mitocôndrias. Além disso, ASVs prevalentes em apenas uma única réplica, foram desconsideradas. As contagens e anotações taxonômicas das ASVs foram exportadas no formato "phyloseq" (Pacote R "phyloseq"; v.1.38.0) (MCMURDIE; HOLMES, 2013), o qual foi, posteriormente, transformado em dados composicionais ("method = 'total'") pela função "phyloseq_standardize_otu_abundance" do pacote R "metagMisc" (v.0.040) (MIKRYUKOV, 2019).

A avaliação da efetividade da amostragem foi inferida pela obtenção das curvas de rarefação, pela análise "amp_rarecurve" do pacote R "ampvis2" (v.2.7.17) (ANDERSEN et al., 2018). A matriz de abundância foi normalizada pelo método Total Sum Scaling (TSS), a alfa diversidade foi estimada através averiguação da riqueza observada e de medidas de diversidade (índice de Shannon e Gini-Simpson), obtidas com a função "alpha" do pacote R "microbiome" (v.1.16.0) (LAHTI; SHETTY, 2018). As diferenças entre as duas áreas foram avaliadas por meio do teste de Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) ($p \leq 0,1$).

A análise de beta diversidade se deu pelo cálculo das dissimilaridades de Bray-Curtis, obtidas pela função "distance" do pacote R "phyloseq". Realizou-se uma análise PERMANOVA (função "adonis" do pacote R "vegan"; v.2.6.2) (OKSANEN et al., 2020) para avaliar se houve diferença entre os tratamentos (p -valor $\leq 0,1$). Adicionalmente, foi feita uma análise post-hoc (função "pairwise.adonis" do pacote R "pairwiseAdonis"; v.0.4) (MARTINEZ ARBIZU, 2020) para avaliar quais tratamentos diferiram entre si (p -valor $\leq 0,1$). A fim de reduzir a multidimensionalidade das distâncias, realizou-se uma Análise de Coordenadas Principais (PCoA), da qual utilizou-se posteriormente para a plotagem do gráfico.

A avaliação dos táxons diferencialmente abundantes permitiu identificar aqueles cuja presença foi significativamente superior em um tratamento quando comparado com os demais. Para isso, utilizamos a abordagem do "DESeq2" (pacote R v.1.34.0) (LOVE; HUBER; ANDERS, 2014), a qual compara as médias com base em um modelo binomial-negativo, por meio do teste Wald (p -valor ajustado $< 0,05$). As representações gráficas das análises supracitadas foram feitas no "R", por meio do pacote "ggplot2" (v.3.3.6) (KASSAMBARA, 2020).

3.4.8 Rede de coocorrência

As redes de coocorrência microbiana foram construídas a partir das abundâncias relativas normalizadas dos ASVs de cada área de estudo, as abundâncias foram agregadas ao nível de filo. As contagens foram normalizadas pelo método Total Sum Scaling (TSS) por meio da função "phyloseq_standardize_otu_abundance" do pacote "metagMisc". Apenas ASVs

pertencentes a filos classificados e com abundância relativa média superior a 0,001 em pelo menos uma das áreas foram mantidos na análise.

As correlações de Pearson entre os ASVs foram calculadas utilizando a função `corr.test` do pacote `psych` (v.2.4.3), considerando apenas associações robustas ($|r| \geq 0,75$ e $p \leq 0,05$). As análises incluíram o número de nós e arestas, proporção de correlações positivas e negativas, número e tamanho dos módulos (clusters), densidade de arestas, grau médio e máximo, coeficiente de agrupamento (clustering coefficient), modularidade e identificação de táxons hub com base no hub score de Kleinberg. A visualização das redes foi realizada utilizando os pacotes `qgraph` (v.1.9.4) e `igraph`, aplicando o layout de Fruchterman–Reingold.

3.5 RESULTADOS

3.5.1 Atributos químicos e físicos do solo

A área de cultivo apresentou menores valores de pH (H_2O ; KCl), alumínio (Al^{+3}), acidez total, fósforo (P) e teores de cátions (Ca^+ , Mg^{+2} e K^+) (Tabela 1), que refletiu nos menores valores S, T e V% (H+Al) nas profundidades de 0-10 cm e 10-20 cm em comparação com a área de floresta. Na profundidade de 0-10 cm, a área de cultivo apresentou menor teor de carbono orgânico total ($72,99 \text{ g.kg}^{-1}$) e estoque de C ($49,43 \text{ g.kg}^{-1}$) em relação à área de floresta, que apresentou $88,91 \text{ g.kg}^{-1}$ e $67,62 \text{ g.kg}^{-1}$, respectivamente. Não houve diferenças significativas no teor de nitrogênio e na relação C/N entre as áreas. Não foram observadas diferenças significativas nos atributos físicos em ambas as áreas (Anexo 1 – Tabela 1).

3.5.2 Macrofauna do solo

Em relação a macrofauna de invertebrados da serrapilheira, na área de cultivo convencional foi contabilizado $19,2 \text{ indivíduos.m}^{-2}$, enquanto a área de floresta apresentou $22,4 \text{ indivíduos.m}^{-2}$ (Tabela 2). Na área de cultivo observou-se o valor 1,0 para riqueza total e na área de floresta observou-se o valor 1,25. Em relação ao índice de Shannon, a área de cultivo apresentou índice com valor de 1,79 e na floresta foi de 2,52. O índice de Pielou foi de 0,90 na área de cultivo e de 0,98 na área de floresta. Quanto a abundância, na área de cultivo destacaram-se os grupos larva de díptera (50%) e na floresta, o grupo díptera (33%) (Figura 4a).

Na profundidade de 0-10 cm, na área de cultivo foi contabilizado $169,6 \text{ indivíduos.m}^{-2}$, enquanto a área de floresta apresentou $556,8 \text{ indivíduos.m}^{-2}$ (Tabela 2). Na área de cultivo observou-se o valor 10,0 para riqueza total e na área de floresta observou-se o valor 8,0. Em relação ao índice de Shannon, a área de cultivo apresentou índice com valor de 2,95 e na floresta foi de 1,94. O índice de Pielou foi de 0,89 na área de cultivo e de 0,65 na área de floresta. Quanto a frequência relativa, os grupos Diplopoda (26%), Oligochaeta (17%) e Chilopoda (15%) foram os mais abundantes na área de cultivo (Figura 4b). O grupo Formicidae destacou-se na área de cultivo com 11% de abundância. Já na área de floresta destacaram-se os grupos Chilopoda (43%), Oligochaeta (37%) e Formicidae (9%) (Figura 4b). Os grupos Blattodea, Orthoptera e larva de díptera foram verificados apenas nas áreas de cultivo, e o grupo larva de Coleoptera foi exclusivo da área de floresta (Figura 4b).

Tabela 1. Caracterização dos atributos químicos áreas de cultivo convencional e floresta.

Áreas	pH		Al ³⁺	H+Al	Ca ²⁺	Mg ²⁺	P	K ⁺	Valor S	Valor T	Valor V	COT	N	Estoque de C	C/N
	H ₂ O	KCl	-----	cmol _c dm ⁻³	-----	-----	mg kg ⁻¹	---	--	cmol _c dm ⁻³ --	%	-----	g.kg ⁻¹ ----		
0 – 10 cm															
Cultivo	4,23 ^b	3,74 ^b	3,03 ^a	23,90 ^a	2,50 ^b	2,78 ^b	134,33 ^b	4,53 ^b	9,81 ^b	33,71 ^b	29,10 ^b	72,99 ^b	2,60 ^a	49,43 ^b	29,04 ^a
Floresta	5,51 ^a	4,75 ^a	0,41 ^b	17,80 ^b	10,15 ^a	7,33 ^a	264,60 ^a	32,48 ^a	49,96 ^a	66,76 ^a	74,83 ^a	88,91 ^a	3,09 ^a	67,62 ^a	29,34 ^a
10 – 20 cm															
Cultivo	4,19 ^b	3,74 ^b	3,93 ^a	24,10 ^a	2,30 ^b	2,15 ^b	121,71 ^b	3,68 ^a	8,13 ^b	32,23 ^a	25,22 ^b	78,40 ^a	2,43 ^a	55,22 ^a	32,42 ^a
Floresta	4,86 ^a	4,14 ^a	0,93 ^b	20,47 ^a	5,78 ^a	4,03 ^a	162,72 ^a	12,73 ^a	22,54 ^a	43,01 ^a	52,40 ^a	103,5 ^a	3,02 ^a	67,29 ^a	33,60 ^a
20 – 40 cm															
Cultivo	4,03 ^a	3,68 ^a	4,25 ^a	26,62 ^a	1,60 ^a	1,15 ^a	113,48 ^a	3,33 ^a	6,08 ^a	32,70 ^a	18,59 ^a	81,27 ^a	2,17 ^a	-	41,7 ^a
Floresta	4,29 ^a	3,83 ^a	2,50 ^a	29,34 ^a	2,93 ^a	3,88 ^a	152,21 ^a	10,70 ^a	17,51 ^a	46,85 ^a	37,37 ^a	96,23 ^a	2,56 ^a	-	37,61 ^a
40 – 60 cm															
Cultivo	3,77 ^a	3,43 ^a	6,30 ^a	25,09 ^a	1,33 ^a	5,84 ^a	57,23 ^a	9,02 ^a	16,19 ^a	41,28 ^a	39,21 ^a	36,39 ^a	0,92 ^a	-	40,52 ^a
Floresta	3,78 ^a	3,32 ^a	7,50 ^a	20,89 ^a	1,58 ^a	5,93 ^a	23,49 ^a	12,23 ^a	19,54 ^a	62,58 ^a	20,30 ^a	51,35 ^a	0,72 ^a	-	69,72 ^a

Médias seguidas de letras distintas diferem entre si teste t de Bonferroni (p<0,05). Ca: Cálcio trocável; Mg: Magnésio trocável; Al: Alumínio trocável; K: Potássio trocável; P: Fósforo disponível, Valor S: Soma de bases trocáveis; Valor T: capacidade de troca de cátions; Valor V: Saturação por bases.

COT: Carbono Orgânico Total; N: nitrogênio total; C/N: relação carbono/nitrogênio.

Tabela 2. Densidade, riqueza e índices ecológicos da macrofauna edáfica da serrapilheira e da camada de 0-10 cm nas áreas de cultivo e floresta.

Áreas	Ind.m ⁻²	Erro Padrão	Riqueza Média	Riqueza Total	Shannon	Pielou
Serrapilheira						
Cultivo convencional	19,2	19,20	1,00	4,00	1,79	0,90
Floresta secundária	22,4	19,92	1,25	6,00	2,52	0,98
0-10 cm						
Cultivo convencional	169,6	119,33	3,75	10,00	2,95	0,89
Floresta secundária	556,8	224,44	4,25	8,00	1,94	0,65

Ind.m⁻²: indivíduos. m⁻².

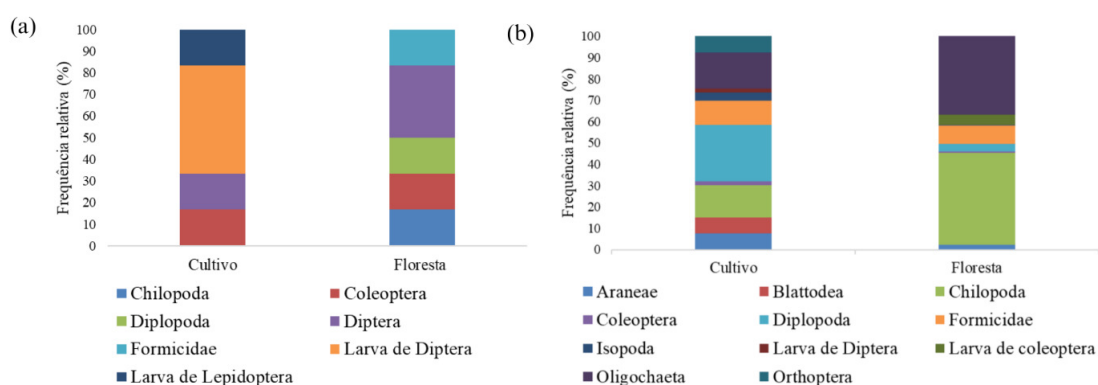


Figura 4. (a) Abundância relativa (%) da macrofauna da serrapilheira nas áreas de cultivo e floresta. (b) Abundância relativa da macrofauna do solo na profundidade de 0-10 cm nas áreas de cultivo e floresta.

3.5.3 Análise da atividade enzimática do solo

Em relação a atividade enzimática, os valores de β -glicosidase e arilsulfatase diferiram entre o Organossolo sob cultivo e da área de floresta. A enzima foi significativamente maior ($28,15 \mu\text{g [p-Nitrofenol]} \text{ g}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$) na área de floresta comparado ao Organossolo sob cultivo ($8,3 \mu\text{g [p-Nitrofenol]} \text{ g}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$) (Tabela 3). A arilsulfatase também apresentou valor significativamente maior ($59,37 \mu\text{g [p-Nitrofenol]} \text{ g}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$) na área de floresta em Organossolo sob cultivo ($19,12 \mu\text{g [p-Nitrofenol]} \text{ g}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$).

Tabela 3. Atividade das enzimas β -glicosidase e arilsulfatase comparando solos sob cultivo e solos de floresta.

Área	β -glicosidase	Arilsulfatase
	[p-Nitrofenol] mg g ⁻¹ h ⁻¹	
Floresta	28,15 a	59,37 a
Cultivo	8,3 b	19,12 b

Médias seguidas de letras distintas diferem entre si teste t de Bonferroni ($p < 0,05$).

3.5.4 Diversidade bacteriana

Houve uma separação significativa entre as comunidades de bactérias dos solos sob cultivo intensivo e floresta nativa na profundidade de 0-10 cm na análise de ordenação canônica (CAP) ($F = 6.58$; $p < 0.001$) (Figura 5). O primeiro eixo (CAP1) foi responsável por 76% da variação explicada; enquanto o segundo eixo foi responsável por 7,2% da variação explicada (Figura 5). Na área de cultivo, a densidade do solo apresentou correlação com a estrutura da comunidade bacteriana. O valor de pH e estoque de carbono apresentaram correlação com a estrutura da comunidade bacteriana na área de floresta. Na área de cultivo foi observada menor riqueza e menor índice de Shannon em comparação a área de floresta (Figura 6). Do total de ASVs (*Amplicon Sequence Variants*) obtidas, 931 ASVs foram compartilhadas no solo de cultivo e floresta (Figura 7a). Na floresta foram detectadas 2.326 ASVs exclusivas, enquanto na área de cultivo foram observadas 1.894 ASVs únicas (Figura 7a).

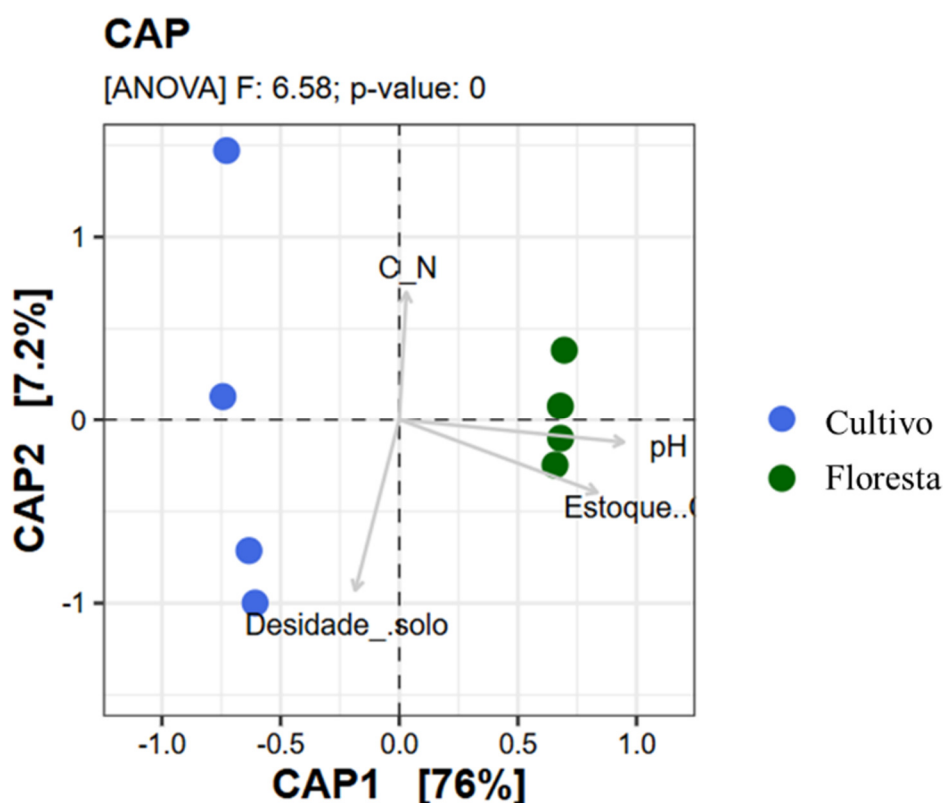


Figura 5. Análise de Componentes Principais (CAP) com base nas características edáficas dos solos, diferenciando áreas de cultivo (azul) e floresta (verde).



Figura 6. Índices de alfa diversidade (riqueza, índices Shannon e Gini-Simpson). Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre as áreas de cultivo e floresta.

Actinobacteriota, Chloroflexota, Proteobacteria e Acidobacteriota foram os principais filos bacterianos nas áreas de cultivo e floresta (Figura 7a). Em nível de filo, observou-se que Chloroflexota foi significativamente mais abundante nas áreas cultivadas enquanto Bacteroidota foi significativamente mais abundante na área de floresta (Figura 8a). Em nível de família, destacaram-se como mais abundantes na área de cultivo as famílias RAAP-2, Nitrosopumilaceae, Ktedonobacteraceae, Streptosporangiaceae, Solirubrobacteraceae e Mycobacteriaceae. No solo da área de floresta, as famílias Nitrososphaeraceae, 2-12-FULL-66-21 e Hyphomicrobiaceae foram significativamente mais abundantes (Figura 8b).

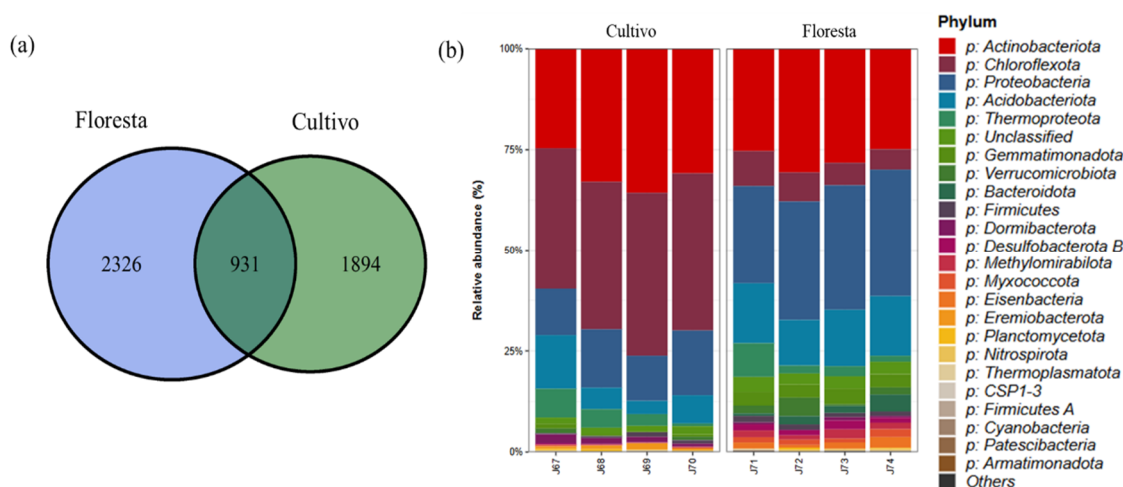


Figura 7. Composição taxonômica bacteriana em solos de cultivo e floresta. (a) Diagrama de Venn demonstrando o compartilhamento de ASVs bacterianos entre as áreas e (b) abundância relativa dos filos bacterianos na profundidade de 0-10 cm de solos de áreas de cultivo e floresta.

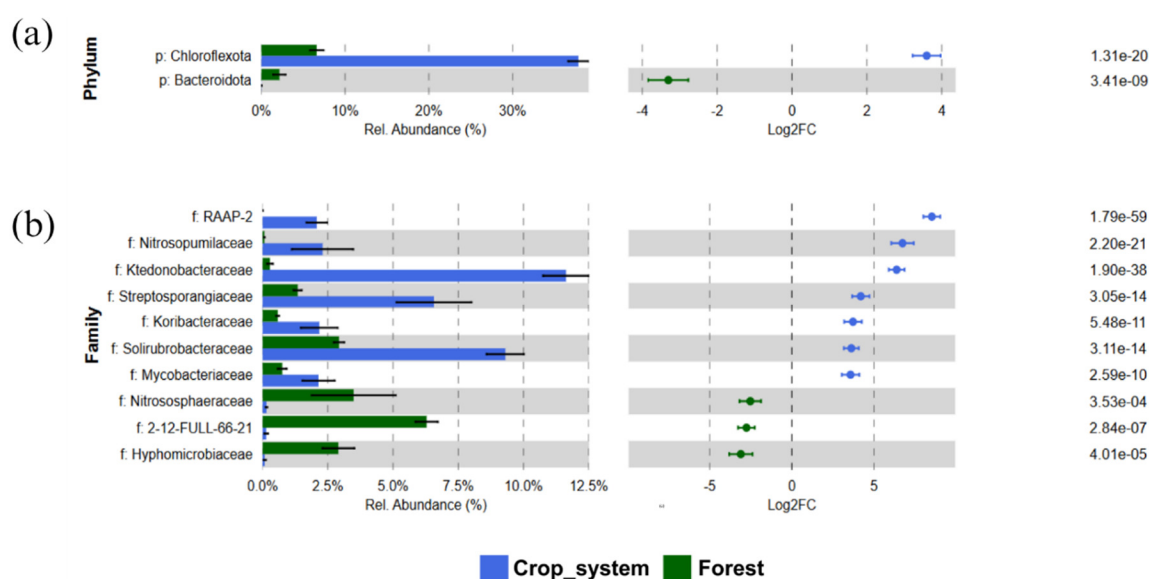


Figura 8. Composição diferencial da comunidade bacteriana nos solos de cultivo e floresta. (a) diferenciação entre filos bacterianos; (d) diferenciação entre famílias bacterianas.

A rede de coocorrência da área de cultivo apresentou maior número de nódulos e maior densidade de conexões em comparação à da floresta (Tabela 4). Na área de cultivo foi observado maior densidade de nós em grupos concentrados e com alta densidade de interações (número de arestas) (Tabela 4).

Tabela 4. Atributos de rede de coocorrência microbiana (ou interações) em solos sob diferentes usos (cultivo e floresta).

Atributos	Cultivo	Floresta
Número de nódulos	205	190
Número de arestas	1711	987
Arestas positivas (%)	67,04	60,29
Arestas negativas (%)	32,96	39,71
Grau médio	16,69	10,39
Densidade	0,082	0,055
Coefficiente de agrupamento	0,62	0,639
Tamanho dos clusters	202, 3	190

Em relação as interações das redes, em ambas as áreas predominam interações positivas (arestas azuis) (Tabela 4). A área de cultivo apresentou menor porcentagem de interações negativas (arestas vermelhas) do que a área de floresta (Tabela 4). Na área de cultivo, os filos Actinobacteriota e Chloroflexota foram os principais táxons chave, enquanto na área de floresta os filos Actinobacteriota, Proteobacteria e Acidobacteriota atuaram como táxons chave (Figura 9).

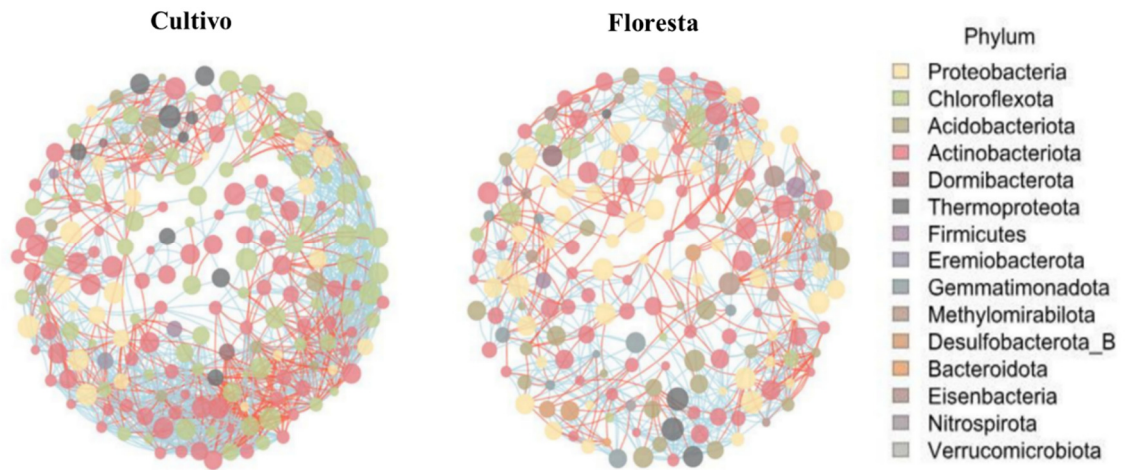


Figura 9. Redes de coocorrência microbiana (interações) em solos de cultivo e floresta. Os grupos altamente correlacionados ($|r| \geq 0,75$ e $p \leq 0,05$) foram representados no gráfico. Cada nó representa um ASV, colorido de acordo com o filo correspondente, enquanto as arestas indicam correlações positivas (linhas azuis) e negativas (linhas vermelhas).

3.6 DISCUSSÃO

O processo de subsidência do solo envolve a perda de volume do solo pela oxidação da matéria orgânica (DRIESSEN, 2001). Nos Organossolos estudados, esse processo pode ser evidenciado pela redução nos teores de carbono orgânico total (COT) e dos valores de pH na área de cultivo nas camadas de 0–10 e 10–20 cm (Tabela 1). Houve uma redução de 15,92% de COT e de 18,19% no estoque de carbono no horizonte de 0-10 cm em solos cultivados. A redução dos teores de C e no estoque de C na área cultivada podem estar relacionados com os efeitos da drenagem e do revolvimento do solo (PEREIRA et al., 2005). O teor médio de carbono orgânico total na área de cultivo ($72,99 \text{ g.kg}^{-1}$) ficou abaixo do limite mínimo de 80 g.kg^{-1} estabelecido para a classificação de horizontes orgânicos hísticos. Esse resultado sugere que o solo, possivelmente, não atende aos critérios para ser enquadrado na ordem dos Organossolos (SANTOS et al., 2018). Outro estudo realizado nessas áreas verificou que o manejo agrícola, como a drenagem e revolvimento do solo, reduziu o conteúdo de carbono, indicando perdas expressivas de matéria orgânica nos Organossolos (SANTOS et al., 2023).

O cultivo convencional promoveu a acidificação do solo, evidenciada pela redução do pH nas camadas de 0–10 e 10–20 cm, resultado corroborado pelos maiores valores de acidez total e teor de alumínio. Em Organossolos, práticas como a drenagem e o revolvimento do solo podem promover a acidificação em razão do aumento das taxas de decomposição da matéria orgânica (PEREIRA et al., 2005). Nas camadas mais profundas (40–60 cm), o pH apresentou 3,5, indicando potencial presença de camadas tiomórficas. Horizontes tiomórficos são caracterizados pela ocorrência de materiais sulfídricos que, ao serem oxidados, liberam ácido sulfúrico resultando em forte acidificação do solo (SANTOS et al., 2018). Santos et al. (2021) observaram que os Organossolos dessa região apresentaram elevados teores de sulfato solúvel (SO_4^{2-}), evidenciando seu potencial tiomórfico. A acidificação pode ser intensificada em Organossolos tiomórficos, nos quais o processo de subsidência expõe as camadas superficiais ao contato com o ácido sulfídrico (PEREIRA et al., 2005).

A fertilidade dos solos foi reduzida pelo cultivo convencional, que apresentou menor CTC e menores teores de nutrientes (Ca^+ , Mg^{+2} , K^+ e P) em relação ao solo de floresta (Tabela 1). A capacidade de troca catiônica (CTC) expressa o potencial do solo para reter cátions, sendo diretamente influenciada pelo teor de carbono, quanto maior o teor de carbono, maior tende a ser a CTC (APRILE; LORANDI, 2012). Dessa forma, a redução dos valores de CTC do solo cultivado podem estar correlacionadas com menor conteúdo de carbono dos Organossolos sob cultivo na profundidade de 0-10 cm. O teor de carbono total (COT) e o pH demonstraram-se ser as principais propriedades químicas sensíveis às práticas de manejo em Organossolos.

A densidade de organismos presente nos solos (0-10 cm) sob cultivo foi 69,5% inferior ao da área de floresta. A conversão do uso do solo é o fator primordial que impulsiona as mudanças na composição da comunidade ou na estrutura da fauna edáfica (GUAN et al., 2021; YIN et al., 2019). Verificou-se que os táxons Diplopoda, Chilopoda e Oligochaeta apresentaram redução acentuada ou foram eliminados da serrapilheira da área sob cultivo intensivo. Semelhante aos resultados da serrapilheira, os táxons Chilopoda e Oligochaeta apresentaram menor frequência no solo (0-10 cm) sob cultivo. No entanto, em relação ao táxon Diplopoda, observou-se um aumento na frequência em área cultivada. O tipo de material orgânico pode influenciar na composição das comunidades da macrofauna, a eliminação de espécies arbóreas tem efeitos prejudiciais sobre toda a comunidade de organismos que se alimentam de materiais orgânicos, especialmente aqueles encontrados na serrapilheira (LAVELLE et al., 2006).

Os diplópodes possuem adaptações que lhes permitiram ampla distribuição na maioria das paisagens incluindo ambientes antrópicos (DAUBER et al., 2005). A abundância de milípedes (diplópodes) em um ambiente pode refletir o tipo de material orgânico presente, visto que esses organismos demonstram preferência alimentar por resíduos mais facilmente

degradáveis, que possui uma menor relação C/N e maiores teores de amido (fonte de carbono facilmente solúvel) (SUZUKI et al., 2013). Neste contexto, os resíduos da mandioca são possivelmente mais degradáveis do que resíduos de florestas, por apresentarem tipicamente uma menor relação C/N e maior fonte de amido, o que pode influenciar a distribuição da fauna edáfica em áreas de cultivo (KIEHL, 2001; EMBRAPA, 2010). A macrofauna presente na serrapilheira e no solo podem servir como bioindicadores sensíveis para avaliar os efeitos do manejo do solo na dinâmica de nutrientes e na produtividade dos ecossistemas (SAYAD et al., 2012). Dessa forma, os táxons como Chilopoda e Oligochaeta demonstraram sensibilidade as alterações devido ao manejo agrícola em Organossolos.

No solo sob cultivo, a atividade da β -glicosidase apresentou redução de 19,85% em relação à área de floresta enquanto a arilsulfatase apresentou redução de 40,25%. As enzimas do solo são produzidas principalmente por microrganismos, dessa forma, alterações nas comunidades microbianas possivelmente estão relacionadas com as atividades enzimáticas (ZENG et al., 2022). O conteúdo de carbono orgânico é um dos principais fatores responsáveis pela regulação da atividade da β -glicosidase e da arilsulfatase (ACOSTA-MARTÍNEZ et al., 2007; ZENG et al., 2021; ZENG et al., 2022). Outro fator importante é o pH do solo, a acidificação causada pelo manejo pode influenciar as comunidades microbianas do solo e afetar negativamente a atividade enzimática (DENG; TABATABAI, 1997; ZENG et al., 2022).

A diminuição da atividade da β -glicosidase e da arilsulfatase nos solos sob cultivo pode estar associada principalmente às perdas de COT e a acidificação do solo decorrentes das práticas de manejo. Assim, a redução da atividade reflete impactos do manejo sobre os ciclos de carbono e enxofre, indicando menor disponibilidade de substratos para a população microbiana e possivelmente diminuindo a capacidade do Organossolo de estabilizar a matéria orgânica e mineralizar o enxofre (KNIGHT; DICK, 2004; ACOSTA-MARTÍNEZ et al., 2007).

Em ambas as áreas se observou baixos níveis da enzima β -glicosidase ($\leq 66 \mu\text{g}$ [p-Nitrofenol] g^{-1} solo h^{-1}) (MENDES et al., 2019). Em relação a enzima arilsulfatase, o Organossolo sob cultivo apresentou níveis baixos ($31\text{-}70 \mu\text{g}$ [p-Nitrofenol] g^{-1} solo h^{-1}) enquanto a área de floresta apresentou níveis moderados ($59,37 \mu\text{g}$ [p-Nitrofenol] g^{-1} solo h^{-1}). As classes de interpretação dos bioindicadores foram desenvolvidas para Latossolos do Cerrado, que apresentam características distintas dos Organossolos (MENDES et al., 2019). Assim, a aplicação dessas classes interpretativas pode não ser adequada para os resultados obtidos em Organossolos, reforçando a ideia de que a resposta dos indicadores depende das características específicas de cada tipo de solo. O manejo convencional em Organossolos reduziu a atividade das enzimas β -glicosidase e arilsulfatase. Estudos anteriores com solos de diversas regiões demonstraram que as atividades enzimáticas são sensíveis às alterações do solo decorrentes do manejo (ACOSTA-MARTÍNEZ; TABATABAI, 2001; ACOSTA-MARTÍNEZ et al., 2007).

As comunidades bacterianas apresentaram diferenças marcantes entre os solos sob cultivo e da área de floresta. As diferenças entre as estruturas das comunidades podem estar correlacionadas com as propriedades químicas e físicas do solo. Diversos fatores abióticos e bióticos exercem influência significativa sobre a estrutura e a dinâmica das comunidades microbianas (LIU et al., 2016; YAO et al., 2017). O teor de carbono e o pH destacam-se frequentemente como preditores da estrutura das comunidades microbianas do solo, pois influenciam diretamente a disponibilidade de nutrientes, na solubilidade de compostos e nas condições ambientais do solo (CHO et al., 2018; QI et al., 2018). Os resultados da alfa diversidade do solo sob cultivo demonstram menor riqueza e menor diversidade que na área de floresta. Solos com maior diversidade microbiana confere redundância às funções e serviços ecossistêmicos, garantindo múltiplas vias para os mesmos processos (LIU et al., 2016). Isso contribui para a manutenção do funcionamento do ecossistema mesmo diante da perda de espécies ou de alterações em sua abundância (GARCÍA et al., 2018). A redução do aporte de

matéria orgânica, as perdas de C e acidificação do solo devido as práticas agrícolas, podem ter influenciado espécies-chaves e a diversidade das comunidades microbianas do solo sob cultivo.

A área de floresta apresentou maior abundância de microrganismos únicos tanto na camada superficial quanto na mais profunda, indicando que as características desse ambiente selecionaram membros específicos (MANI et al., 2015). A disponibilidade e a qualidade do carbono orgânico do solo são reguladores-chave da diversidade e da composição das comunidades microbianas do solo (SHAO et al., 2019). A redução do estoque de C observado na área sob cultivo pode ter favorecido grupos oligotróficos pertencentes ao filo Chloroflexota, que tendem a apresentar maior abundância em solos com menor aporte de matéria orgânica e nutrientes (CHOUDHARY et al., 2021). O filo Bacteroidota é classificado como copiotrófico e possivelmente contribuiu para a mineralização da matéria orgânica do solo, o que explica sua maior abundância em ambientes florestais, caracterizados por maior disponibilidade de carbono e nutrientes (LI et al., 2020).

Nos solos sob cultivo houve o aumento da densidade e da porcentagem de interações positivas das redes bacterianas. Estudos anteriores demonstram que o uso do solo e a degradação intensificou as interações positivas e a densidade das redes das comunidades bacterianas (ZHENG et al., 2017; WU et al., 2021). A alteração das propriedades do solo como a redução de nutrientes e de carbono, podem favorecer as interações tróficas e a cooperação entre grupos funcionais da biota do solo (HOLTKAMP et al., 2011). Embora o solo sob cultivo tenha apresentado redes com maior densidade total, a forma como os táxons se organizou em módulos com alta interconectividade sugere uma especialização e menor redundância funcional (XUE et al., 2020; XUE et al., 2022). Isso indica que o manejo agrícola pode ter reduzido a heterogeneidade e a complexidade da comunidade bacteriana, focando a comunidade em grupos altamente co-dependentes (XUE et al., 2020; XUE et al., 2022).

3.7 CONCLUSÕES

O manejo convencional com práticas que envolvem revolvimento do solo e a monocultura promoveu alterações expressivas nas propriedades químicas e biológicas de Organossolos. As consequências do manejo convencional nas propriedades químicas ocorreram pela acidificação, redução do teor e estoque de carbono, e pela redução da fertilidade.

O manejo agrícola em Organossolo refletiu na redução da densidade da macrofauna e modificou a composição das classes de invertebrados da macrofauna. A atividade enzimática foi reduzida em Organossolo sob cultivo, indicando que o manejo agrícola possivelmente alterou as funções ecossistêmicas ligadas ao ciclo de carbono e enxofre.

Verificou-se que a estrutura e composição da comunidade bacteriana foi alterada pelo cultivo em Organossolo. As estruturas das comunidades bacterianas foram influenciadas pelas variáveis químicas do solo. Essas alterações podem estar relacionadas as mudanças químicas ocorridas pelas práticas de manejo, como a acidificação e menores teores de carbono.

4. CAPÍTULO II

DIFERENTES ESPÉCIES DE HALÓFITAS INFLUENCIAM A DIVERSIDADE MICROBIANA NA RIZOSFERA DE SOLOS IMPACTADOS PELA SALINIDADE

Capítulo publicado na Revista “Applied Soil Ecology”.

XAVIER, J. F.; DA COSTA, D. P.; DA SILVA GONÇALVES, J. V.; PINTO, M. C. F.; GOULART, R. S.; ZONTA, E.; DA SILVA COELHO, I. Different halophytes orchestrate microbial diversity in the rhizosphere of salinity-impacted soils. **Applied Soil Ecology**, 202, 105588, 2024.

4.1 RESUMO

A investigação das comunidades da rizosfera em ambientes salinos é essencial para identificar os grupos taxonômicos que desempenham papéis significativos na adaptação das halófitas. No entanto, ainda não está claro como o microbioma é estruturado sob diferentes condições de salinidade. Este estudo teve como objetivo analisar as comunidades bacterianas nas rizosferas de espécies halófitas em diferentes ambientes salinos. Cinco rizosferas foram analisadas por meio de sequenciamento de alto desempenho do gene 16S rRNA: S1, *Salicornia fruticosa* de uma planície de maré hipersalina; S2, *Sporobolus virginicus*; S3, *Cyperus ligularis* de uma lagoa hipersalina; S4, *Salicornia fruticosa*; e S5, *Blutaparon portulacoides* de uma salina abandonada. As comunidades bacterianas nas rizosferas S4 e S5 foram influenciadas pelo teor de fósforo (P) e potássio (K), sugerindo que nutrientes específicos podem favorecer estruturas microbianas únicas, auxiliando potencialmente na adaptação a solos salinos. A presença de variantes únicas de sequência de amplicon (ASV), além da riqueza, diversidade e núcleo microbiano do sistema S1 — bem como suas semelhanças com S2 e S3 — sugerem estratégias comuns de adaptação entre halófitas em diferentes ambientes salinos, contribuindo para esforços de sobrevivência direcionados. A identificação de espécies-chave como Thermoleophilia em S1, Alphaproteobacteria em S2 e S3, múltiplas espécies em S4 e a presença de Clostridia e Bacilli em S5 elucidam sobre os papéis que essas bactérias desempenham na sobrevivência das halófitas. A análise de predição metagenômica demonstrou que a quimio-heterotrofia e a quimio-heterotrofia aeróbica foram as principais funções previstas. Em resumo, este estudo revelou as complexas estruturas microbianas presentes nas rizosferas de halófitas, ampliando nosso entendimento sobre os ecossistemas salinos.

Palavras-chave: Ambiente hipersalino. Diversidade bacteriana. Ecologia microbiana. Gene rRNA 16S.

4.2 ABSTRACT

Investigating rhizosphere communities in saline soils is crucial for identifying the taxonomic groups that play significant roles in halophyte adaptation. However, how the microbiome is structured under different saline conditions remains unclear. This study aimed to analyze bacterial communities in the rhizospheres of halophyte species in different saline environments. Five rhizospheres were analyzed using high-throughput sequencing of the 16S rRNA gene: S1, *Salicornia fruticosa* from a hypersaline tidal plain; S2, *Sporobolus virginicus*; S3, *Cyperus ligularis* from a hypersaline lagoon; S4, *Salicornia fruticosa* and S5, *Blutaparon portulacoides* from an abandoned salt pan. Bacterial communities in the S4 and S5 rhizospheres were influenced by P and K content, suggesting that specific nutrients can foster unique microbial structures, potentially assisting in adaptation to saline soils. The unique ASV (Amplicon Sequence Variant), richness, diversity, and microbial core of the S1 system, along with its similarities to S2 and S3, suggest common halophyte adaptation strategies across different saline environments, aiding targeted survival efforts. Identifying keystone species such as Thermoleophilia in S1, Alphaproteobacteria in S2 and S3, multiple species in S4, and the presence of Clostridia and Bacilli in S5 shed light on the roles these bacteria play in halophyte survival. Metagenomic prediction analysis demonstrated that chemoheterotrophy and aerobic chemoheterotrophy were the main prediction functions. In summary, this study revealed the intricate microbial structures in halophyte rhizospheres, enriching our understanding of saline ecosystems.

Keywords: Hypersaline environment. Bacterial diversity. Microbial ecology. 16S rRNA gene.

4.3 INTRODUCTION

Soil salinization affects >118 countries, covering approximately 3 % of the topsoil (424 million hectare) and 6 % (833 million hectare) of the subsoil and mostly occurs in arid and semi-arid regions (FAO; ICBA, 2023). Soil salinization accounts for the annual loss of production in up to 1.5 million ha of farmland (FAO; ICBA, 2023). Soil salinity induced by anthropogenic activities is one of the main abiotic factors responsible for the degradation of various ecosystems and affects water and soil quality (HOPMANS et al., 2021). Most agricultural crops are glycophytes, do not tolerate high salt concentrations, and are severely inhibited by salt stress, which prevents their exploitation in salt-affected soils (FLOWERS; COLMER, 2008; KATERJI et al., 2000).

Halophytes, which are plants naturally adapted to saline soils, comprise approximately 2 % of the terrestrial plant species (GLENN et al., 1999). They are found in various environments, including irrigated lands with poor drainage in the tropics, coastal regions, saline semi- deserts, and mangroves (KUMARI et al., 2015). These plants play important roles in maintaining the ecological balance and have great potential for soil desalination (phytoremediation), human and animal diets, medicinal purposes, and energy production (GONZ'ALEZ, 2019). Halophytes have developed a wide range of physiological and molecular strategies to cope with salt stress (FLOWERS; COLMER, 2008). It also promotes an inherent bacterial community that leads to changes in the soil environment by regulating diverse processes in soil formation and maintenance, which in turn affect the growth of halophytes (ETESAMI; BEATTIE, 2018; KEARL et al., 2019). Studies have shown that microbial communities in the rhizospheres of halophyte plants play an important role in their adaptation, assisting in salt tolerance, and promoting plant development (ETESAMI; BEATTIE, 2018; Wang et al., 2020). Several studies have demonstrated the potential of halophytic microbial isolates to promote agricultural plant development (MARASCO et al., 2016; NAVARRO-TORRE et al., 2016; TIAN; ZHANG, 2017; ETESAMI; BEATTIE, 2018). These mechanisms can be explained by the complex interactions that occur in the rhizosphere (KESWANI et al., 2019; SARKAR et al., 2019).

The physical and chemical characteristics of soil, particularly salinity, significantly influence the structure of microbial communities (LI et al., 2021), pressuring the selection of microorganisms with genetic strategies aimed at salt tolerance (ETESAMI; BEATTIE, 2018). Excess salinity inhibits microbial growth in both natural and agricultural lands (RATH et al., 2016). Soil moisture and the availability of soil organic matter also influence microbial growth under saline conditions (RATH et al., 2019). One study demonstrated that saline soils had higher bacterial salt-tolerance than low-salt soils (RATH et al., 2019). Increased the salinity within the appropriate range enhanced the growth of salt-tolerant bacteria (RATH et al., 2019). The influence of salinity at the local scale is less important for microbial assemblages, particularly in salt-rich ecosystems (HOLLISTER et al., 2010). The spatial patterns of halophyte species are affected by abiotic factors, resulting in regional differences (LI et al., 2021). Vegetation types and plant communities in different habitats are associated with ecological effects on rhizosphere microbial communities (FIERER, 2017). Recent studies have indicated that soil properties are important factors that drive the structure of microbial communities in the halophyte rhizosphere (LI et al., 2021; WANG et al., 2023; ZHANG et al., 2024). A previous study revealed that the rhizosphere bacterial communities of coastal halophyte species differ between temperate and subtropical salt marshes, indicating the importance of specific factors linked to each regional area (WANG et al., 2023).

Saline soils are promising environments for the identification of new microbial diversity (HOLLISTER et al., 2010). Many salt-tolerant microbial taxa have been identified in different ecosystems (HOLLISTER et al., 2010). An increased abundance of Bacteroidetes has been

observed in naturally saline soils with high salinity levels (CANFORA et al., 2014). In polar deserts, a high abundance of Firmicutes has been observed in soils with increased salinity (VAN HORN et al., 2014). Microbial taxa affiliated with Firmicutes have Gram-positive walls and can form spores, making them resistant to harsh environments (SCHIMEL et al., 2007). In the halophyte rhizosphere, the phyla Bacteroidetes, Proteobacteria, Actinobacteria, and Firmicutes have been identified in high abundance (LI et al., 2021; WANG et al., 2023). A study also revealed that some well-known halotolerant bacteria classified as Gammaproteobacteria, Alphaproteobacteria, Bacteroidetes, and Verrucomicrobia were identified in soils associated with the halophyte *Suaeda salsa* to help the plant withstand salinity (YUAN et al., 2016).

Recent studies describing microbiomes associated with halophytes were conducted and have aided in expanding our knowledge on plant-soil-microbiome interactions in harsh environments (LI et al., 2021; WANG et al., 2023; ZHANG et al., 2024). However, how rhizosphere microbial communities vary across saline conditions remains unclear. Particularly in saline environments in the coastal zones of Brazil, research is still scarce. Coastal zones are transitional areas that connect terrestrial and marine environments and provide multiple ecological services (WANG et al., 2021). The microbial community in these saline environments mediates active biogeochemical processes and maintains the stability and health of coastal zone systems (WANG et al., 2023). Furthermore, studying the rhizosphere bacterial communities of halophyte plants could provide a better understanding of the bacterial taxa that contribute to salt tolerance in plants. Techniques based on environmental genomic DNA are fundamental for assessing these communities and deciphering their structure, diversity, and composition in the soil (RINCON-FLOREZ et al., 2013; MUKHTAR et al., 2017). Studies on environmental microbiomes have evolved in recent years owing to advances in high-throughput sequencing, which can assess and provide details regarding microbial communities in various environments (MUKHTAR et al., 2017), including those associated with halophytes (LI et al., 2021). Plants, soil, and microbiota interact closely (YUAN et al., 2016).

Previous studies have shown that soils with different salt concentrations, pH values, nutrients, and textures harbor different microbial communities (SZYMAN'SKA et al., 2016; QIN et al., 2017; YAMAMOTO et al., 2018). Based on these facts, our hypothesis suggests that edaphic variables of soil and plant species influence microbial assemblages in the rhizospheres of halophyte plants. The objective of this study was to analyze the structure, diversity, core members, co-occurrence and functional prediction analysis of the bacterial communities of four halophyte species from different coastal environments in the state of Rio de Janeiro, Brazil, using the Illumina next-generation sequencing MiSeq platform.

4.4 MATERIALS AND METHODS

4.4.1 Study area and sampling

Three saline environments were selected for this study: a hypersaline tidal plain (I), the surroundings of a hypersaline lagoon (II), and an abandoned salt pan (III), all of which are in the municipalities of Rio de Janeiro, Brazil (Figure 10). The first collection area was in a hypersaline tidal plain, also called an *apicum*, present in Rio de Janeiro city (23° 00'10" S, 43°34'30" W). The apicum is an environment located in the transition region between the sea and the mainland, with high salt concentrations. The climate in this region is classified as rainy tropical forest (Aw) according to Köppen's climate classification model (ALVARES et al., 2013). According to the Brazilian Soil Classification System (SiBCS), this region is characterized by a predominance of saline sodic *Gleissolos* (CARVALHO FILHO et al., 2000), which corresponds to Aquepts according to the Soil Survey STAFF (2014). The second area, the surroundings of a hypersaline lagoon, called *Lagoa Vermelha*, is in the city of *Saquarema* (22° 49'59" S, 42°05'15" W). The climate of this region is classified as Aw, and the predominant soil class is *Espodossolos* (CARVALHO FILHO et al., 2000) equivalent to Spodosols (SOIL SURVEY STAFF, 2014).

The third area (abandoned salt pan) is in the city of São Pedro da Aldeia (22° 49'59" S, 42°05'15" W), characterized by a tropical climate with a dry season (Aw) (ALVARES et al., 2013). The terrain in this area has been identified as a salt pan (CARVALHO FILHO et al., 2000). Samples were collected along an area of approximately 600 m² on the hypersaline tidal plain (I), 700 m² around the hypersaline lagoon (II), and 400 m² on an abandoned salt pan (III). These areas were delimited using Landsat 8 satellite images (USGS/NASA) and QGIS software, version 3.10 (<https://www.qgis.org>). Triplicate samples were collected from the predominant halophyte herbaceous species in the saline system. The soil was manually drilled to a depth of approximately 20 cm with the aid of a shovel, cutting the lateral roots that held the plant to the soil and forming a circular sample containing soil, roots, and vegetative parts. The roots were shaken manually to remove the soil. The precipitated soil released from the roots was used for chemical analyses, and the rhizosphere soil was assessed directly from the remaining roots using a previously described protocol (MCPHERSON et al., 2018).

The aerial parts of the plants were sent to the Herbarium of the Botany Department at Federal Rural University of Rio de Janeiro (UFRRJ) for identification and registered in the Index Herbarium under the acronym RBR (<https://ipt.jbrj.gov.br>). Five samples of four species of herbaceous halophytes were identified as dominant in the different saline areas (Figure 10). In the hypersaline tidal plain area of Rio de Janeiro (I), dense and sparse populations of *Salicornia fruticosa* (herbarium record RBR 46532) (S1) were observed (Figure 10). Two predominant plant species were found surrounding the hypersaline lagoon in *Saquarema* (II), *Sporobolus virginicus* (herbarium record RBR 55055) (S2) and *Cyperus ligularis* (herbarium record RBR 55056) (S3) (Figure 10). In the abandoned salt pan in São Pedro da Aldeia (III), two species were identified as *Salicornia fruticosa* (herbarium record RBR 55054) (S4) and *Blutaparon portulacoides* (herbarium record RBR 55053) (S5) (Figure 10).

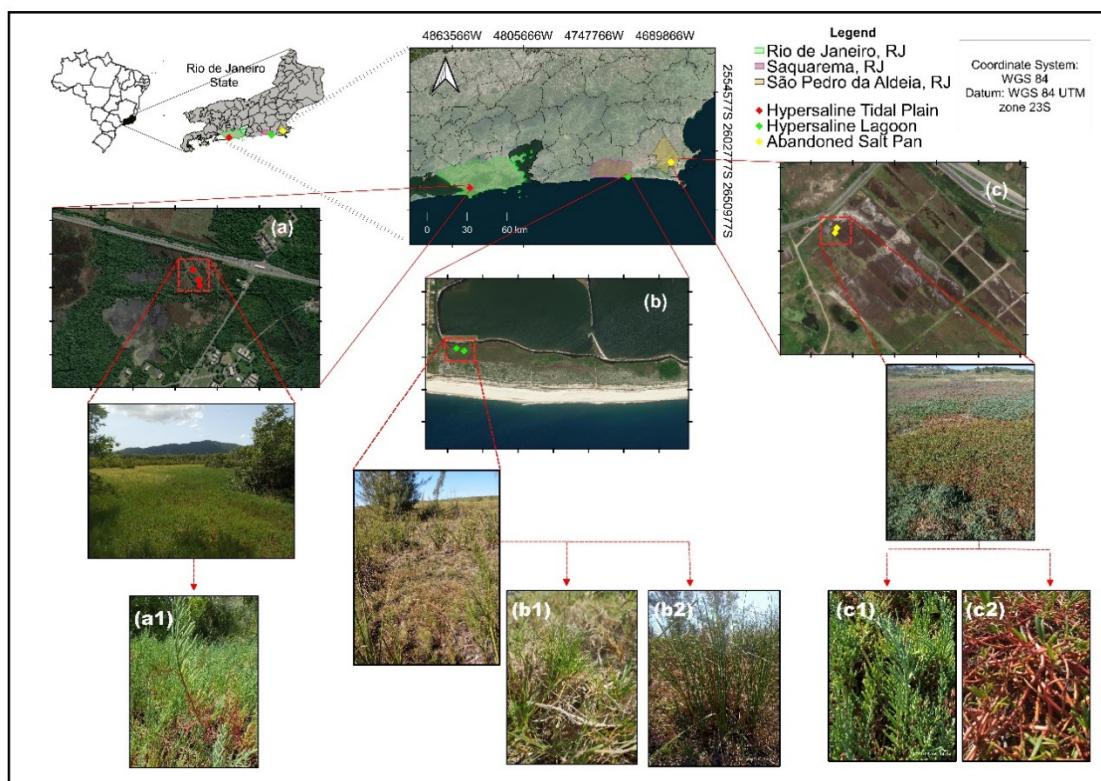


Figure 10. Diagram representing the collection areas with a map of the area, location, landscape, and plant species present in the region. (a) Guaratiba/RJ Hypersaline Plain - Plant (a1) *Salicornia fruticosa*; (b) Surroundings of the hypersaline lagoon in Saquarema/RJ - Plant (b1) *Sporobolus virginicus* and plant (b2) *Cyperus ligularis*; (c) Abandoned salt pan area in São Pedro da Aldeia/RJ - Plant (c1) *S. fruticosa* and (c2) *Blutaporon portulacoides*.

4.4.2 Chemical analyses of soil

The main chemical attributes of the soil were evaluated according to the “Manual of Soil Chemical Analyses” proposed by the Brazilian Agricultural Research Corporation (EMBRAPA) and recommended for soils in Brazil (TEIXEIRA et al., 2017). Ca^{2+} , Mg^{2+} , and Al^{3+} were extracted with KCl solution and quantified via titration; P, K^{+} , and Na^{+} were extracted with Mehlich 1 solution and quantified by colorimetry (P) and flame emission photometry (K^{+} and Na^{+}). Second, H+Al was evaluated using a 0.025 mol L⁻¹ calcium acetate solution, the soil pH in water was determined, and CEC was calculated as described by Teixeira et al. (2017). Total organic carbon was determined by hot oxidation with potassium dichromate and titration with ammonium ferrous sulfate (YEOMANS and BREMNER, 1988), and was calculated according to the recommendations and mathematical equations described by Cantarella et al. (2001).

The chemical attributes of the three study areas are presented in Table 5; these were characterized as saline-sodic, as they possessed an $\text{EC} > 7 \text{ mS cm}^{-1}$ and $\text{ESP} > 15 \%$ (Brazilian Soil Classification System).

Table 5. Chemical properties of soils from different saline environments.

Variable	Unit	S1	S2	S3	S4	S5
Na ⁺	cmol _c dm ⁻³	42.89 a	10.50 c	5.97 d	23.56 b	11.63 c
Ca ²⁺	cmol _c dm ⁻³	4.96 c	5.03 c	6.22 b	21.02 a	5.77 b
Mg ²⁺	cmol _c dm ⁻³	14.61 a	5.81 c	4.63 c	11.55 b	5.86 c
K ⁺	cmol _c dm ⁻³	0.85 b	0.43 cd	0.35 d	1.57 a	0.76 bc
H+Al	cmol _c dm ⁻³	19.85 a	0.13 b	0.00 †	0.00 †	0.28 b
Al ³⁺	cmol _c dm ⁻³	0.25 a	0.01 b	0.01 b	0.01 b	0.01 b
P	mg kg ⁻¹	20.10 c	2.76 d	2.03 d	25.60 b	34.60 a
pH	H ₂ O 1:2.5	4.72 e	8.32 b	8.45 a	7.97 c	7.78 d
TOC	%	10.14 a	1.90 b	2.47 b	1.24 c	0.97 c
ESP	%	51.00 a	48.00 ab	35.00 d	41.00 c	48.00 ab
EC	mS cm ⁻¹	96.00 a	33.40 c	18.80 d	63.60 b	61.60 b
V	%	76.00	99.00	100.00	100.00	99.00

TOC = total organic carbon; ESP = exchangeable sodium percentage; EC = Electric conductivity; V = base saturation. Equal letters on the same line do not differ from each other in the Tukey test, at 5% significance; † = There is no variance in the data. Rhizosphere soil: S1 - *Salicornia fruticosa* from a hypersaline tidal plain; S2 - *Sporobolus virginicus* and S3 - *Cyperus ligularis* in a hypersaline lagoon; S4 - *Salicornia fruticosa* and S5 - *Blutaparon portulacoides* from abandoned salt pans.

4.4.3 Genomic DNA extraction from the rhizosphere and preparation of 16S rRNA libraries

Approximately 10-15 fragments of randomly selected plant roots were sectioned using scissors and sterilized with 70 % alcohol. The roots were placed in a Falcon-type tube containing 35 mL of 0.154 mol L⁻¹ NaCl saline solution. The rhizosphere soil was released from the root surface by shaking the tubes in a Vortex MiXer® K45-2810 (Kasvi, São José dos Pinhais, PR, Brazil) at 300 rpm for 2 min. Roots were removed from the tubes using tweezers sterilized with 70 % alcohol. Then, the tubes with rhizosphere soil were shaken again, and the mixture was filtered through a 100 µm mesh into microtubes. The rhizosphere solution was centrifuged at 3000 x g for 5 min at 25 °C, the supernatant was discarded, and the rhizosphere soil sample was resuspended in 1.5 mL of 0.1 mol L⁻¹ phosphate buffer solution (0.0454 mol L⁻¹ NaH₂PO₄; 0.037 mol L⁻¹ Na₂HPO₄). Finally, the mixture was centrifuged at 16,000 x g for 2 minutes and the supernatant was discarded. The pellets were stored at -20°C until the genomic DNA extraction step for taxonomic studies.

Total DNA was extracted from rhizospheric soil samples (0.5 g) using a DNA PowerSoil kit (MO Bio Laboratories INC, Carlsbad, CA, USA) according to the manufacturer's protocol. After extraction, the samples were stored at 20°C, and the quantity and quality of the obtained DNA were evaluated using a NanoDrop® 2000 spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA).

Genomic DNA samples were sent to Macrogen (South Korea; dna. macrogen.com) for library preparation and sequencing. The libraries were prepared based on the V3-V4 region of the 16S rRNA gene using Bakt_341F (5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3' and Bakt_805 (5'-GAC-TACHVGGGTATCTAATCC-3') primers (HERLEMANN et al., 2011). In conjunction with the primers, a 16S rRNA gene amplicon sequencing library was generated using Herculanase II Fusion DNA Polymerase (Agi- lent Technologies, Inc., Santa Clara, CA, USA) and the Nextera XT v2 Index Kit (Illumina, Inc., San Diego, CA, USA), following the manufacturer's guidelines at Macrogen (Seoul, South Korea). The amplicons were multiplexed in a single run on an Illumina next-generation sequencing MiSeq platform (Illumina, Inc., San Diego, CA, USA) for 2 x 300 bp paired-end reads using a v3 flow cell. A library concentration of 3 pM was loaded, with a 30 % spike-in of the Illumina® Phix control DNA library, following the

manufacturer's guidelines. Using the bcl2fastq v2.20 software (Illumina, Inc., San Diego, CA, USA), binary base call (BCL) files, which are the raw data files generated by Illumina sequencers, were converted to FASTQ format, demultiplexed, and had their barcodes removed.

4.4.4 Processing of raw genetic data

The total raw sequences were analyzed using the divisive amplicon denoising algorithm (DADA2) v. 1.16.0 (CALLAHAN et al., 2016) pipeline in R environment v. 4.2.3 (R CORE TEAM, 2023) in conjunction with RStudio (RSTUDIO TEAM, 2023). The FIGARO tools (WEINSTEIN et al., 2019) were utilized to optimize the truncation length parameters using the “filterAndTrim” R function (263 bases for forward reads and 222 bases for reverse reads). Using this tool, forward and reverse reads with more than three expected errors (maxEE) were discarded. Next, reads were truncated at the first instance of a quality score less than or equal to two score ($\text{truncQ} \leq 2$). Error rates of the sequences were calculated using the “learnErrors” function, a machine learning-based algorithm. Amplicon sequence variants (ASVs) were inferred using the “given” function, and paired reads were merged by applying the outputs of the previous functions to the input of “mergePairs.” Chimeric sequences were identified using the “removeBimeraDenovo” function and taxonomic assignments were given to the remaining sequences based on the Silva SSU 138 (modified) database (QUAST et al., 2013), using the “IdTaxa” algorithm from the ‘DECIPHER’ v 2.20 R library (WRIGHT, 2016), which is considered a method with better classification performance than that of the standard set by the naive Bayesian classifier [51]. The R packages ‘DECIPHER’ and ‘phangorn’ (SCHLIEP, 2011) were used to create an alignment and a phylogenetic tree of the ASVs. Data processing resulted in 506,590 high-quality sequences, allowing the identification of 10,526 Amplicon Sequence Variants (ASV) when combining information from the 15 composite soil samples. The paired and chimera-free sequences, along with their respective BioSample assignments, were deposited in the NCBI repository under the project code PRJNA990472 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

4.4.5 Statistical analysis

Analyses of beta and alpha diversity metrics were performed using the R package ‘vegan’ v. 2.5-7 (OKSANEN et al., 2022). To evaluate the differences in the structure of the bacterial communities present at the five sites, a permutational multivariate analysis of variance (PERMANOVA) was performed based on the non-metric multidimensional scaling (NMDS) multivariate model and the UniFrac unweighted distance matrix based on ASV matrices and environmental data. A complementary distance-decay analysis using the covariance matrix and Bray–Curtis dissimilarity measure was also performed. Comparisons of the number of ASVs and Shannon and Simpson diversity indices between sites were made using Kruskal–Wallis non-parametric statistics, followed by Dunn’s post-hoc test, both at a significance level of 5 % ($p < 0.05$) using the generated library. For this, alpha-diversity indices were computed by the “estimate_richness” function of the R library ‘phyloseq’ v. 1.40.0 (MCMURDIE; HOLMES, 2013) and statistical tests were performed with the help of the ‘ggbetweenstats’ function of the R package ‘ggstatsplot’ v. 0.11.0 (PATIL, 2021). Other multivariate statistical analyses, index calculations, and correlations were performed using R computational resources associated with the ‘vegan’ library. The relative abundance of taxa was calculated from the rarefied sequences by dividing the absolute number of ASVs attributed to each taxonomic level (phylum and class) by the total number observed.

Differential expression analysis was performed to compare ASV enrichment within each of the five sites by selecting ASVs with 60 or more reads. The function used to compare

ASV abundance was a one- way analysis of variance (ANOVA), followed by a generalized linear model (GLM), both at a significance level of 5 %, and p-values were corrected using the method proposed by Benjamini and Hochberg (1995). The results were generated through the R package “MicrobiotaProcess” (XU et al., 2023) and graphically presented through a phylogenetic distance dendrogram, constructed using the ‘ggdiffclade’ function, also from the ‘MicrobiotaProcess’ package. Associations between soil chemical factors and bacterial taxa were analyzed using the Spearman’s correlation test. The p-values calculated for each association were adjusted separately for each environmental variable using the Benjamini-Hochberg method. The same procedure was used for the most significant chemical variables and alpha-diversity measurements.

The contributions of core members to beta diversity were quantified as described by Burns et al. (2016a) and Shade and Stopnisek (2019). For this, neutral community models were adjusted by grouping the ASVs found in each rhizosphere system according to their frequency of occurrence in the independent samples. The contribution of a subset of core taxa to beta diversity was quantified by calculating the proportion of total community similarity attributable to the main subset using Bray- Curtis dissimilarity (SHADE; STOPNISEK, 2019). Each ASV within the microbial core was classified according to criteria described by Burns et al. (2016a). For this, the point was delimited at which an increase in the core inclusion threshold offered marginal return in explanatory value, addressing two methods: an “elbow” approach and a final percentage increase in beta diversity (25 % or more), the latter being more appropriate for our study. The curve coefficient (m) was estimated using the Maximum Likelihood Estimation, and the quality of the fit was measured by calculating the root mean square error (RMSE).

Co-occurrence network analysis was performed to explain the structure of microbial interactions in the five niches. Associations were made through SparCC correlation, filtering AVS spans with a relative frequency >0.0005 and using the NetCoMi method with Hellinger normalization (PESCHEL et al., 2021). Networks were constructed using the Kruskal’s minimum spanning tree algorithm to identify groups of highly correlated ASVs (KRUSKAL, 1956). The network parameters were estimated for each environment using the approach suggested by Tackmann et al. (2019).

The network graphs were constructed using Gephi software v. 0.10.1 (BASTIAN et al., 2009), where disconnected nodes and edges with weights lower than 0.6 or p-value > 0.01 were hidden. In these approaches, the nodes (ASVs) are classified into modules to analyze the connectivity of the subcommunities that comprise the network. Module eigengene analyses, which are the associations between the first principal component of each detected module and environmental factors, were also performed. In these analyses, all probabilities were adjusted using the Benjamini–Hochberg method.

Functional prediction analysis was based on the association of 16S rRNA sequences with a collection of prokaryotic functional profiles deposited in the FAProTax database (LOUCA et al., 2016). All other graphs representing the analyses described above were constructed using the computing resources provided by the R ‘ggplot2’ package (WICKHAM, 2016).

4.5 RESULTS

4.5.1 Diversity and structure of bacteria in the halophyte rhizosphere

The number of ASVs and the Shannon index showed considerable differences between the samples (Figure 11a and b). The S1 rhizosphere had a higher number of ASVs than the S4 and S5 rhizospheres. The number of ASVs in the S2 rhizosphere was higher than in the S5 rhizosphere. The Shannon index showed that the diversity was lower in S5 than in S1. Simpson's index did not show any significant differences (Figure 11c). Simpson's index did not show any significant differences (Figure 11c).

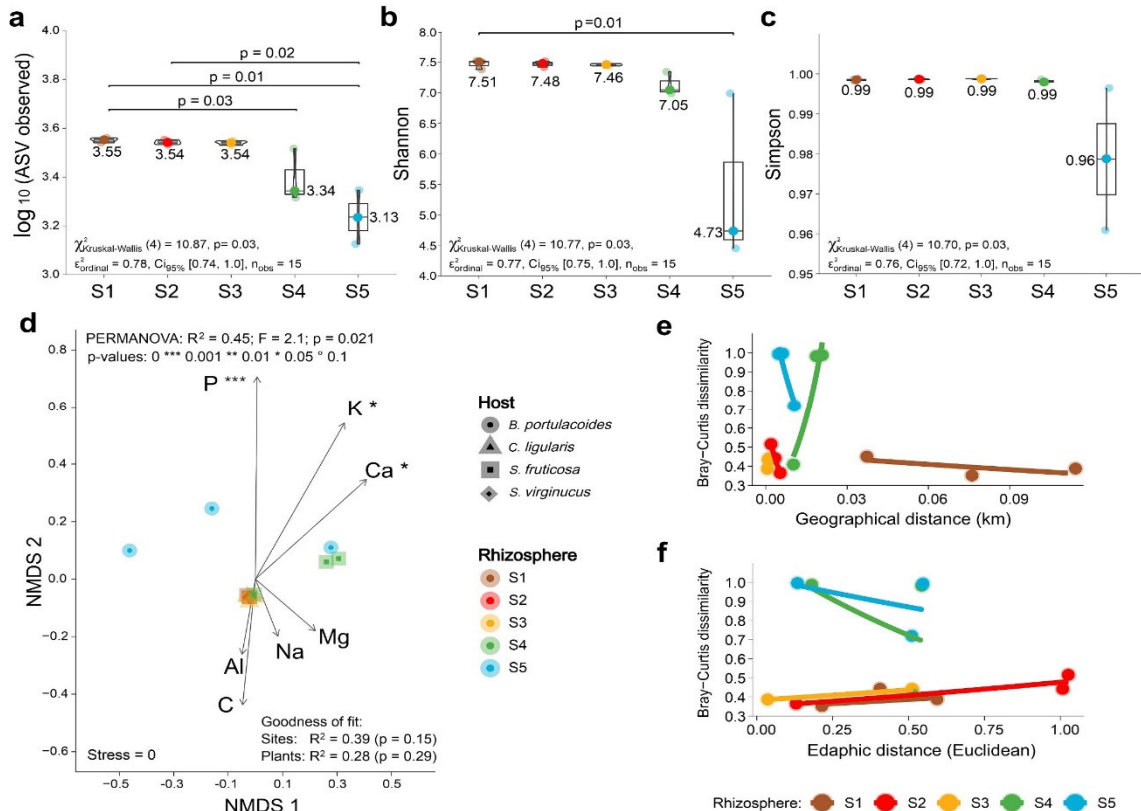


Figure 11. Main alpha-diversity indices and structure of bacterial communities comparing the halophytes plant rhizosphere. Log10 of the number of ASVs (a), Shannon index (b) and Simpson (c). Samples connected by the horizontal line differed significantly by the Dunn post-hoc test ($p < 0.05$). Multivariate models based on non-metric multidimensional scaling (NMDS) and unweighted UniFrac distance matrix (d) and distance-decay based on the Bray-Curtis distance matrix as a function of the geographic distance between collection points (e) and the soil edaphic distance (f). Rhizosphere systems: S1 - *Salicornia fruticosa* in a hypersaline plain; S2 - *Sporobolus virginicus* in a hypersaline lagoon; S3 - *Cyperus ligularis* in a hypersaline lagoon; S4 - *Salicornia fruticosa* in an abandoned salt pan; S5 - *Blutaparon portulacoides* in an abandoned salt pan.

The unweighted UniFrac distance matrix explained 39 % of the observed variability in the bacterial community structures of the rhizosphere systems (Figure 11d). Of these, 28 % of the variation was explained by plant species and the remainder (33 %) was attributed to unknown environmental factors. The multivariate model, based on non-metric multidimensional scaling, explained the variation in the bacterial community structure as a function of the chemical variables of saline soils. According to the multivariate permutation model, seven soil chemical variables were responsible for the variation in the bacterial

community structure, with P, K⁺, and Ca²⁺ being the most significant (R² 0.45, p 0.021) (Figure 11d).

The structures of the bacterial communities associated with S4 and S5 rhizosphere soils differed from those of the other soils (Figure 11d). The rhizosphere bacterial communities also differed with increasing geographical distance between sampling points (Figure 11e) and as a function of soil chemical changes (Figure 11f). Dissimilarity analysis based on the Bray–Curtis distance (distance-decay) showed that the bacterial communities in these rhizospheres (S4 and S5) varied more in small- distance jumps than in other niches, even with samples separated by <20 m (Figure 11e). In contrast, the S1 microbial structure was the least variable with distance, even at distances of 30 and 80 m between sampling centers, suggesting greater stability of these communities (Figure 11e).

In relation to edaphic distance, in general, the short geographic distance between samples in the S4 and S5 environments resulted in little variation in the chemical characteristics of the samples (Figure 11f). However, the S2 rhizosphere had the greatest edaphic variability and was third in terms of the amplitude of the average dissimilarity of bacterial communities (Figure 11f), even when the distances between sampling points were <10 m. The rhizospheres associated with the halophytes from the abandoned salt pan (S4 and S5) differed in terms of diversity and community structure. This variability is explained mainly by environmental factors such as chemical soil variables. Soil P, K⁺, and Ca²⁺ were the most significant chemical variables responsible for the variation in bacterial communities.

4.5.2 Taxonomic composition and enrichment

Rhizosphere soils accounted for 15.8 % of the analyzed ASVs (1317/ 8325) (Figure 12a). The S1, S2, S3, and S4 rhizospheres shared 25.28 % of the ASVs (2105/8325) (Figure 12a). The S4 and S5 rhizospheres had the highest number of unique ASVs among all the samples, and a considerable abundance of ASVs was shared (1773/8325) (Figure 12a).

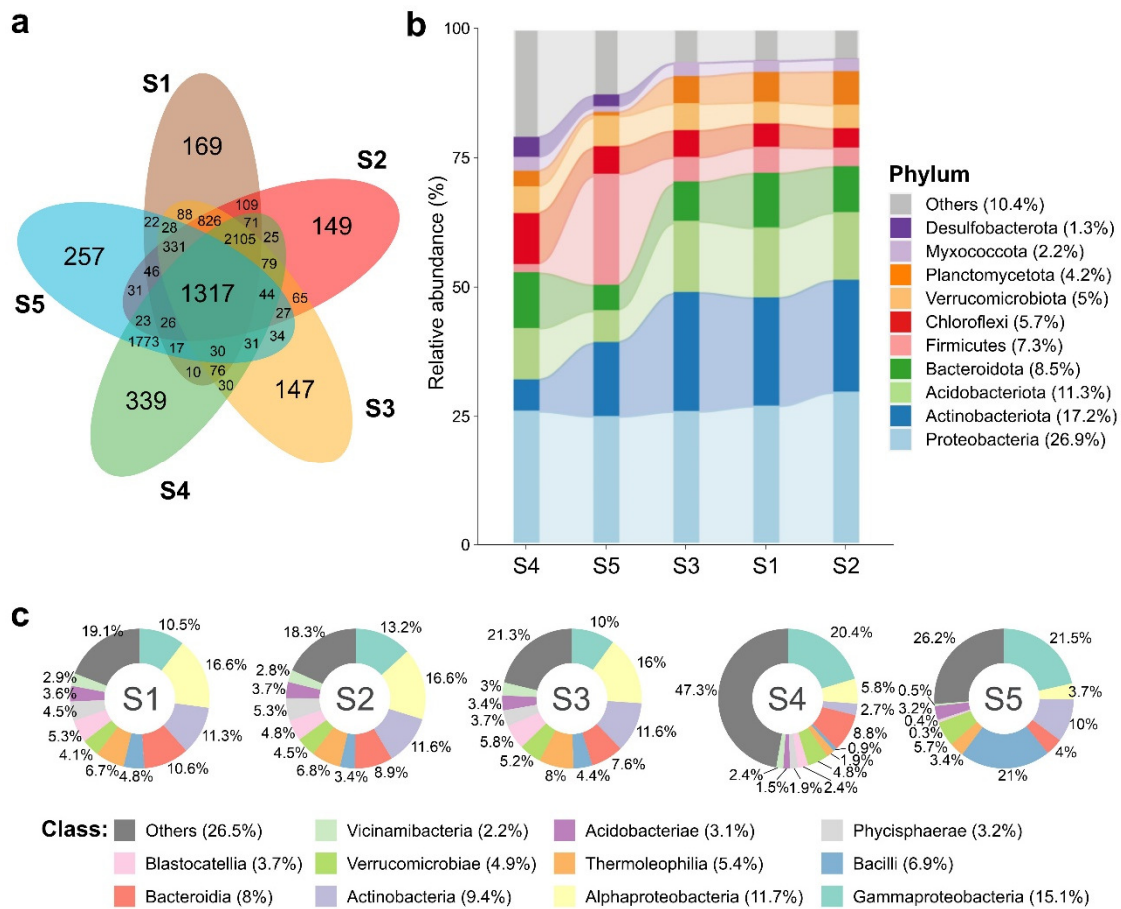


Figure 12. Composition of bacterial taxa at each halophytes plant rhizosphere. Venn diagram showing the sharing of ASVs between sites (a) and relative frequency of the ten most abundant bacterial phyla (b) and eleven classes (c), where the percentages in parentheses represent the overall relative frequency of phyla and classes in the sum of all samples. Rhizosphere systems: S1 - *Salicornia fruticosa* in a hypersaline plain; S2 - *Sporobolus virginicus* in a hypersaline lagoon; S3 - *Cyperus ligularis* in a hypersaline lagoon; S4 – *S. fruticosa* in an abandoned salt pan; S5 - *Blutaparon portulacoides* in an abandoned salt pan.

Ten bacterial phyla were detected in the rhizosphere soil samples: Proteobacteria (26.9 %), Actinobacteria (17.2 %), Acidobacteria (11.3 %), Bacteroidetes (8.5 %), Firmicutes (7.3 %), and Chloroflexi (5.7 %) (Figure S2b). Eleven bacterial classes were identified, with Gammaproteobacteria (15.1 %), Alphaproteobacteria (11.7 %), Actinobacteria (9.4 %), Bacteroidia (8 %), Bacilli (6.9 %), and Thermoleophilii (5.4 %) being the most abundant classes in the rhizosphere soils of the analyzed environments (Figure 12c). The distribution and abundance of the classes in the rhizosphere soils varied according to the plant species (Figure 12c). The S1, S2, and S3 rhizospheres had similar class distributions and abundances. The S4 and S5 rhizospheres differed from those of the other plants. In the S1, S2, and S3 soils, the class Alphaproteobacteria was the most abundant, whereas the class Gammaproteobacteria was the most predominant in the S4 and S5 plant rhizospheres. In the S5 rhizosphere, there was a greater abundance of the Bacilli class.

Differential expression analysis revealed that different bacterial taxa were enriched in rhizosphere soils (Figure 13). The S1, S2, and S3 rhizospheres showed greater enrichment of bacterial groups than the S4 and S5 rhizospheres (Figure 13).

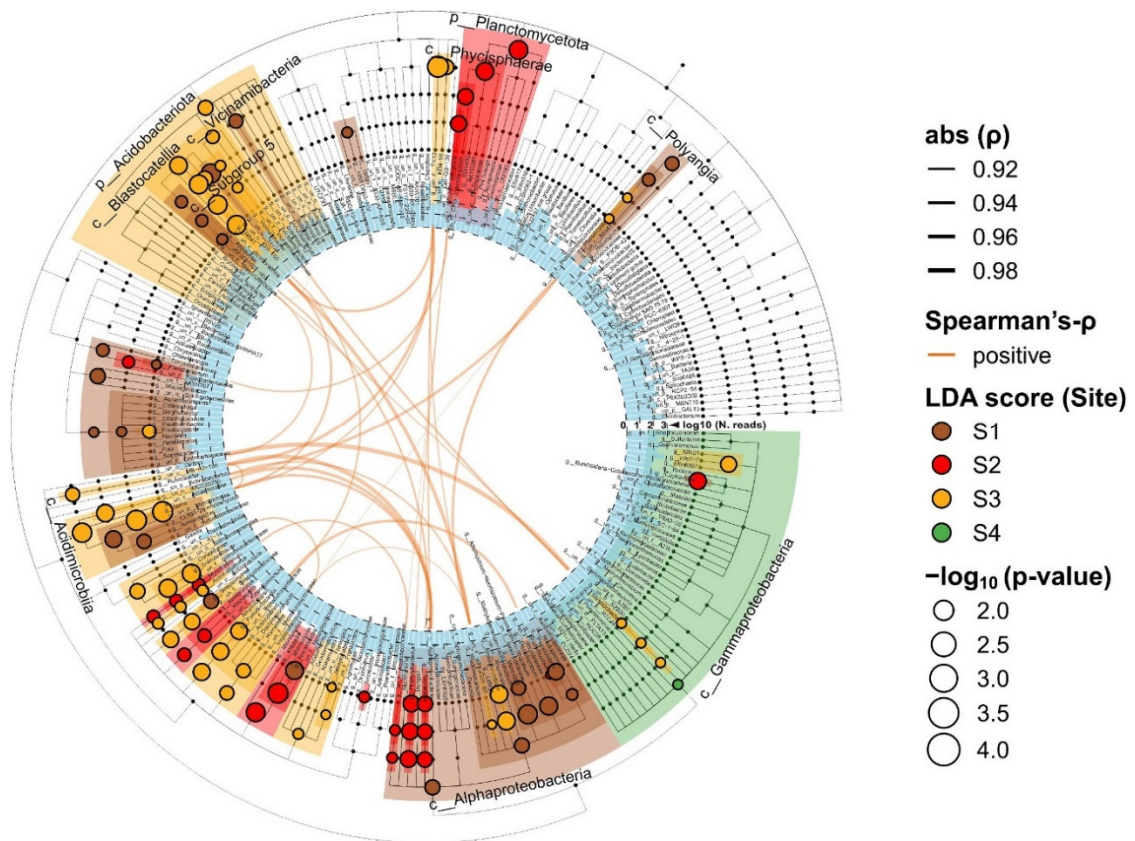


Figure 13. Differential expression analysis (DEA) comparing enrichment at different taxonomic levels between the halophytes plant rhizosphere. The colored circles represent the DEA score of each ASV, being analyzed from the taxonomic level of phylum to genus (when possible). Sample S5 did not show any enriched ASVs. The vertices in the center of the graph represent significant correlations (<0.05) of the Spearman coefficient (ρ) between taxa, filtering absolute values ≥ 0.9 , a condition in which no significant correlations were found. The blue bars in the intermediate region more towards the center of the graph indicate the absolute abundance of the number of reads of each ASV. For this analysis, only the more abundant ASVs were considered, with reads ≥ 100 . Rhizosphere systems: S1 - *Salicornia fruticosa* in a hypersaline plain; S2 - *Sporobolus virginicus* in a hypersaline lagoon; S3 - *Cyperus ligularis* in a hypersaline lagoon; S4 – *Salicornia fruticosa* in an abandoned salt pan; S5- *Blutaparon portulacoides* in an abandoned salt pan.

In S1, the rhizosphere soil showed a greater enrichment of the class Alphaproteobacteria, particularly *Pseudolabrys*, *Mesorhizobium*, *Rhizobium*, and *Microvirga*. The Actinobacteria were significantly enriched in *Streptomyces* and *Nocardioides*. *Ilumatobacter* belonging to classes Acidimicrobiia and Mucilaginibacter were enriched. The Blastocatellia class was also significantly enriched (Figure 13). In the S2 rhizosphere, there was significant enrichment of *Reyranella* and *Phenylobacterium* of the class Alphaproteobacteria. *Marmoricola* and *Kribbella* were enriched. The class Phycisphaerae was also enriched. In the S3 rhizosphere, the Actinobacteria classes, mainly *Pseudonocardia* and *Amycolatopsis*, were enriched. *Conexibacter* and *Solirubrobacter* were enriched in the thermoleophilic class. The classes Blastocatellia and Gammaproteobacteria were also enriched; among Alphaproteobacteria, *Rhodomicrobium* was enriched (Figure 13). In the S4 rhizosphere, enrichment of the class Gammaproteobacteria was minimal, and no bacterial groups were enriched in the S5 rhizosphere.

The most abundant phyla detected in all the halophyte rhizospheres were Proteobacteria, Actinobacteria, and Acidobacteria. S4 and S5 revealed the lowest abundance, and the community composition varied compared with the other rhizospheres. Halophyte rhizospheres show a high abundance of unique bacterial members. However, the enrichment of bacterial members was the lowest compared to that of the other rhizospheres.

4.5.3 Associations between bacterial diversity and soil chemical attributes

Correlation analyses revealed that some bacterial classes and alpha diversity indices were positively or negatively associated with certain soil attributes (Figure 14). The soil variables that showed the greatest significant differences were the P and K levels.

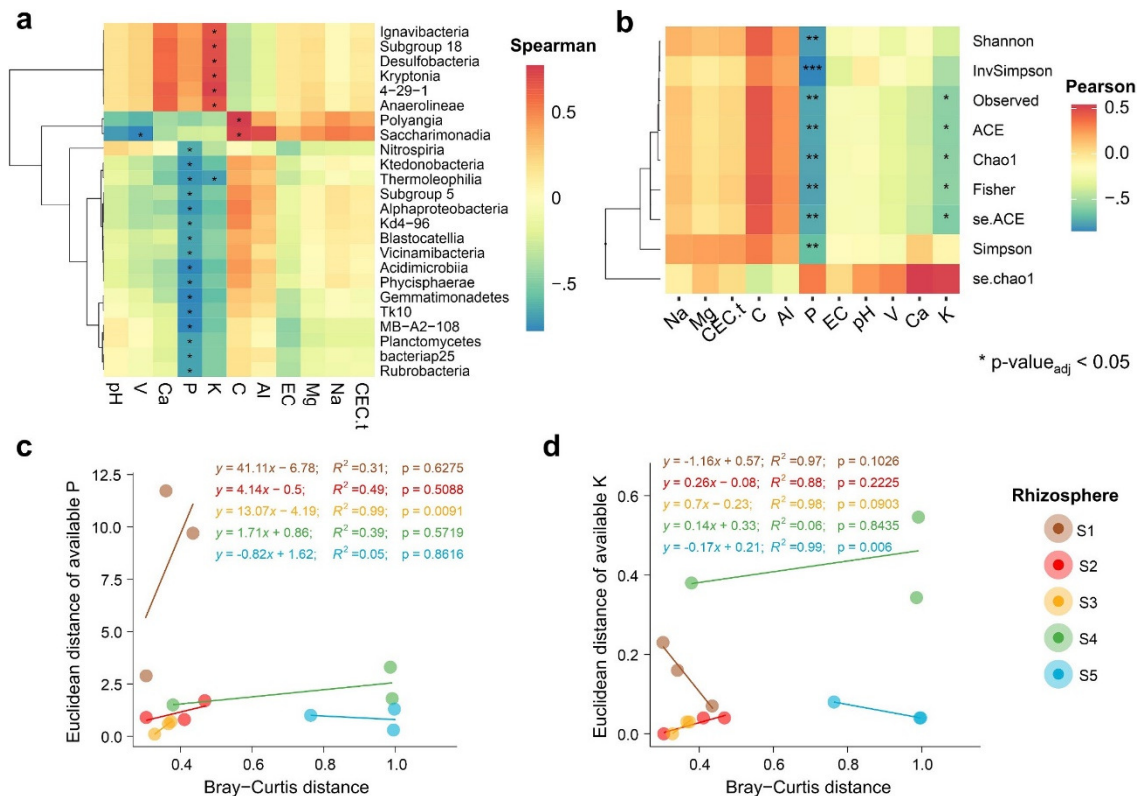


Figure 14. Associations of chemical variables with bacterial taxa and relation of Euclidean distance of significant chemical elements with beta diversity. The monotonic associations contrasted the Spearman correlations between chemical variables and bacterial classes (a) and the Pearson correlations between chemical factors and the main alpha diversity metrics (b), thus highlighting the influence of Euclidean distance of P (c) and K (d) concentrations available in soil with beta diversity measured using the Bray–Curtis dissimilarity, demonstrating the linear influence of the concentrations of these elements on the differentiation of the structure of microbial communities (beta-diversity) in the investigated environments. Rhizosphere systems: S1 - *Salicornia fruticosa* in a hypersaline plain; S2 - *Sporobolus virginicus* in a hypersaline lagoon; S3 - *Cyperus ligularis* in a hypersaline lagoon; S4 – *Salicornia fruticosa* in an abandoned salt pan; S5 - *Blutaparon portulacoides* in an abandoned salt pan.

Total organic carbon content and base saturation (V%) were significantly correlated for certain bacterial classes. P content was negatively correlated with the taxa Nitrospira, Ktedonobacteria, Thermoleophila, Subgroup 5, Alphaproteobacteria, kd4-96, Blastocatellia,

Vicinamibacteria, Acidimicrobiia, Phycisphaerae, tk10, MB-A2-108, Planctomycetes, and Rubrobacteria. The K content was negatively correlated with the class Thermoleophila and positively correlated with Ignavibacteria, Subgroup 18, Desulfobacteria, Kryptonia, 4-29-1, and Anaerolineae. V% was negatively correlated with Saccharimonadia content. Total organic carbon was positively correlated with Polyangia and Saccharimonadia (Figure 14a). In relation to alpha-diversity indices, P content was negatively correlated with the Shannon, InvSimpson, Observed, ACE, Chao1, Fisher, Se. ACE, and Simpson indices. The K content was negatively correlated with the observed ACE, Chao1, Fisher. ACE, and Simpson indices (Figure 14b).

The levels of P and K were predominant in the differences between bacterial communities; analyses based on the Bray–Curtis dissimilarity matrix showed that bacterial communities differed according to the available P and K levels in the soil (Figure 14c and d). The community present in the S1 rhizosphere had a greater influence on available P concentration than the other communities. The other rhizosphere samples showed greater similarities with respect to P concentration. In S4 and S5, the influence of P concentration was similar to that on the rhizosphere communities of plants present in S2 and S3 (Figure 14c). In relation to the available K concentration, the bacterial community of S4 showed greater dissimilarity with the other rhizosphere soils and a greater influence of the soil K concentration (Figure 14d). The bacterial community in the S5 rhizosphere was different from that in the other rhizospheres. The S1, S2, and S3 rhizospheres were grouped together, indicating that their bacterial communities were similar.

Soil attributes influenced the halophyte bacterial communities, mainly the P and K content. P and K correlated with some members and diversity. Bacterial diversity was correlated with P and K content. The Thermoleophila class was negatively correlated with P and K content. The S1 rhizosphere communities were more influenced by the P content, whereas the S4 rhizosphere communities were more influenced by the K content.

4.5.4 Core bacteria communities

Based on the Root Mean Square Error (RMSE) values, biologically interpreted as the average deviation of ASV predictions from the target and the percentage of ASVs above or below the neutral model prediction lines, the rhizospheres exhibited different behaviors regarding the deviation from the neutral prediction and the composition of the microbial core (Figure 15). S4 and S5 showed the best fit (RMSE > 30 %) and the lowest deviation rate from the 95 % confidence zone of the neutral model, where >95 % of the ASVs remained in both cases (Figure 15a). In contrast, S1, S2, and S3 presented many ASVs above the prediction threshold, indicating that some taxa were detected at a higher frequency than expected. For the insertion of taxa within the microbial core, the cut-off based on the criterion of the final percentage increase in beta diversity by 25 % was the most suitable (Figure 15b), allowing the selection of core ASVs with the maximum occurrence frequency within the samples. The largest number of components was observed in the cores of rhizospheres S5 (301 ASVs) and S4 (34), followed by niches S1 (8), S3 (9), and S2 (8).

The core bacteria in all halophyte rhizospheres were primarily Actinobacteria, followed by Proteobacteria and Acidobacteria (Figure 15c). S1 core was mainly composed of Proteobacteria, with Actinobacteria being the second most abundant. S2 and S3 had six core phyla, predominantly Actinobacteria, with Bacteroidetes and Acidobacteria also abundant in S2 and Acidobacteria, Planctomycetota, and Bacteroidetes in S3. Verrucomicrobiota and Chloroflexi were less abundant in S2 and S3. S4 core was represented by ten phyla, primarily Verrucomicrobiota, and included two groups: the candidate phylum FCPU426 and the phylum Cyanobacteria. The S5 core was represented by eight phyla, predominantly Proteobacteria, Firmicutes, Actinobacteria, Acidobacteria, and Verrucomicrobiota. ASVs grouped as Others

were present in S4, with Bacteroidetes and Chloroflexi comprising the bacterial core of S4 at low abundance (Figure 15c).

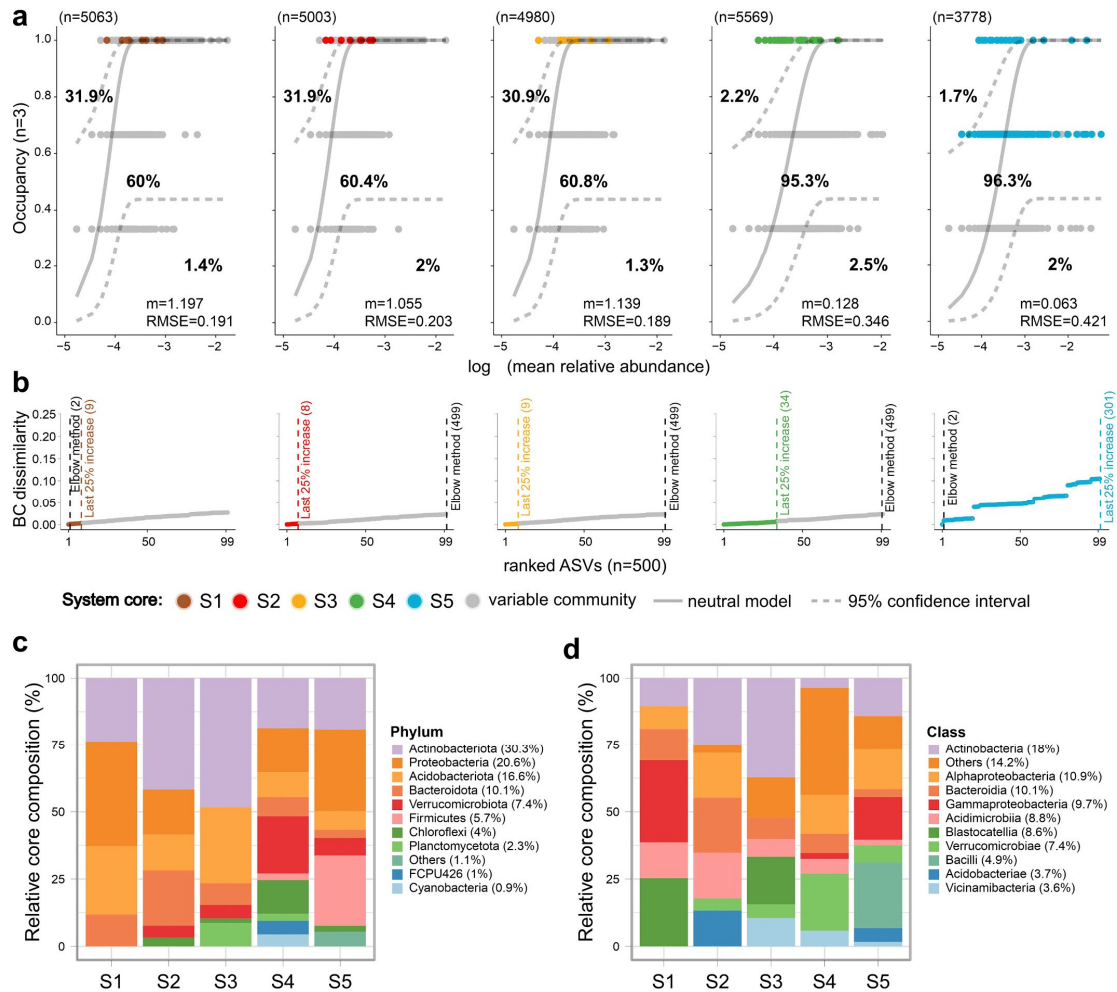


Figure 15. Neutral model fitting for bacterial communities in halophyte plant rhizospheres. The occurrence frequency (occupancy) of the ASVs was demonstrated in relation to the relative abundance of the communities (a). The solid line curve shows the neutral model fitting, while the dashed line curves show the 95 % confidence intervals. ASVs that occur more frequently than predicted by the neutral model were shown above the upper dashed curve, while those that occur less frequently than predicted were demonstrated under the lower dashed curve. To classify the ASVs as part of the core, the cumulative explanatory value with the addition of the next ranking taxon to the core was calculated for each of the rhizosphere sets (b). The gray vertical lines distinguish the central taxa by the first-order difference and the colored dashed lines, by the last increase of 25% in the explanatory value by Bray-Curtis dissimilarity. The relative frequencies of the top ten phyla (c) and classes (d) that composed the rhizosphere cores were calculated. The values “m” and “RMSE” are the coefficient of the neutral model and the Root Mean Squared Error, respectively. Rhizosphere systems: S1 - *Salicornia fruticosa* in a hypersaline plain; S2 - *Sporobolus virginicus* in a hypersaline lagoon; S3 - *Cyperus ligularis* in a hypersaline lagoon; S4 – *Salicornia fruticosa* in an abandoned salt pan; S5 - *Blutaparon portulacoides* in an abandoned salt pan.

In terms of class taxonomy, Actinobacteria were the most abundant in all halophyte rhizosphere core compositions, followed by Alphaproteobacteria, Bacteroidetes, and

Proteobacteria (Figure 15d). ASVs classified as others were highly abundant in S2, S3, and S4, especially in S4. The S1 core composition was dominated by Gammaproteobacteria and Blastocatellia, followed by Acidimicrobiia, Bacteroides, Actinobacteria, and Alphaproteobacteria. Actinobacteria were predominant in S2 and S3, while Bacteroidetes and Alphaproteobacteria were abundant in S2, followed by Acidimicrobiia and Acidobacteriae. Verrucomicrobiae were present in S2 with low abundance. S4's core composition showed ASVs classified as Others, with Verrucomicrobiae and Alphaproteobacteria being the most abundant, followed by Bacteroidetes, Vicinamibacteria, Acidimicrobiia, Gammaproteobacteria, and Actinobacteria. The S5 core community was primarily composed of Bacilli, Gammaproteobacteria, Actinobacteria, and Alphaproteobacteria. ASVs classified as Others were also abundant in S5, with Verrucomicrobiae, Acidobacteriae, Bacteroides, Acidimicrobiia, and Vicinamibacteria comprising the core community of S5 at low abundance (Fig. 4d).

The S4 and S5 rhizospheres had core taxa as expected by neutral prediction, whereas S1, S2, and S3 had some members with higher frequencies than expected. The core members of all the halophyte rhizospheres were Actinobacteria, Proteobacteria, and Acidobacteria. Nevertheless, the core members and their abundance differed for each halophyte rhizosphere. The S4 rhizosphere contained two different groups of core members, FCPU426 and Cyanobacteria.

4.5.5 Species co-occurrence in ecological interaction networks

The rhizosphere soils were represented by the main module (M1), highlighting the most significant ASVs in each rhizosphere (SparCC > 0.95; $p < 0.01$) (Figure 16a and Table 6). Compared to all other models, the M1 module of the networks, consisting of dominant taxa (colored spheres), possessed 30 % or more of the total number of ASVs that constituted the networks: S1 (43%), S2 (30%), S3 (58%), S4 (54%), and S5 (55%) (Table 6).

In these cases, the M1 module of some networks was highly connected (network degree attribute) by a specific class: Thermoleophilia in S1, Alphaproteobacteria in S2 and S3, and Clostridia and Bacilli in S5 (Figure 16a). By contrast, in S4, there was a greater balance in the number of connections between ASVs, with no class standing out in terms of the degree of connections. In addition, the S4 network demonstrated complex interactions (396 vertices and 72,779 nodes) that were superior to those of all other rhizospheres. S4 was the only network in which the number of positive correlations was predominant (51 %) and presented the highest values for average degree attributes (367.6), clustering coefficient (0.973), and network density (0.931) (Table 6).

The bacterial taxonomic composition differed among the networks, with each network presenting an inversion in the proportions of the most abundant taxa, mainly Alphaproteobacteria, Actinobacteria, Acidobacteria, Firmicutes, and Bacteroidetes (Figure 16b). Additionally, the taxonomic composition of the networks influenced the number of interactions between the taxa observed in the pairs, which varied in each rhizosphere system. In general, the connections between the networks S1, S2, S3, and S4 were predominantly established using sequences attributed to Alphaproteobacteria. In contrast, network S5 was marked by the predominance of Firmicutes, followed by Actinobacteria and Alphaproteobacteria (Figure 16b).

Table 6. Attributes of the co-occurrence network of bacterial communities of rhizospheres soil in different saline environments.

Parameters / environments ^a	S1	S2	S3	S4	S5
Number of vertex	156	156	113	396	116
Number of edges	179	230	118	72779	278
Positive edges (%)	29	35	36	51	38
M1 module (%)	43	30	58	54	55
Network diameter ^a	7	7	4	2	4
Average degree ^b	2.29	2.95	2.09	367.6	4.79
Average path length ^c	3.100	2.828	2.060	0.992	2.508
Centrality ^d	0.540	0.523	0.642	0.047	0.610
Clustering coefficient ^e	0.003	0.001	0.007	0.973	0.048
Density ^f	0.015	0.019	0.019	0.931	0.042
Heterogeneity ^g	3.091	2.602	3.372	0.146	2.113

^a Rhizospheres soil: S1 - *Salicornia fruticosa* from a hypersaline tidal plain; S2 - *Sporobolus virginicus* and S3 - *Cyperus ligularis* in a hypersaline lagoon; S4 - *Salicornia fruticosa* and S5 - *Blutaparon portulacoides* from abandoned salt pan.

^b The greatest of the shortest pairwise path lengths or the size of the largest connected component;

^c Number of your direct connections to other nodes;

^d Clustering coefficient and short average geodesic distance, indicator of system performance or the degree of compaction of the microbial structure. In other words, it indicates the average number of steps required to get from one node to another in the network;

^e Betweenness centrality, average importance of nodes in the network, and all nodes, being greater in nodes connected to more influential neighbors (more connected). Therefore, it measures the measured importance of nodes by their frequency of occurrence on paths connecting other nodes.

^f Degree to which nodes in a graph tend to cluster together, defined as the average proportion of connections between neighbors that are actually made and the number of all possible connections. In other words, it quantifies the tendency of the graph to be divided into subunits;

^g A measure of network integrity and effectiveness, it is the observed fraction of real connections across possible collections;

^h Proportional to the modularity of the habitat, it quantifies the number of distinct modular structures.

The co-occurrence interaction network of rhizosphere halophytes was connected by a specific class, and S4 showed no class that stood out in the connections. S4 shows the most complex interactions and positive correlations between the taxa. The bacterial composition differed among the networks; the most abundant taxon was Alphaproteobacteria. The S5 network shows that the phylum Firmicutes was predominant in the halophyte rhizosphere.

4.5.6 Functional predictions based on the 16S rRNA gene

When considering the total communities, prediction results based on 16S rRNA gene coverage prediction (FAPROTAX) showed a strong association between annotated ASVs and prokaryotic processes related to chemoheterotrophy, aerobic chemoheterotrophy, dark hydrogen oxidation, and cellulolysis (Figure 17a). System S5 returned the most ASVs attributed to these processes, followed by system S3, suggesting large functional redundancy in S5 (Figure 17a).

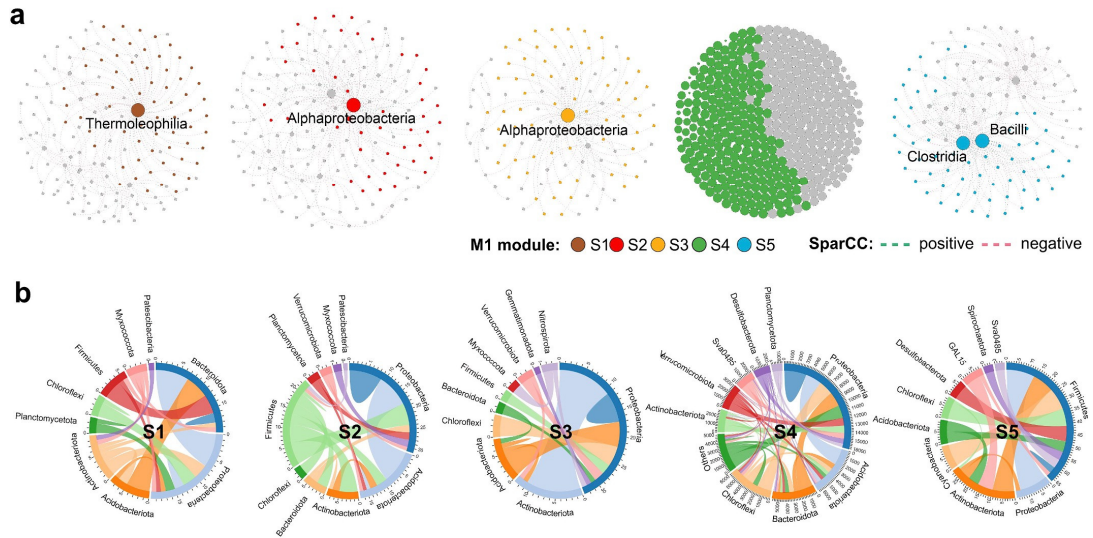


Figure 16. Co-occurrence networks of the rhizosphere soils. The highly correlated groups (SparCC > 0.95, $p < 0.01$) were demonstrated by the graph, showing the signal of correlation (positive and negative) and highlighting the nodes belonging to the main module (M1) through the standard colors of the niches. Rhizosphere systems: S1 - *Salicornia fruticosa* in a hypersaline plain; S2 - *Sporobolus virginicus* in a hypersaline lagoon; S3 - *Cyperus ligularis* in a hypersaline lagoon; S4 - *Salicornia fruticosa* in an abandoned salt pan; S5 - *Blutaparon portulacoides* in an abandoned salt pan.

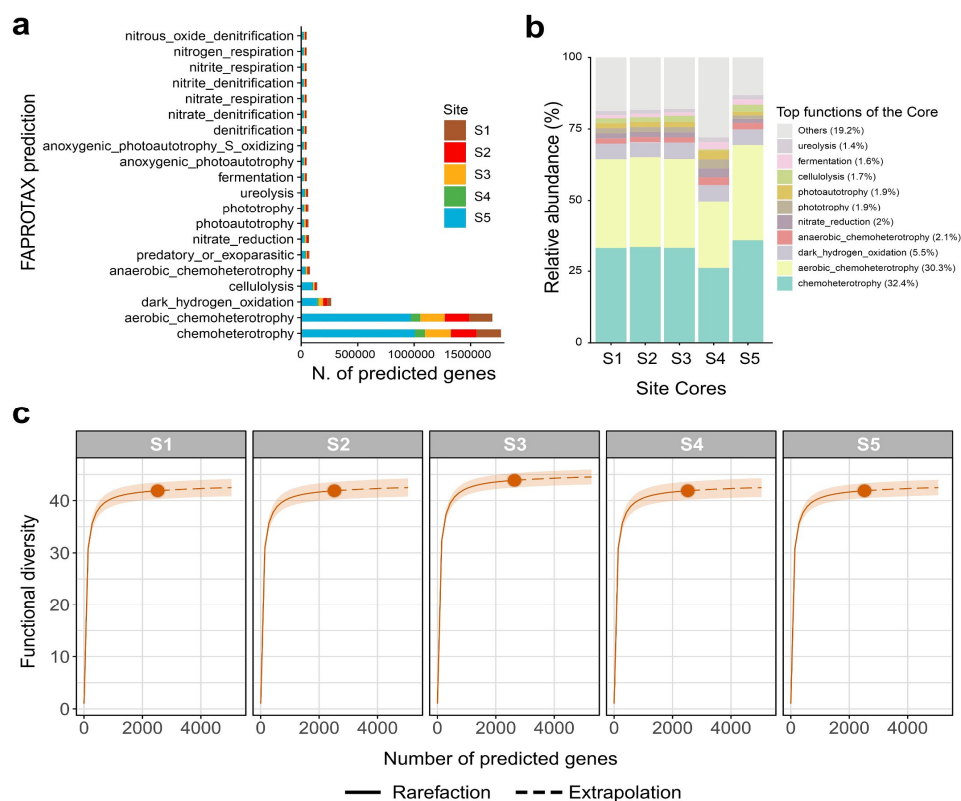


Figure 17. Functional prediction through the FAPROTAX database. Absolute number of predicted functions in total microbial communities (a); Relative frequency of the top ten predicted functions in each of the five microbial cores (b); Analysis of rarefaction curves of the predicted functions in each microbial core, highlighting the higher number of functions in the S3 system (highest position of the central sphere) compared to the other sites (c).

When observing only the core communities, the three main processes remained the most abundant, accounting for approximately 68.2 % of all functional assignments; however, cellulase activity gave way to processes such as anaerobic chemoheterotrophy, nitrate reduction, phototrophy, and photoautotrophy (Figure 17b). In this case, the core systems S1, S2, S3, and S5 exhibited similar functional predictive profiles, diverging from S4, which displayed a more diversified function profile with several other functions grouped in the ‘others’ cluster (Figure 17b). However, it should be highlighted that S4 was the environment with the lowest proportion of predicted functions. Functional diversity was also estimated based on the total number of predicted genes, where the highest peak in the rarefaction curve for S3 indicated greater predicted functional richness compared to the other environments (Figure 17c).

In general, chemoheterotrophy and aerobic chemoheterotrophy were identified as the main prokaryotic processes in all rhizosphere communities. The S5 rhizosphere showed the highest abundance of predicted functional processes, whereas S4 had the lowest. Although, S4 core system showed a more diversified function profile, with high proportion of functions grouped in “others” cluster.

4.6 DISCUSSION

Environmental heterogeneity in the soil influences plant distribution and diversity at several spatial scales (BECK; GIVNISH, 2021). The results showed that the chemical properties of the soil associated with the studied halophytes were significantly different, even in the same environment (Table 5). The variation in abiotic factors among the studied environments at broad spatial scales may have affected the edaphic conditions of the studied soil, thereby affecting plant distribution. In the same environment, the differences in chemical properties were possibly due to the heterogeneous characteristics between patches in the soil, leading to different resources for plant species. Heterogeneous soils can provide different niche opportunities for various species, and thus promote species coexistence and richness, mainly under stressful conditions (BECK; GIVNISH, 2021). Consistent with this, the soils in the hypersaline tidal plain had one predominant herbaceous plant species (S1), *Salicornia fruticosa*, which was more homogeneous than the soils from the other sites. The chemical properties of these soils were decisive in the selection of the plant species for this study. *S. fruticosa* and *B. portulacoides* were predominant in the soils with high EC values. These plants are classified as dicotyledonous halophytes belonging to the family Amaranthaceae and are highly adapted to high-salinity conditions (FLOWERS; COLMER, 2008). *S. virginicus* and *C. ligularis* were the predominant monocotyledonous species in the soils with the lowest salinity. Although monocotyledonous halophytes have a high salt tolerance, they tolerate lower salt levels than dicotyledonous halophytes (FLOWERS; COLMER, 2008).

Microbiome communities, plants, and soil properties have complex interactions, and changes in any of these can affect the bacterial structure and ecological function (YIN et al., 2021). The bacterial communities of the halophyte rhizospheres were similar but showed important differences, reflecting a specific bacterial group for each rhizosphere soil. The differences between the bacterial structures in the halophyte rhizosphere can be explained by the plant species and environmental factors (Figure 11d). These differences were probably driven more by the variation in abiotic factors, owing to the geographical distance between plants, than by the biotic factors linked to plant species. Increased spatial heterogeneity creates different environmental conditions, leading to different community compositions depending on the niche occupied (WANG et al., 2017). The short edaphic distance between S4 and S5 may be related to environmental factors that were not evaluated in this study. The chemical variables of soil associated with halophytes are important for variations in the bacterial community. The levels of P, K⁺, and Ca²⁺ were the principal soil variables responsible for the differences in rhizosphere bacterial communities. The availability of these nutrients may be related to the dominant bacterial classes and key members of the rhizosphere community. Previous studies have also shown that plant species and soil properties are important factors that affect the microbiome community in the rhizosphere soil (DE VRIES et al., 2020; FLOC'H et al., 2020).

Proteobacteria, Actinobacteria, Acidobacteria, and Bacteroidetes were the dominant phyla in all halophyte rhizospheres; nevertheless, their abundances differed between the rhizosphere soils (Figure 12). Several studies have reported that these phyla are important for the composition of bacterial communities in halophyte rhizospheres (KEARL et al., 2019; LI et al., 2021). Among the rhizospheres analyzed, the bacterial communities from the S4 and S5 rhizospheres showed a greater difference, with lower diversity and abundance. The high number of unique bacteria identified in these rhizospheres indicated that the specific factors of the abandoned salt pan environment selected specific members (MANI et al., 2015). Moreover, these rhizospheres had the highest percentage of bacterial phyla grouped as “other,” which indicates a predominance of low-abundant phyla, mainly in S4. A high percentage of low-abundance phyla may indicate variations in environmental factors, possibly due to variations in saline conditions (BOUJELBEN et al., 2012). Changes in environmental factors in commercial

salt pans affect the distribution and succession of microorganisms (BOUJELBEN et al., 2012; MANI et al., 2012). The phylum Delsufobacteria was present only in the bacterial communities of the S4 and S5 rhizosphere soils (Figure 12b). This phylum was positively correlated with K⁺ concentration, and the soils associated with the S4 and S5 rhizospheres showed the highest concentration of this nutrient. Members of this phylum show a preference for anoxic conditions and are classified as sulfate-reducing bacteria (MURPHY et al., 2021). The presence of the phylum Delsufobacteriota in S4 and S5 was possibly related to the flooded conditions of the evaporation tanks of commercial salt pans where saline water is stored (JAVOR, 2002). Gammaproteobacteria was the most abundant class in S4 and S5. In commercial salt pans, the class Gammaproteobacteria is commonly reported to be the dominant bacterial group because of its adaptability to harsh environments (MANI et al., 2015). Alphaproteobacteria and Thermoleophila were most abundant in S1, S2, and S3. These classes were negatively correlated with P and K⁺ concentrations, confirming the lowest concentrations of these nutrients in the soils mentioned above compared to soils associated with the S4 and S5 rhizospheres. The Thermoleophila class adapts to extreme environments with high salt concentrations (DOYTCHINOV; DIMOV, 2022). Other organisms, such as arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), may influence rhizosphere microbiome taxa, mainly halophyte species classified as Poaceae (EMMETT et al., 2021; ZHANG et al., 2022). There is strong evidence that interactions between different organisms alter their functions and enhance the persistence and resilience of microbial communities (FELIPE-LUCIA et al., 2020). AMF exert influence on soil microbial assembly by providing microhabitats and thereby sustain greater soil microbial diversity (FELIPE-LUCIA et al., 2020). S2 was enriched for different members than other halophytes, this plant species belongs to Poaceae family. These results may relate to the presence of AMF that provided an inherent microhabitat.

This study effectively identified the microbial core in halophyte, highlighting the variations in bacterial composition and abundance (Figure 15). The core community, which is abundant and persistent across specific habitats (SHADE; HANDELSMAN, 2012), aids in understanding community adaptations to environmental dynamics (XUE et al., 2023). Systematic exploration of the core is recommended to determine its composition and ecological threshold (ASTUDILLO-GARCÍA et al., 2017). Points above the predicted confidence limit represent taxa that are recruited more frequently than expected, actively maintained, and selected by the host, whereas points below the confidence limit represent taxa that are less frequently than expected, suggesting dispersion limitation or that they are selected against by the host (BURNS et al., 2016b). Actinobacteria, Acidobacteria, Bacteroidetes, and Proteobacteria (except at S3) were consistently found to exhibit mechanisms that protect halophytes from salt stress (RUGINESCU et al., 2020; YIN et al., 2021; LING et al., 2022). Verrucomicrobiota and Chloroflexi were part of the bacterial core in S2, S3, S4, and S5, as reported in halophytes from coastal environments (YUAN et al., 2016; YAMAMOTO et al., 2018). The novel phylum FCPU426, which is a part of the S4 bacterial core community, requires further investigation (SUN et al., 2019; DONG et al., 2022; WANG et al., 2022a, 2022b, 2022c; BAI et al., 2023; FINKELBERG, 2023). Cyanobacteria, which were observed only in S4, are known to fix atmospheric nitrogen and promote plant health growth (ISSA et al., 2014). Planctomycetota, a part of S3 and S4, plays a role in soil nutrient degradation (IVANOVA et al., 2017). Firmicutes, observed in S4 and S5, have adapted to various environments and are associated with plant stress resistance (GAO et al., 2019). The different bacterial core compositions indicate potential functional variations within the rhizospheres (WANG et al., 2023; QIU et al., 2022).

The differences in taxon recruitment in S1, S2, and S3 compared to S4 and S5 may indicate that the environment exerted more pressure on the selection of the microbial core than the host plant species. Although systems S1, S2, and S3 encompassed libraries from different

hosts and locations, they exhibited many similarities in the recruitment of the microbial core, structure, and diversity. These three niches demonstrated that taxa were frequently recruited above the expected prediction and >30 % of the predicted points were above the confidence interval of the neutral model (Figure 13). Meanwhile, the communities selected by S4 and S5, both in abandoned salt pans, demonstrated high rhizospheric recruitment, in line with what was expected from the neutral model, indicating that this environment was more conducive to both. These results may directly reflect the taxonomic and phylogenetic compositions of the taxa that form the microbial core (BURNS et al., 2016a, 2016b; SHADE; STOPNISEK, 2019).

Different bacterial classes stand out as keystone classes in community functioning in the rhizosphere of halophyte plants. The keystone taxa of microorganisms may mediate interactions in the community, with a large regulatory effect on the environment and other members of the microbiome (AKYOL et al., 2020). Thermoleophila was a key class in S1 (Figure 16). In S2 and S3, Alphaproteobacteria was the key class (Figure 16a), which is commonly found in the rhizospheres of plants, including halophytes (LI et al., 2021; Zhao et al., 2022). In the S4 rhizosphere, several bacterial classes were responsible for the community function (Figure 16a). Clostridia and Bacilli are keystone taxa in the S5 rhizosphere and are related to members with high salt tolerance (RIMA et al., 2018). In the S1, S2, S3, and S4 rhizospheres, Alphaproteobacteria influenced the interactions between bacterial taxa (Figure 16b) and enriched Alphaproteobacteria are commonly associated with nitrogen fixation (Wang et al., 2022a, 2022b, 2022c). In contrast, the community interactions in the S5 rhizosphere were influenced by Firmicutes. The high nutrient content in S5 may favor bacterial groups classified as generalists, such as Bacilli and Clostridia (CHENG ET AL., 2020; DENG ET AL., 2021). In the co-occurrence analyses, this community was the most complex among the analyzed rhizospheres, and positive correlations were predominant (Table 6). The abundance of taxa responsible for community stability and greater interactions between these microorganisms leads to a greater range of niches being occupied, making the community more resilient and resistant to environmental stress (JIAO et al., 2019; YANG et al., 2022). The bacterial communities present in the rhizospheres of S4 and S5 were highly resistant to variations in the environmental factors prevalent in commercial salt pans. In natural environments, such as the S1, S2, and S3 rhizospheres, abiotic factors are very stable, leading to a bacterial community that is more specialized and susceptible to environmental changes (YANG et al., 2022).

The functional prediction results revealed a high proportion of chemoheterotrophic and aerobic chemoheterotrophic processes in the halophyte rhizosphere (Figure 17a). Dark hydrogen oxidation and cellulolysis were detected in the predicted profiles (Figure 17a). Studies on saline soils have shown that chemoheterotrophy and aerobic chemoheterotrophy are the primary functional processes (SUN et al., 2022; HOU et al., 2024). Anaerobic chemoheterotrophy, nitrate reduction, phototrophy, and photoautotrophy were more abundant than cellulolysis in the core system (Figure 17b). The anaerobic conditions of saline wetland environments drive the selection of anaerobic microorganisms such as sulfate reducers, aromatic hydrocarbon degraders, and nitrate reducers (BEHERA et al., 2019; ROLANDO et al., 2022). The S1, S2, S3, and S5 core systems had similar functional predictive profiles, whereas the S4 core system showed a diversified functional profile (Figure 17b). The S4 rhizosphere showed a high abundance of taxa in the core members (Figure 15c) and a varied group classified as key taxa (Figure 16a) that possibly provided a different functional process in this rhizosphere. Bacterial communities in the halophyte rhizosphere may be important in the nitrogen and carbon cycles across different metabolic pathways (GU et al., 2019).

Different plants share specific genetics and root exudates, resulting in different soil microhabitats and bacterial communities. Nevertheless, environmental factors were extremely important in the composition of bacterial communities in the rhizosphere halophytes studied, because the same plant species had different bacterial community characteristics when they

grew in different environments. The commercial salt pan environment was subjected to variations in abiotic factors owing to the different stages of salt production within a short period of time, leaving patches in soils with different properties that can be influenced by the rhizobacterial community of these plants. To the best of our knowledge, this is the first study to analyze the bacteriome of the halophyte *Blutaparon* using next-generation sequencing.

Rhizosphere bacteria participate in various biochemical processes in saline soils (WANG et al., 2023), and different core and keystone taxa indicate that different soil functions and interactions occur in the halophyte rhizosphere (QIU et al., 2022). The rhizosphere communities of halophytic plant species are rare, and the influence of interactions between bacteria and plants could provide a better understanding of bacterial ecology and how bacteria promote halophyte adaptation to saline conditions. Halophytes play an important role in protecting eco- systems owing to their remediation abilities (ETESAMI; BEATTIE, 2018). Knowledge of the associated microbiome could facilitate strategies for plant protection and remediation of saline soils (ETESAMI; BEATTIE, 2018).

4.7 CONCLUSIONS

In summary, this study showed that bacterial communities in the rhizosphere of halophyte plants are influenced by environmental variables such as chemical properties. The bacterial communities from the halophyte rhizospheres shared similar bacterial phyla, such as Proteobacteria, Actinobacteria, and Acidobacteria, with different compositions. Different bacterial classes are core members and are key to community function in the rhizospheres of halophytes. The taxa reported in this study are bacteria involved in biogeochemical processes and plant growth promotion. The study of the rhizosphere of halophyte plants from different saline environments is an important tool for understanding plant-rhizosphere-microorganism relationships.

5. CAPÍTULO III

BIOPROSPECÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS PROVENIENTES DE PLANTAS HALÓFITAS PRODUTORAS DE ACC DEAMINASE

5.1 RESUMO

A salinidade é um dos principais fatores que podem impactar a produtividade agrícola, reduzindo ou limitando o crescimento vegetal da maioria das culturas. A rizosfera das plantas halófitas podem ser ambientes promissores na seleção de bactérias promotoras de crescimento vegetal, principalmente relacionados a mecanismos de adaptação a condições de estresse. Dessa forma, este trabalho teve como hipótese que a rizosfera de plantas halófitas representa um ambiente promissor para o isolamento de bactérias produtoras de ACC deaminase. Assim, o objetivo foi caracterizar e selecionar isolados bacterianos com atividade de ACC deaminase. Foram selecionados 105 isolados pertencentes as classes Gammaproteobacteria, Bacilli e Alphaproteobacteria provenientes de plantas halófitas. A caracterização dos isolados quanto à atividade da ACC deaminase foi realizada com base em sua capacidade de crescer em meios sólido e líquido contendo ACC como única fonte de nitrogênio. Apenas 7,61% (8/105) dos isolados apresentaram crescimento em meio sólido e em meio líquido, indicando a possível capacidade de produzir ACC deaminase. Observou-se que isolados bacterianos não halofílicos, halotolerantes e halofílicos foram capazes de crescer em meios contendo ACC. Entre os halotolerantes, destacaram-se representantes dos gêneros *Bacillus* e *Enterobacter*. Já os isolados halofílicos pertencem aos gêneros *Kushneria* e *Salinicola*, enquanto o isolado não halofílico foi identificado como *Ochrobactrum* sp. Os resultados demonstram que as bactérias rizoféricas têm possível potencial para atividade da ACC deaminase, indicando que a rizosfera de plantas halófitas pode ser um ambiente promissor para o isolamento de bactérias capazes de produzir ACC deaminase.

Palavra-chave: Salinidade. Promoção de crescimento vegetal. Bactérias halotolerantes. Bactérias halofílicas.

5.2 ABSTRACT

Salinity is one of the major limiting factors for agricultural productivity, reducing or constraining the growth and development of most crops. The rhizosphere of halophytic plants represents a promising environment for the selection of plant growth-promoting bacteria, particularly those associated with mechanisms of adaptation to stress conditions. Thus, the hypothesis of this study was that the rhizosphere of halophytes constitutes a favorable environment for the isolation of ACC deaminase-producing bacteria. The objective was to characterize and select bacterial isolates with ACC deaminase activity, with potential to mitigate the effects of salt stress in plants. A total of 105 bacterial isolates belonging to the classes Gammaproteobacteria, Bacilli, and Alphaproteobacteria were obtained from the rhizosphere of halophytic plants. ACC deaminase activity was assessed based on their ability to grow in solid and liquid media containing ACC as the sole nitrogen source. Only 7.61% (8/105) of the isolates exhibited growth in both media, suggesting potential ACC deaminase production. It was observed that non-halophilic, halotolerant, and halophilic bacterial isolates were able to grow in media containing ACC. Among the halotolerant isolates, representatives of the genera *Bacillus* and *Enterobacter* were identified. The halophilic isolates belonged to the genera *Kushneria* and *Salinicola*, whereas the non-halophilic isolate was identified as *Ochrobactrum* sp. The results demonstrate that rhizospheric bacteria have potential ACC deaminase activity, indicating that the rhizosphere of halophytic plants may represent a promising environment for the isolation of ACC deaminase-producing bacteria.

Keywords: Salinity. Plant growth promotion. Halotolerant bacteria. Halophilic bacteria.

5.3 INTRODUÇÃO

A salinidade é um dos principais fatores abióticos que podem afetar negativamente a produtividade em áreas agrícolas (LAMZ-PIEDRA; GONZÁLEZ-CEPERO, 2013). A salinização dos solos atinge mais de 840 milhões de ha em áreas agrícolas, tornando-as improdutivas e causa perda de 1,5 milhões de ha por ano de área agricultável (FAO; ICBA, 2023). Altas concentrações de sais inibe, para a maioria das espécies agrícolas, o crescimento e desenvolvimento vegetal (FLOWERS; COLMER, 2008). A manipulação de plantas é eficaz na atenuação do estresse salino, no entanto, são processos demorados e trabalhosos (OROZCO-MOSQUEDA et al., 2020). O uso de microrganismos benéficos conhecidos como promotores de crescimento vegetal pode ser uma técnica alternativa promissora na redução do estresse salino (NUMAN et al., 2018; SANTOYO et al., 2018).

Os microrganismos promotores de crescimento vegetal são encontrados principalmente na rizosfera. nesse micro-habitat há maior disponibilidade de nutrientes devido ao contato direto com as raízes das plantas (OROZCO-MOSQUEDA et al., 2020). A salinidade é um fator importante na modificação da estrutura da comunidade microbiana, que por sua vez, impacta diversos processos de interação microrganismos-solo-planta (CLERGUE et al., 2005). O estresse salino favorece microrganismos tolerantes a condição de alta concentrações de sais, classificados como halotolerantes e halofílicos (OROZCO-MOSQUEDA et al., 2020). Estudos em condições salinas isolaram bactérias promotoras de crescimento vegetal produtoras de ACC deaminase, amônia e AIA, e com a capacidade de solubilizar Zn^{+2} and PO_4^{-3} (YAISH et al. 2016^a; YAISH et al. 2016b).

As altas concentrações de sais causam uma série de respostas fisiológicas das plantas (FORNI et al., 2017). Em geral, em condições de alta salinidade ocorre um aumento da produção do etileno conhecido como “hormônio do estresse” (GLICK, 2004; ARSHAD et al., 2008). À medida que o nível de etileno aumenta nos tecidos vegetais desencadeia diversos processos que leva ao amarelecimento das folhas, senescências de órgãos, abscisão das folhas, pétalas e flores, assim como a morte prematura (ZAHIR et al., 2009). A síntese do etileno começa com a produção de S-adenosil-L-metionina (SAME) que é convertido em ACC pela enzima ACC sintase. Finalmente, a ACC é convertida em etileno pela enzima ACC oxidase (OROZCO-MOSQUEDA et al., 2020). Portanto, como a ACC é precursora direta do etileno, bactérias que produzem a enzima ACC deaminase podem reduzir a síntese de etileno nos tecidos vegetais, metabolizando ACC em α -cetobutirato e amônia (ETESAMI; BEATTIE, 2018). Estudos apontam que plantas inoculadas com bactérias promotoras de crescimento produtoras de ACC deaminase apresentaram raízes com maior extensão atribuídos a redução da produção, consequentemente aumentando a tolerância ao estresse salino (GLICK et al., 2007; ZAHIR et al., 2009; NADEEM et al., 2010; BARNAWAL et al., 2012; ETESAMI; BEATTIE, 2017).

As plantas halófitas habitam naturalmente ambientes salinos e toleram altas concentrações de sais (FLOWERS; COLMER, 2008). Estas plantas apresentam diversos potenciais biotecnológicos, incluindo o uso como fonte para o isolamento de microrganismos promotores de crescimento vegetal (ETESAMI; BEATTIE, 2018). Estudos demonstraram que bactérias promotoras de crescimento vegetal associados a plantas halófitas podem reduzir os níveis de etileno e mitigar os efeitos do estresse salino em culturas agrícolas (EL-TARABILY; YOUSSEF, 2010; SIDDIKEE et al., 2011). Dessa forma, a hipótese do presente trabalho foi de que a rizosfera de plantas halófitas é um ambiente promissor para o isolamento de bactérias produtoras de ACC deaminase, e o objetivo foi avaliar qualitativamente a atividade da ACC deaminase em isolados bacterianos isolados da rizosfera de plantas halófitas provenientes de diferentes ambientes salino.

5.4 MATERIAL E MÉTODOS

5.4.1 Origem dos isolados

O estudo foi realizado com isolados bacterianos provenientes de rizosfera de plantas halófitas de diferentes ambientes salinos no estado do Rio de Janeiro, Brasil. O isolamento e realizado por Xavier (2021). Os isolados foram classificados de acordo com a resposta a salinidade em não halofílicos (0,5% de NaCl), halotolerantes (0,5% - 20% de NaCl) e halofílicos (5% - 20% de NaCl). As bactérias isoladas foram identificadas através de técnica proteômica MALDI TOF-MS (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time Of Flight/ Mass Spectrometry).

Foram selecionados 105 isolados bacterianos pertencentes as classes mais abundantes, Gammaproteobacteria (48%), Bacilli (28%), Alphaproteobacteria (16%) e Actinobacteria (8%) (Figura 18, Anexo 2 - Tabela 1), distribuídos em diferentes gêneros, sendo 23 isolados de *Pseudomonas* (Gammaproteobacteria), 12 isolados de *Enterobacter* (classe: Gammaproteobacteria), 3 isolados de *Halomonas* (classe: Gammaproteobacteria), 5 isolados de *Salinicola* (Gammaproteobacteria), 4 isolados de *Kushneria* (Gammaproteobacteria), 29 isolados de *Bacillus* (classe: Bacilli), 2 isolados de *Halobacillus* (classe: Bacilli), 1 isolado de *Oceanobacillus* (classe: Bacilli) e 26 isolados de *Ochrobactrum* (classe: Alphaproteobacteria).

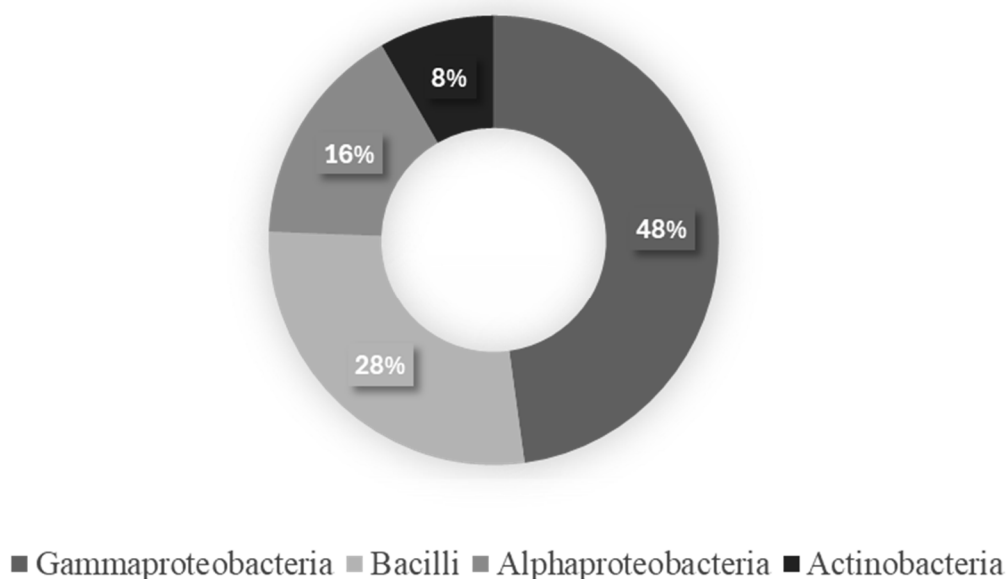


Figura 18. Classes mais abundantes de bactérias rizosféricas cultiváveis provenientes da rizosfera de plantas halófitas.

5.4.2 Avaliação da atividade da ACC deaminase – Método qualitativo

O método qualitativo adaptado de Penrose e Glick (2003), e se baseia no fato de que as bactérias produtoras de ACC deaminase podem crescer utilizando ACC como fonte de nitrogênio. Esta metodologia é mais utilizada para fazer a seleção de bactérias com potencial na produção de ACC deaminase. Como controle positivo foi usado a cepa de *Herbaspirillum* sp. BR11790 (ROTHBALLER et al., 2008), gentilmente cedida pelo Centro de Recursos Biológicos Johanna Döbereiner, da Embrapa Agrobiologia.

Os isolados foram inicialmente cultivados em caldo triptona de soja (Tryptona 17,0 g. L⁻¹; digestão papaica de farinha de soja 3,0 g. L⁻¹; glicose 2,5 g. L⁻¹; fosfato dipotássico: 2,5 g.

L⁻¹; cloreto de sódio: 5,0 g. L⁻¹) e incubados à 30°C por 24 h. Após esse período, as células foram recolhidas por centrifugação a 5.000 ×g durante 10 minutos a 4°C. Para suspensão bacteriana, o sedimento bacteriano foi lavado duas vezes com 5 mL de Tris-HCl 0,1 M (pH 7,6) e ressuspenso em 1 mL de Tris-HCl 0,1 M (pH 7,6).

Uma solução estoque de ACC 0,5 M (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, EUA) foi preparada com água ultrapura e esterilizada em membrana de 0,22 µm, e foi congelada a -20°C até o momento do uso. No momento do uso, a solução 3 mM de ACC foi espalhada na superfície no meio de cultura solidificado com o auxílio de uma alça de Drigalsky (PENROSE; GLICK, 2003). Alíquotas de 5 µL de cada suspensão bacteriana foi semeada em pontos equidistantes em meio DF (DWORKIN; FOSTER, 1958) sólido modificado (glicose 2,0 g. L⁻¹; ácido cítrico 2,0 g. L⁻¹; KH₂PO₄ 4,0 g. L⁻¹; Na₂HPO₄ 6,0 g. L⁻¹; MgSO₄.7H₂O 0,2 g. L⁻¹). Para comparar com a fonte de ACC foi utilizado o meio DF sem fonte de nitrogênio e com 0,2% de (NH₄)₂SO₄ (sulfato de amônio) como fonte de nitrogênio. As placas foram então incubadas a 30°C durante 48 a 60 horas. Para a análise em meio líquido, os isolados foram cultivados em 5 mL meio DF modificado com a adição de 3 mM de ACC. O crescimento bacteriano foi quantificado por meio da leitura da densidade óptica (DO) das culturas em espectrofotômetro a 500 nm, permitindo a estimativa da biomassa celular. Para o controle negativo, foi utilizado meio DF sem fonte de nitrogênio.

5.5 RESULTADOS

Todos os isolados cresceram em meio de cultura DF contendo sulfato de amônio como fonte de nitrogênio (Figura 19a). Em meio sem fonte de N, os isolados apresentaram ligeiro crescimento bacteriano devido ao resíduo de N presente nas próprias células bacterianas (Figura 19b). Entretanto, com a adição da enzima ACC, além do controle positivo *Herbaspirillum* sp. (BR11790), treze isolados (SS2, SS80, SS137, SS145, SS51, SS215, SS211, SS34, SS102, SS58, SS245, SS286 e SS150) apresentara crescimento bacteriano considerável (Figura 19c).

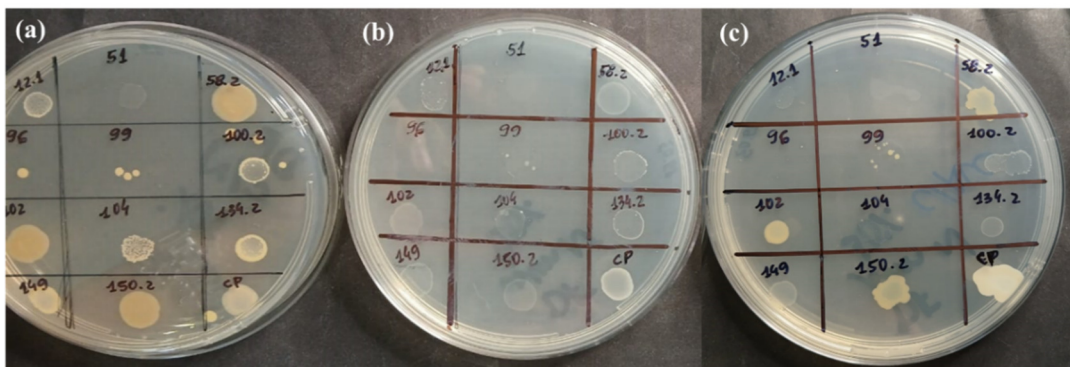


Figura 19. Placas de Petri contendo meio de cultura DF suplementado com (a) sulfato de amônio como fonte de nitrogênio, (b) sem fonte de nitrogênio e (c) ACC 3 mM como fonte de nitrogênio e isolado SS58, SS102 e SS150.

Observou-se que em meio líquido suplementado com ACC, os isolados positivos apresentaram crescimento considerável, evidenciado pela turbidez do meio líquido (Figura 20), enquanto o controle negativo, em que não foi adicionado nenhuma fonte de nitrogênio, não apresentou nenhum crescimento (Figura 20). Dentre os 13 isolados que cresceram no meio sólido com ACC, oito deles cresceram em meio líquido confirmando a capacidade de utilizar ACC como fonte de nitrogênio. Os isolados que cresceram em meio sólido e líquido pertencem três ao gênero *Bacillus* (SS80, SS137 e SS215), um ao gênero *Ochrobactrum* (SS286), um ao gênero *Enterobacter* (SS183), dois ao gênero *Kushneria* (SS58 e SS102), e um ao gênero *Salinicola* (SS150) (Tabela 7). A maioria dos isolados que cresceram em meios com ACC foram caracterizados como halotolerantes e halofílicos (Tabela 7).

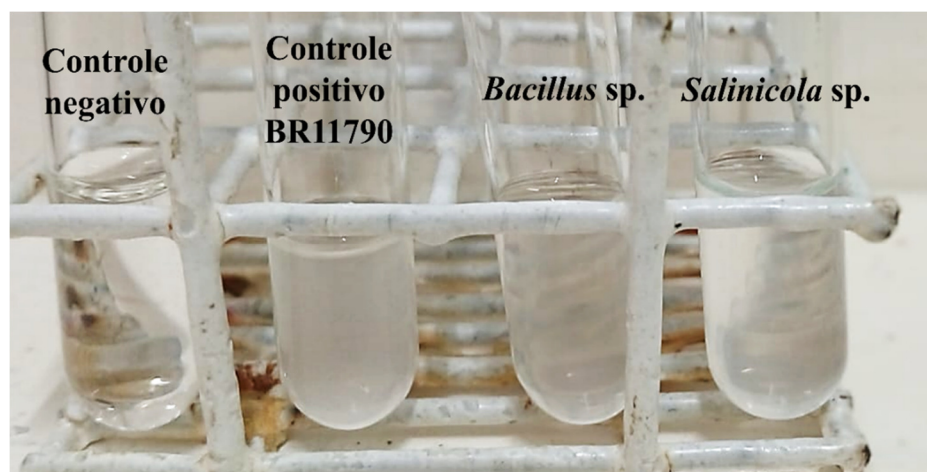


Figura 20. Tubos de ensaio contendo meio de cultura líquido DF. Controle negativo: BR 11790 sem suplementação de nitrogênio; Controle positivo: BR11790 com suplementação de ACC como fonte de nitrogênio; *Bacillus* sp. e *Salinicola* sp.: isolados que apresentaram crescimento com suplementação de ACC.

Tabela 7. Descrição dos isolados bacterianos que cresceram em meio sólido com ACC como fonte de nitrogênio.

Isolado	Gênero identificado	Planta	Classificação quanto a salinidade	Análise qualitativo	
				Meio sólido	Meio líquido
SS2	<i>Bacillus</i>	<i>Sporobolus virginicus</i>	Não halofílico	Positivo	Negativo
SS80	<i>Bacillus</i>	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	Positivo	Positivo
SS137	<i>Bacillus</i>	<i>Blutaparon portulacoides</i>	Não halofílico	Positivo	Positivo
SS215	<i>Bacillus</i>	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	Positivo	Positivo
SS145	<i>Bacillus</i>	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	Positivo	Negativo
SS51	<i>Oceanobacillus</i>	<i>Cyperus ligularis</i>	Halotolerante	Positivo	Negativo
SS211	<i>Enterobacter</i>	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	Positivo	Negativo
SS183	<i>Enterobacter</i>	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	Positivo	Positivo
SS34	<i>Enterobacter</i>	<i>Cyperus ligularis</i>	Halotolerante	Positivo	Negativo
SS102	<i>Kushneria</i>	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halofílico	Positivo	Positivo
SS58	<i>Kushneria</i>	<i>Cyperus ligularis</i>	Halofílico	Positivo	Positivo
SS245	<i>Ochrobactrum</i>	<i>Salicornia fruticosa</i>	Não halofílico	Positivo	Negativo
SS286	<i>Ochrobactrum</i>	<i>Salicornia fruticosa</i>	Não halofílico	Positivo	Positivo
SS150	<i>Salinicola</i>	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halofílico	Positivo	Positivo
BR 11790*	<i>Herbaspirillum</i>	-	Não halofílico	Positivo	Positivo

* Controle positivo.

5.6 DISCUSSÃO

Microambientes como a rizosfera constituem um ambiente promissor para o isolamento e caracterização de rizobactérias com atividades benéficas (DEL CARMEN OROZCO-MOSQUEDA et al., 2020). As plantas halófitas são altamente adaptadas às condições salinas e apresentam diversos mecanismos de tolerância às altas concentrações de sal (ETESAMI; BEATTIE, 2018). A capacidade de estabelecer e manter associações com microrganismos benéficos são fundamentais para o sucesso adaptativo dessas plantas (ETESAMI; BEATTIE, 2018). Os resultados demonstraram que 7,61% dos isolados bacterianos apresentaram a capacidade de utilizar ACC como fonte de nitrogênio em meio sólido e líquido, indicando possível atividade da enzima ACC deaminase. A atividade enzimática da ACC deaminase de rizobactérias provenientes de plantas halófitas constitui um dos principais atributos responsáveis por contribuir para a tolerância ao estresse vegetal, tanto em condições ideais quanto sob situações adversas (CHANDRA et al., 2018).

Os solos salinos abrigam uma elevada diversidade microbiana adaptada a ambientes hipersalinos, composta principalmente por organismos classificados como halotolerantes e halofílicos (KHUMAIRAH et al., 2022). Dentre os isolados que cresceram em meio contendo ACC, podem ser observados a proeminência de isolados classificados como halotolerantes e halofílicos. Os microrganismos halotolerantes apresentam a capacidade de crescer em condições com ou sem a presença de sais, enquanto microrganismos halofílicos possuem exigência obrigatória por elevadas concentrações salinas para seu adequado desenvolvimento (MARGESIN; SCHINNER, 2001). Esses microrganismos apresentam diversas estratégias de sobrevivência que, simultaneamente, auxiliam suas plantas hospedeiras no desenvolvimento e na adaptação às condições salinas (ETESAMI; BEATTIE, 2018).

A capacidade de produzir a enzima ACC deaminase encontra-se amplamente distribuídas em diferentes grupos de bactérias (ETESAMI; BEATTIE, 2018). Os resultados demonstraram isolados halotolerantes do gênero *Bacillus* com a capacidade de crescer em meio contendo ACC. Em ambientes salinos, membros do filo Firmicutes como espécies halotolerantes de *Bacillus* apresentam elevada abundância (LISZKA et al., 2012). Diversos estudos relatam que espécies de *Bacillus* com atividade de ACC deaminase são capazes de promover ganhos significativos nos parâmetros de crescimento de diferentes plantas cultivadas expostas a estresses abióticos (BARNAWAL et al., 2013; TIWARI et al., 2018; DANISH; ZAFAR-UL-HYE, 2019). Observou-se que um isolado halotolerante pertencente ao gênero *Enterobacter* apresentou capacidade de crescimento em meios suplementados com ACC. Espécies do gênero *Enterobacter* são frequentemente associadas à rizosfera, e podem influenciar o crescimento vegetal por diferentes mecanismos incluindo promoção de crescimento vegetal e tolerância a estresses (ORTEGA-ORTEGA et al., 2024). A atividade da ACC deaminase é comumente relatada em membros halotolerantes do gênero *Enterobacter* (KIM et al., 2014; HABIB et al., 2016; SARKAR et al., 2018).

Observou-se que os gêneros *Kushneria* e *Salinicola* apresentaram isolados com capacidade de crescer em meios contendo ACC como fonte de nitrogênio, indicando o potencial dessas bactérias na atividade da ACC deaminase. Esses gêneros pertencem à família Halomonadaceae, e corresponde a um grupo bacteriano halofílico adaptado a ambientes com altas concentrações de sal (ANAN'INA et al., 2007; SÁNCHEZ-PORRO et al., 2009). Embora diversos estudos tenham demonstrado que cepas de *Kushneria* e *Salinicola* associados a rizosfera de plantas halófitas promovam o crescimento vegetal, há poucos relatos de membros com atividade da ACC deaminase (MEINZER et al., 2023; NGUYEN et al., 2023).

O solo constitui um ambiente altamente heterogêneo, no qual a salinidade pode variar espacial e temporalmente, resultando na formação de micro-habitats distintos (VENTOSA et al., 2007). Dessa forma, embora em menor abundância, microrganismos não halofílicos também podem ser detectados em ambientes salinos (VENTOSA et al., 2007). O gênero *Ochrobactrum* é frequentemente encontrado na rizosfera de plantas, onde tem sido associado ao potencial de fitorremediação e promoção do crescimento vegetal (LEBUHN et al., 2000; PANDEY et al., 2013). Os resultados demonstraram um isolado não halófilico pertencente ao gênero *Ochrobactrum* com a capacidade de crescer em meios contendo ACC. Esse gênero foi previamente relatado como promissor na atividade da ACC deaminase (BAL et al., 2013).

A metodologia de isolamento e caracterização da atividade da ACC deaminase em bactérias é bem estabelecida (PENROSE; GLICK, 2003). A primeira fase para a seleção de cepas bacterianas é o uso de meios de cultura que favoreçam o crescimento de bactérias em meios com ACC como fonte de N (PENROSE; GLICK, 2003). O isolamento de bactérias geralmente resulta em uma elevada densidade de cepas, refletindo a diversidade microbiana presente nos diferentes ambientes (PENROSE; GLICK, 2003). Nesse contexto, o uso de metodologias qualitativas baseadas em meios de cultura continua sendo amplamente empregado e efetivo para a triagem inicial de microrganismos com potencial de interesse, permitindo a seleção de isolados que posteriormente podem ser submetidos a análises moleculares e funcionais mais detalhadas (PENROSE; GLICK, 2003; QIN et al., 2016). Os resultados indicam que o uso de meios com ACC como fonte de nitrogênio podem ser efetivos na triagem inicial de isolados com potencial para a atividade da ACC deaminase. No entanto, para confirmar a eficiência desses isolados, recomenda-se a realização de análises quantitativas que permitam mensurar a atividade enzimática, bem como de análises moleculares capazes de identificar os genes responsáveis pela codificação da enzima. E, posteriormente, a condução de ensaios em casa de vegetação e em condições de campo é essencial para confirmar o potencial dos isolados na promoção do crescimento vegetal.

5.7 CONCLUSÕES

Isolados pertencentes aos gêneros *Bacillus*, *Kushneria*, *Salinicola*, *Enterobacter* e *Ochrobactrum* demonstraram crescimento em meios contendo ACC como fonte de nitrogênio, sendo a maioria caracterizada como bactérias halotolerantes ou halofílicas. Esses resultados sugerem que a rizosfera de halófitas constitui um ambiente promissor para o isolamento de microrganismos com potencial para produção de ACC deaminase, contribuindo para estratégias de promoção do crescimento vegetal em condições salinas. No entanto, os resultados representam uma triagem inicial de potenciais isolados, é necessário a realização de análises posteriores para confirmar a capacidade de produzir ACC deaminase e promover o crescimento vegetal.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os ambientes costeiros desempenham um papel fundamental, promovendo diversos serviços ecossistêmicos essenciais e atuando como importantes centros econômicos no Brasil. Adicionalmente, esses ecossistemas possuem grande relevância para a regulação climática. Em solos de ambientes costeiros do Rio de Janeiro, o excesso hídrico (alagamento) e a salinidade são características edáficas marcantes, que influenciam diretamente o potencial produtivo e a complexidade do manejo do solo. Portanto, a compreensão aprofundada das interações e das alterações dessas propriedades é essencial para subsidiar a adoção de práticas de manejo e conservação adequadas a esses ambientes sensíveis.

Nesse contexto, o trabalho evidenciou que o manejo agrícola em Organossolo Tiomórfico refletiu em alterações nas propriedades químicas e biológicas. A redução dos teores de carbono e o aumento da acidez são importantes indicadores de que esse solo pode estar em processo de subsidência. O uso de práticas agrícolas como a drenagem e o revolvimento do solo são os principais fatores responsáveis pela perda de matéria orgânica e consequentemente pela acidificação em Organossolos. A redução nos teores de carbono e a acidificação do solo podem estar envolvidos com as alterações das comunidades bacterianas e com a redução da atividade enzimática em Organossolos Tiomórficos cultivados. Apesar de sua fragilidade, os Organossolos se bem manejados podem oferecer potencial para produção agrícola. Dessa forma, o presente trabalho ressalta a necessidade da adoção de práticas sustentáveis de manejo dos Organossolos que aumentam a produtividade e contribuam para a manutenção da matéria orgânica e da biodiversidade do solo.

Verificou-se também que a rizosfera de plantas halófitas abrigam comunidades microbianas complexas e específicas, influenciadas principalmente pelas propriedades químicas do solo. As plantas compartilham membros bacterianos específicos indicando estratégias comuns de adaptação das halófitas em diferentes ambientes salinos. Esse estudo contribui para compreender as relações solo-planta-microrganismos em ambientes limitantes. Adicionalmente, a identificação de isolados bacterianos com potencial para a produção da enzima ACC deaminase evidencia que a rizosfera de plantas halófitas representa um nicho ecológico promissor para o isolamento de microrganismos promotores de crescimento vegetal, com capacidade de mitigar os efeitos do estresse ambiental.

De forma integrada, o trabalho ressalta que as propriedades químicas do solo são atributos que influenciam suas variáveis biológicas, principalmente a comunidade bacteriana dos solos. O estudo das propriedades de solos costeiros está alinhado com os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da ONU como: 1) ODS 2 – Fome Zero e Agricultura Sustentável: relaciona-se ao potencial produtivo dos Organossolos e ao uso de práticas agrícolas sustentáveis garantir segurança alimentar; e com o uso de microrganismos benéficos; 2) ODS 12 – Consumo e Produção Responsáveis: está conectado com a necessidade de adoção de práticas de manejo sustentável, evitando a degradação como o uso de microrganismos benéficos; 3) ODS 13 – Ação contra a Mudança Global do Clima: a perda de carbono do solo e a subsidência estão ligadas às emissões de gases de efeito estufa, reforçando a importância da conservação dos Organossolos; 4) ODS 15 – Vida Terrestre: está relacionado a conservação da biodiversidade dos Organossolos e dos solos salinos (comunidades microbianas, enzimas, interações planta–solo–microrganismos).

Apesar das contribuições importantes demonstradas, este estudo apresenta algumas limitações. O avanço das tecnologias de sequenciamento de nova geração (NGS) permite avaliar o panorama das comunidades bacterianas e suas interações com fatores ambientais que são possíveis de avaliar. No entanto, esse método ainda não é capaz de representar de maneira adequada a complexidade das interações que ocorrem entre os organismos e o ecossistema. Apesar de fornecer informações consistentes sobre a composição taxonômica, ele não permite

inferir diretamente a funcionalidade ecológica ou a atividade efetiva desses microrganismos no ambiente. A bioprospecção de microrganismos para promoção do crescimento vegetal é um processo longo e complexo. A triagem inicial de isolados em meios seletivos identifica cepas promissoras, mas não garante sua eficácia, sendo necessários testes subsequentes para confirmar o potencial de promoção de crescimento. Dessa forma, a caracterização dos isolados para produção da enzima ACC deaminase ainda demanda estudos complementares que confirmem a atividade da enzima e comprovem o seu potencial na promoção de crescimento vegetal.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBAS, A.; KHAN, S.; HUSSAIN, N.; HANJRA, M. A.; AKBAR, S. Characterizing soil salinity in irrigated agriculture using a remote sensing approach. **Physics and chemistry of the Earth**, Parts A/B/C, n. 55, p. 43-52, 2013.
- ABREU, C. T. Brazilian coastal and marine protected areas importance, current status and recommendations. **Division for Ocean Affairs and the Law of the Sea**, Office of Legal Affairs, The United Nations, New York, 2015.
- AGLER, M. T.; RUHE, J.; KROLL, S.; MORHENN, C.; KIM, S. T.; WEIGEL, D. Microbial hub taxa link host and abiotic factors to plant microbiome variation. **PLoS Biol.**, v. 14, p.1002352, 2016.
- AHMAD, P.; SHARMA, S. Salt stress and phyto-biochemical responses of plants. **Plant Soil Environ.**, v. 54, n. 3, p. 89–99, 2008.
- AKYOL, T. Y.; SATO, S.; TURKAN, I. Deploying root microbiome of halophytes to improve salinity tolerance of crops. **Plant Biotechnology Reports**, v. 14, p. 143–150, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11816-020-00594-w>.
- ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; DE MORAES GONÇALVES, J. L.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, p. 711–728, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>.
- ANAN'INA, L. N.; PLOTNIKOVA, E. G.; GAVRISH, E. I.; DEMAPOV, V. A.; EVTUSHENKO, L. I. *Salinicola socius* gen. nov., sp. nov., a moderately halophilic bacterium from a naphthalene-utilizing microbial association. **Microbiology**, v. 76, p. 369–376, 2007.
- ARSHAD, M.; FRANKENBERGER JR, W. T. **Ethylene: agricultural resources and applications**. Springer science & Business media. (Eds.). (2002).
- ARSHAD, M.; SHAHAROONA, B.; MAHMOOD, T. Inoculation with *Pseudomonas* spp. containing ACC-deaminase partially eliminates the effects of drought stress on growth, yield, and ripening of pea (*Pisum sativum* L.). **Pedosphere**, v. 18, n. 5, p. 611–620, 2008.
- ASTUDILLO-GARCÍA, C.; BELL, J. J.; WEBSTER, N. S.; GLASL, B.; JOMPA, J.; MONTROYA, J. M.; TAYLOR, M. W. Evaluating the core microbiota in complex communities: a systematic investigation. **Environmental Microbiology**, v. 19, p. 1450–1462, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13647>.
- BAI, Z.; JIA, A.; LI, H.; WANG, M.; QU, S. Explore the soil factors driving soil microbial community and structure in Songnen alkaline salt degraded grassland. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, article 1110685, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1110685>.
- BALBI, S.; DEL PRADO, A.; GALLEJONES, P.; GEEVAN, C. P.; PARDO, G.; PEREZ-MINANA, E.; MANRIQUE, R.; HERNANDEZ-SANTIAGO, C.; VILLA, F. Modelling trade-offs among ecosystem services in agricultural production systems. **Environmental Modelling & Software**, v. 72, p. 314-326, 2015.
- BARNAWAL, D.; BHARTI, N.; MAJI, D.; CHANOTIYA, C.S.; KALRA, A. ACC deaminase containing *Arthrobacter protophormiae* induces NaCl stress tolerance through reduced ACC

oxidase activity and ethylene production resulting in improved nodulation and mycorrhization in *Pisum sativum*. **J. Plant Physiol.**, v.171, n.11, p. 884–894, 2014.

BASTIAN, M.; HEYMANN, S.; JACOMY, M. Gephi: An open source software for exploring and manipulating networks. **Proceedings of the International AAAI Conference on Web and Social Media**, v. 3, p. 361–362, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1609/icwsm.v3i1.13937>.

BECK, J. J.; GIVNISH, T. J. Fine-scale environmental heterogeneity and spatial niche partitioning among spring-flowering forest herbs. **American Journal of Botany**, v. 108, p. 63–73, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1002/ajb2.1593>.

BEHERA, P.; MOHAPATRA, M.; KIM, J. Y.; ADHYA, T. K.; PATTNAIK, A. K.; RASTOGI, G. Spatial and temporal heterogeneity in the structure and function of sediment bacterial communities of a tropical mangrove forest. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, p. 3893–3908, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3927-5>.

BELL, C. W.; ASAO, S.; CALDERON, F.; WOLK, B.; WALLENSTEIN, M. D. Plant nitrogen uptake drives rhizosphere bacterial community assembly during plant growth. **Soil Biol. Biochem.**, v. 85, p.170–182, 2015.

BENJAMINI, Y.; HOCHBERG, Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. **Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)**, v. 57, n. 1, p. 289–300, 1995. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.X>.

BENNETT, E. M.; PETERSON, G. D.; GORDON, L. J. Understanding relationships among multiple ecosystem services. **Ecology Letters**, v. 12, n. 12, p. 1394–1404, 2009.

BERG, G. Plant–microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. **Appl. Microbiol. Biot.**, v. 84, p. 11–18, 2009.

BLOIUN, M.; HODGSON, M. E.; DELGADO, E. A.; BAKER, G.; BRUSSARD, L.; BUTT, K. R.; DAI, J.; DENDOOVEN, L.; PERES, G.; TONDOH, J. E.; BRUN, J. J. A review of earthworm impacts on soil function and ecosystem services. **European Journal of Soil Science**, v. 64, p. 161–182, 2013.

BLUM, W. E. Functions of soil for society and the environment. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 4, p. 75–79, 2005.

BOUJELBEN, I.; GOMARIZ, M.; MARTÍNEZ-GARCÍA, M.; SANTOS, F.; PEÑA, A.; LÓPEZ, C.; MAALEJ, S. Spatial and seasonal prokaryotic community dynamics in ponds of increasing salinity of Sfax solar saltern in Tunisia. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 101, p. 845–857, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10482-012-9701-7>.

BURNS, A.; STEPHENS, W.; STAGAMAN, K.; WONG, S.; RAWLS, J. F.; GUILLEMIN, K.; BOHANNAN, B. J. Contribution of neutral processes to the assembly of gut microbial communities in the zebrafish over host development. **ISME Journal**, v. 10, p. 655–664, 2016a. DOI: <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.142>.

BURNS, F.; EATON, M. A.; BARLOW, K. E.; BECKMANN, B. C.; BRERETON, T.; BROOKS, D. R.; GREGORY, R. D. Agricultural management and climatic change are the

major drivers of biodiversity change in the UK. **PLoS One**, v. 11, n. 3, e0151595, 2016b. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151595>.

CALLAHAN, B. J.; MCMURDIE, P. J.; ROSEN, M. J.; HAN, A. W.; JOHNSON, A. J. A.; HOLMES, S. P. DADA2: high-resolution sample inference from Illumina amplicon data. **Nature Methods**, v. 13, n. 7, p. 581–583, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>.

CANFORA, L.; BACCI, G.; PINZARI, F.; LO PAPA, G.; DAZZI, C.; BENEDETTI, A. Salinity and bacterial diversity: to what extent does the concentration of salt affect the bacterial community in a saline soil? **PLoS One**, v. 9, n. 9, e106662, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0106662>.

CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; RAIJ, B. Determinação da matéria orgânica. In: RAIJ, B.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. (Eds.). **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. IAC, p. 173–180, 2001.

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

CHENG, H.; YUAN, M.; DUAN, Q.; SUN, R.; SHEN, Y.; YU, Q.; LI, S. Influence of phosphorus fertilization patterns on the bacterial community in upland farmland. **Industrial Crops and Products**, v. 155, p. 112761, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112761>.

CLERGUE, B.; AMIAUD, B.; PERVANCON, F.; LASSERRE-JOULIN, F.; PLANTUREUX, S. Biodiversity: function and assessment in agricultural areas: a review. **Sustainable Agriculture**, p. 309-327, 2009.

CROSSLAND, C. J.; BAIRD, D.; DUCROTOY, J. P.; LINDEBOOM, H.; BUDDEMEIER, R. W.; DENNISON, W. C.; ... SWANEY, D. P. The coastal zone—a domain of global interactions. In: **Coastal fluxes in the Anthropocene: the land-ocean interactions in the coastal zone project of the International Geosphere-Biosphere Programme**, p. 1–37. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2005.

DE VRIES, F. T.; GRIFFITHS, R. I.; KNIGHT, C. G.; NICOLITCH, O.; WILLIAMS, A. Harnessing rhizosphere microbiomes for drought-resilient crop production. **Science**, v. 368, p. 270–274, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.aaz5192>.

DEL CARMEN OROZCO-MOSQUEDA, M.; GLICK, B.R.; SANTOYO, G. ACC deaminase in plant growth-promoting bacteria (PGPB): An efficient mechanism to counter salt stress in crops. **Microbiological Research**, v. 235, p. 126439, 2020.

DENG, Q.; ZHANG, T.; XIE, D.; YANG, Y. Rhizosphere microbial communities are significantly affected by optimized phosphorus management in a slope farming system. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 2589, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/FMICB.2021.739844>.

DENNIS, P. G.; MILLER, A. J.; AND HIRSCH, P. R. Are root exudates more important than other sources of rhizodeposits in structuring rhizosphere bacterial communities? **FEMS Microbiol. Ecol.**, v.72, p. 313–327, 2010.

DONG, X.; ZHANG, C.; PENG, Y.; ZHANG, H. X.; SHI, L. D.; WEI, G.; GREENING, C. Phylogenetically and catabolically diverse diazotrophs reside in deep-sea cold seep sediments. **Nature Communications**, v. 13, n. 1, p. 4885, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-022-32503-w>.

DOYTCHINOV, V. V.; DIMOV, S. G. Microbial community composition of the Antarctic ecosystems: review of the bacteria, fungi, and archaea identified through an NGS-based metagenomics approach. **Life**, v. 12, n. 6, p. 916, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/LIFE12060916>.

EBELING, A. G.; ANJOS, L. H. C. D.; PÉREZ, D. V.; PEREIRA, M. G.; NOVOTNY, E. H. Atributos físicos e matéria orgânica de Organossolos Háplicos em distintos ambientes no Brasil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 37, p. 763-774, 2013.

EGOH, B.; ROUGET, M.; REYERS, B.; KNIGHT, A. T.; COWLING, R. M.; VAN JAARSVELD, A. S.; WELZ, A. Integrating ecosystem services into conservation assessments: a review. **Ecological Economics**, v. 63, n. 4, p. 714–721, 2007.

EL-TARABILY, K.A.; YOUSSEF, T. Enhancement of morphological, anatomical and physiological characteristics of seedlings of the mangrove *Avicennia marina* inoculated with a native phosphate-solubilizing isolate of *Oceanobacillus picturae* under greenhouse conditions. **Plant and soil**, v. 332, p. 147-162, 2010.

EMMETT, B. D.; LÉVESQUE-TREMBLAY, V.; HARRISON, M. J. Conserved and reproducible bacterial communities associate with extraradical hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. **ISME Journal**, v. 15, n. 8, p. 2276–2288, 2021.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Manual de métodos de análise de solo. Rio de Janeiro, **Centro Nacional de Pesquisa de Solos**, p. 212, 1997.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3.ed. Brasília, p.353, 2013.

ETESAMI, H.; BEATTIE, G. A. Mining Halophytes for Plant Growth-Promoting Halotolerant Bacteria to Enhance the Salinity Tolerance of Non-halophyte Crops. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, 2018.

FAO, ICBA. Thematic 1: Farmers' guidelines on soil and water management in salt-affected areas. FAO, 2023. <https://doi.org/10.4060/cc4200en>.

FAO. **Global map of salt affected areas**. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2021. <https://www.fao.org/soils-portal/data-hub/soil-maps-and-databases/global-map-of-salt-affected-soils/en/>

FAO; ICBA. Thematic 1: Farmers' Guidelines on Soil and Water Management in Salt-affected Areas. FAO, 2023. DOI: <https://doi.org/10.4060/cc4200en>.

FELIPE-LUCIA, M. R.; SOLIVERES, S.; PENONE, C.; FISCHER, M.; AMMER, C.; BOCH, S.; BOEDDINGHAUS, R. S.; BONKOWSKI, M.; BUSCOT, F.; FIORE-DONNO, A. M.; FRANK, K.; GOLDMANN, K.; GOSSNER, M. M.; HÖLZEL, N.; JOCHUM, M.; KANDELER, E.; KLAUS, V. H.; KLEINEBECKER, T.; LEIMER, S.; MANNING, P.;

ALLAN, E. Land-use intensity alters networks between biodiversity, ecosystem functions, and services. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 117, n. 45, p. 28140–28149, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.2016210117>.

FIERER, N. Embracing the unknown: disentangling the complexities of the soil microbiome. **Nature Reviews Microbiology**, v. 15, n. 10, p. 579–590, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.87>.

FINKELBERG, M. The Discovery of a Novel Bacteria from a Large Co-assembly of Metagenomes (Master's Thesis). University of Massachusetts, Amherst, 2023. DOI: <https://doi.org/10.7275/35954516.0>.

FISCHER, J.; BROSI, B.; DAILY, G. C.; EHRLICH, P. R.; GOLDMAN, R.; GOLDSTEIN, J.; LINDENMAYER, D. B.; MANNING, A. D.; MOONEY, H. A.; PEJCHAR, L.; RANGANATHAN, J.; TALLIS, H. Should agricultural policies encourage land sparing or wildlife-friendly farming? **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 6, n. 7, p. 380–385, 2008.

FLOCH, J. B.; HAMEL, C.; HARKER, K. N.; ST-ARNAUD, M. Fungal communities of the canola rhizosphere: keystone species and substantial between-year variation of the rhizosphere microbiome. **Microbial Ecology**, v. 80, p. 762–777, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00248-019-01475-8>.

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

FORNI, C.; DUCA, D.; GLICK, B.R. Mechanisms of plant response to salt and drought stress and their alteration by rhizobacteria. **Plant and Soil**, v. 410, p. 335–356, 2017.

FU, B.; WANG, S.; SU, C.; FORSIUS, M. Linking ecosystem processes and ecosystem services. **Current Opinion in Environmental Sustainability**, v. 5, n. 1, p. 4–10, 2013.

GAO, J. L.; LUO, Y.; WEI, Y. L.; HUANG, Y. L.; ZHANG, H.; HE, W. L.; SHENG, H. M.; AN, L. Z. Effect of aridity and dune type on rhizosphere soil bacterial communities of *Caragana microphylla* in desert regions of northern China. **PLOS One**, v. 14, e0224195, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0224195>.

GIOVANNETTI, M.; SALVIOLI DI FOSSALUNGA, A.; STRINGLIS, I. A.; PROIETTI, S.; FIORILLI, V. Unearthing soil-plant-microbiota crosstalk: Looking back to move forward. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 1082752, 2023.

GLENN, E. P.; BROWN, J. J.; BLUMWALD, E. Salt tolerance and crop potential of halophytes. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 18, n. 2, p. 227–255, 1999. DOI: <https://doi.org/10.1080/07352689991309207>.

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.

GONZÁLEZ, M. B. Adaptation of halophytes to different habitats. In: JIMENEZ-LOPEZ, J. C. (Ed.), **Seed Dormancy and Germination**. IntechOpen, 2019. DOI: <https://doi.org/10.5772/intechopen.87056>.

GU, S.; HU, Q.; CHENG, Y.; BAI, L.; LIU, Z.; XIAO, W.; GONG, Z.; WU, Y.; FENG, K.; DENG, Y.; TAN, L. Application of organic fertilizer improves microbial community diversity and alters microbial network structure in tea (*Camellia sinensis*) plantation soils. **Soil and Tillage Research**, v. 195, p. 104356, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.still.2019.104356>.

HADDAD, E. A.; ARAÚJO, I. F. Shades of blue: the regional structure of the ocean economy in Brazil. **npj Ocean Sustainability**, v. 4, n. 1, p. 15, 2025.

HAMIDOV, A.; HELMING, K.; BELLOCCHI, G.; BOJAR, W.; DALGAARD, T.; GHALEY, B. B.; ... SCHÖNHART, M. Impacts of climate change adaptation options on soil functions: A review of European case-studies. **Land Degradation & Development**, v. 29, n. 8, p. 2378–2389, 2018.

HATFIELD, J. L.; SAUER, T. J.; CRUSE, R. M. Soil: the forgotten piece of the water, food, energy nexus. **Advances in Agronomy**, v. 143, p. 1–46, 2017.

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.

HERLEMANN, D. P.; LABRENZ, M.; JÜRGENS, K.; BERTILSSON, S.; WANIEK, J. J.; ANDERSSON, A. Transitions in bacterial communities along the 2000 km salinity gradient of the Baltic Sea. **ISME Journal**, v. 5, p. 1571–1579, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.41>.

HOLLISTER, E. B.; ENGLEADOW, A. S.; HAMMETT, A. J. M.; PROVIN, T. L.; WILKINSON, H. H.; GENTRY, T. J. Shifts in microbial community structure along an ecological gradient of hypersaline soils and sediments. **ISME Journal**, v. 4, n. 6, p. 829–838, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1038/ismej.2010.3>.

HOPMANS, J. W.; QURESHI, A. S.; KISEKKA, I.; MUNNS, R.; GRATTAN, S. R.; RENGASAMY, P.; BEN-GAL, A.; ASSOULINE, S.; JAVAUX, M.; MINHAS, P. S.; RAATS, P. A. C.; SKAGGS, T. H.; WANG, G.; DE JONG VAN LIER, Q.; JIAO, H.; LAVADO, R. S.; LAZAROVITCH, N.; LI, B.; TALEISNIK, E. Critical knowledge gaps and research priorities in global soil salinity. **Advances in Agronomy**, v. 169, p. 1–191, 2021.

HOU, Y.; WEI, C.; ZENG, W.; HOU, M.; WANG, Z.; XU, G.; HUANG, J.; AO, C. Application of rhizobacteria to improve microbial community structure and maize (*Zea mays* L.) growth in saline soil. **Environmental Science and Pollution Research International**, v. 31, n. 2, p. 2481–2494, 2024.

ILANGUMARAN, G.; SMITH, D. L. Plant growth promoting rhizobacteria in amelioration of salinity stress: a systems biology perspective. **Frontiers in Plant Science**, n. 8, p. 1768, 2017.

ISSA, A. A.; ABD-ALLA, M. H.; OHYAMA, T. Nitrogen fixing cyanobacteria: future prospect. In: **Advances in Biology and Ecology of Nitrogen Fixation**. 2. ed. BoD–Books on Demand, 2014. p. 23–48. DOI: <https://doi.org/10.5772/56995>.

IVANOVA, A. A.; NAUMOFF, D. G.; MIROSHNIKOV, K. K.; LIESACK, W.; DEDYSH, S. N. Comparative genomics of four *Isosphaeraceae* planctomycetes: a common pool of plasmids and glycoside hydrolase genes shared by *Paludisphaera borealis* PX4T, *Isosphaera pallida*

IS1BT, *Singulisphaera acidiphila* DSM 18658T, and strain SH-PL62. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 412, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00412>.

JAFARI, B.; HANIFEZADEH, M.; PARVIN, M. S. J. Molecular study of bacteria associated with *Salicornia* symbiotic bacteria as a candidate for Hormozgan salty zone culturing by Persian Gulf water irrigation. **Afr J Microbiol Res**, 6, 4687-4695, 2012.

JAVOR, B. J. Industrial microbiology of solar salt production. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 28, p. 42–47, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj/jim/7000173>.

JIAO, S.; WANG, J.; WEI, G.; CHEN, W.; LU, Y. Dominant role of abundant rather than rare bacterial taxa in maintaining agro-soil microbiomes under environmental disturbances. **Chemosphere**, v. 235, p. 248–259, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.06.174>.

JIN, H.; YANG, X.Y.; YAN, Z.Q.; LIU, Q.; LI, X.Z.; CHEN, J.X.; QIN, B. Characterization of rhizosphere and endophytic bacterial communities from leaves, stems and roots of medicinal *Stellera chamaejasme* L. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 37, n. 5, p. 376-385, 2014.

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.

KEARL, J.; MCNARY, C.; LOWMAN, J. S.; MEI, C.; AANDERUD, Z. T.; SMITH, S. T.; WEST, J.; COLTON, E.; HANSON, M.; NIELSEN, B. L. Salt-tolerant halophyte rhizosphere bacteria stimulate growth of alfalfa in salty soil. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 1849, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01849>.

KESWANI C.; PRAKASH, O.; BHARTI, N.; VILCHEZ, J.I.; SANSINENEA, E.; LALLY, R.D.; BORRIS, R.; SINGH, S.P.; GUPTA, V.K.; FRACETO, L.F. Re-addressing the biosafety issues of plant growth promoting rhizobacteria. **Sci Total Environ.**, v. 690, p. 841–852, 2019.

KIM, M.; YOU, S.; CHON, J.; LEE, J. Sustainable land-use planning to improve the coastal resilience of the social-ecological landscape. **Sustainability**, v. 9, n. 7, p. 1086, 2017.

KRAGT, M. E.; ROBERTSON, M. J. Quantifying ecosystem services trade-offs from agricultural practices. **Ecological Economics**, v. 102, p. 147-157, 2014.

KRUSKAL, J. B. On the shortest spanning subtree of a graph and the traveling salesman problem. **Proceedings of the American Mathematical Society**, v. 7, p. 48–50, 1956. DOI: <https://doi.org/10.1090/S0002-9939-1956-0078686-7>.

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.

LAKEVELD, R. P.; LELE, S.; CRANE, T. A.; FORTUIN, K. P. J.; SPRINGATE-BAGINSKI, O. The social distribution of provisioning forest ecosystem services: Evidence and insights from Odisha, India. **Ecosystem Services**, v. 14, p. 56-66, 2015.

LAMZ-PIEDRA, A.; GONZÁLEZ-CEPERO, M.C. La salinidad como problema en la agricultura: la mejora vegetal una solución inmediata. *Cultivos Tropicales* v. 34, n. 4, p. 31–42. 2013.

LI, J.; WANG, C.; LIANG, W.; LIU, S. Rhizosphere Microbiome: The Emerging Barrier in Plant-Pathogen Interactions. *Frontiers in Microbiology*, 12, 772420, 2021.

LING, N.; WANG, T.; KUZYAKOV, Y. Rhizosphere bacteriome structure and functions. *Nature Communications*, v. 13, p. 836, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28448-9>.

LOUCA, S.; PARFREY, L. W.; DOEBELI, M. Decoupling function and taxonomy in the global ocean microbiome. *Science*, v. 353, p. 1272–1277, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.aaf4507>.

LYONS, K. G.; BRIGHAM, C. A.; TRAUT, B. H.; SCHWARTZ, M. W. Rare species and ecosystem functioning. *Conservation Biology*, v. 19, p. 1019-1024, 2005.

MANI, K.; CHANDRASEKARAN, S.; SALGAONKAR, B. B.; MUTNURI, S.; BRAGANÇA, J. M. Comparison of bacterial diversity from solar salterns and a simulated laboratory study. *Annals of Microbiology*, v. 65, p. 995–1005, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13213-014-0944-6>.

MANI, K.; SALGAONKAR, B. B.; DAS, D.; BRAGANÇA, J. M. Community solar salt production in Goa, India. *Aquatic Biosystems*, v. 8, p. 30, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1186/2046-9063-8-30>.

MARASCO, R.; MAPELLI, F.; ROLLI, E.; MOSQUEIRA, M. J.; FUSI, M.; BARISELLI, P.; REDDY, M.; CHERIF, A.; TSIAMIS, G.; BORIN, S.; DAFFONCHIO, D. *Salicornia strobilacea* (synonym of *Halocnemum strobilaceum*) grown under different tidal regimes selects rhizosphere bacteria capable of promoting plant growth. *Frontiers in Microbiology*, v. 7, p. 207112, 2016. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01286>.

MARSHALL, E. P.; HOMANS, F. R. Juggling land retirement objectives on an agricultural landscape: coordination, conflict or compromise? *Ecology and Society*, 2006.

MCMURDIE, P.; HOLMES, S. Phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PloS One*, v. 8, n. 4, e61217, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>.

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. *Journal of Visualized Experiments*, v. 137, e57932, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3791/57932>.

MEINZER, M.; AHMAD, N.; NIELSEN, B. L. Halophilic plant-associated bacteria with plant-growth-promoting potential. *Microorganisms*, v. 11, n. 12, p. 2910, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms11122910>

MENDES, R.; GARBEVA, P.; RAAIJMAKERS, J. M. The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS Microbiol. Rev.*, v. 37, p. 634–663, 2013.

- MUKHTAR, S.; ISHAQ, A.; HASSAN, S.; MEHNAZ, S.; MIRZA, M. S.; MALIK, K. A. Comparison of microbial communities associated with halophyte (*Salsola stocksii*) and non-halophyte (*Triticum aestivum*) using culture-independent approaches. **Polish Journal of Microbiology**, v. 66, n. 3, p. 353–364, 2017. DOI: <https://doi.org/10.5604/01.3001.0010.4866>.
- MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annu. Rev. Plant Biol.**, n. 59, p. 651–681, 2008.
- MURPHY, C. L.; BIGGERSTAFF, J.; EICHHORN, A.; EWING, E.; SHAHAN, R.; SORIANO, D.; YOUSSEF, N. H. Genomic characterization of three novel *Desulfobacterota* classes expand the metabolic and phylogenetic diversity of the phylum. **Environmental Microbiology**, v. 23, n. 8, p. 4326–4343, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15614>.
- NADEEM, S.M.; ZAHIR, Z.A.; NAVEED, M.; ASGHAR, H.N.; ARSHAD, M. Rhizobacteria capable of producing ACC-deaminase may mitigate salt stress in wheat. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, v.74, n.2, p.533–542, 2010.
- NAVARRO-TORRE, S.; MATEOS-NARANJO, E.; CAVIEDES, M. A.; PAJUELO, E.; RODRÍGUEZ-LLORENTE, I. D. Isolation of plant-growth-promoting and metal-resistant cultivable bacteria from *Arthrocnemum macrostachyum* in the Odiel marshes with potential use in phytoremediation. **Marine Pollution Bulletin**, v. 110, n. 1, p. 133–142, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.06.070>.
- NGUYEN, N. L.; VAN DUNG, V.; VAN TUNG, N.; NGUYEN, T. K. L.; QUAN, N. D.; GIANG, T. T. H.; NGUYEN, H. H. Draft genome sequencing of halotolerant bacterium *Salinicola* sp. DM10 unravels plant growth-promoting potentials. **Biotech**, v. 13, n. 12, p. 416, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13205-023-03772-0>
- NGUYEN, T. D.; LESANI, M.; FORREST, I.; LAN, Y.; DEAN, D. A.; GIBAUT, Q. M. Local phenomena shape backyard soil metabolite composition. **Meta**, v. 10, n. 86, 2020.
- NINAN, K. N.; INOUE, M. Valuing forest ecosystem services: What we know and what we don't. **Ecological Economics**, v. 93, p. 137–149, 2013.
- NUMAN, M.; BASHIR, S.; KHAN, Y.; MUMTAZ, R.; SHINWARI, Z.K.; KHAN, A.L.; AHMED, A.H. Plant growth promoting bacteria as an alternative strategy for salt tolerance in plants: a review. **Microbiological Research**, v.209, p. 21–32, 2018.
- OKSANEN, J.; SIMPSON, G.; BLANCHET, F. G.; KINDT, R.; LEGENDRE, P.; MINCHIN, P.; WEEDON, J. Vegan: Community Ecology Package. R package version 2.6-4, 2022. Disponível em: <https://rdrr.io/cran/vegan/>.
- PATIL, I. Visualizations with statistical details: the ‘ggstatsplot’ approach. **Journal of Open Source Software**, v. 6, n. 61, p. 3167, 2021. DOI: <https://doi.org/10.21105/joss.03167>.
- PENROSE, D.M.; GLICK, B.R. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. **Physiologia plantarum**, v. 118, n. 1, p. 10–15, 2003.
- PEREIRA, P.; BOGUNOVIC, I.; MUÑOZ-ROJAS, M.; BREVIK, E. C. Soil ecosystem services, sustainability, valuation and management. **Current Opinion in Environmental Science & Health**, v. 5, p. 7–13, 2018.

PEREZ ROJO, F.; PILLOW, J. J.; KAUR, P. Bioprospecting microbes and enzymes for the production of pterocarpan and coumestans. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 11, p. 1154779, 2023.

PESCHEL, S.; MÜLLER, C. L.; VON MUTIUS, E.; BOULESTEIX, A. L.; DEPNER, M. NetCoMi: network construction and comparison for microbiome data in R. **Briefings in Bioinformatics**, v. 22, n. 4, p. bbaa290, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1093/bib/bbaa290>.

QIN, S.; FENG, W. W.; WANG, T. T.; DING, P.; XING, K.; JIANG, J. H. Plant growth-promoting effect and genomic analysis of the beneficial endophyte *Streptomyces* sp. KLBMP 5084 isolated from halophyte *Limonium sinense*. **Plant and Soil**, v. 416, n. 1–2, p. 117–132, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3192-2>.

QIU, L.; KONG, W.; ZHU, H.; ZHANG, Q.; BANERJEE, S.; ISHII, S.; WEI, X. Halophytes increase rhizosphere microbial diversity, network complexity and function in inland saline ecosystem. **Science of the Total Environment**, v. 831, p. 154944, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154944>.

QUAST, C.; PRUESSE, E.; YILMAZ, P.; GERKEN, J.; SCHWEER, T.; YARZA, P.; PEPLIES, J.; GLÖCKNER, F. O. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. **Nucleic Acids Research**, v. 41, p. D590–D596, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>.

R CORE TEAM. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. R Foundation for Statistical Computing, Viena, Áustria, 2023. Disponível em: <https://www.R-project.org/>.

RATH, K. M.; MAHESHWARI, A.; BENGTSON, P.; ROUSK, J. Comparative toxicities of salts on microbial processes in soil. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 82, n. 7, p. 2012–2020, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.04052-15>.

RATH, K. M.; MURPHY, D. N.; ROUSK, J. The microbial community size, structure, and process rates along natural gradients of soil salinity. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 138, p. 107607, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2019.107607>.

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.

RIMA, F. S.; BISWAS, S.; SARKER, P. K.; ISLAM, M. R.; SERAJ, Z. I. Bacteria endemic to saline coastal belt and their ability to mitigate the effects of salt stress on rice growth and yields. **Annals of Microbiology**, v. 68, p. 525–535, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13213-018-1358-7>.

RINCON-FLOREZ, V. A.; CARVALHAIS, L. C.; SCHENK, P. M. Culture-independent molecular tools for soil and rhizosphere microbiology. **Diversity**, v. 5, n. 3, p. 581–612, 2013. DOI: <https://doi.org/10.3390/D5030581>.

ROBINSON, D. A.; FRASER, I.; DOMINATI, E. J.; DAVÍÐSÓTTIR, B.; JONSON, J. O. G.; JONES, L.; JONES, S. B.; TULLER, M.; LEBRON, I.; BRISTOW, K. L.; et al. On the value of soil resources in the context of natural capital and ecosystem service delivery. **Soil Science Society of America Journal**, v. 78, p. 685-700, 2014.

ROBINSON, D.; PANAGOS, P.; BORRELLI, P.; JONES, A.; MONTANARELLA, L.; TYE, A.; OBST, C. G. Soil natural capital in Europe: a framework for state and change assessment. **Scientific Reports**, v. 7, p. 6706, 2017.

ROLANDO, J. L.; KOLTON, M.; SONG, T.; KOSTKA, J. E. The core root microbiome of *Spartina alterniflora* is predominated by sulfur-oxidizing and sulfate-reducing bacteria in Georgia salt marshes, USA. **Microbiome**, v. 10, n. 1, p. 37, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40168-021-01187-7>.

ROSOLEM, G. P. N.; NOGUEIRA, T. M. P.; COSTA, L. C.; BRITO JUNIOR, G. J. V.; MOREIRA, A. R.; HEBERLE, D. A.; LOSS, A. Relações edafoambientais de uma hidrossequência em ecótono de manguezal na Ilha de Santa Catarina. In: **CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE CIÊNCIA DO SOLO**, 23., 2023, Florianópolis. Anais... Viçosa, MG: SBCS, 2023a. p. 52.

ROSOLEM, G. P. N.; ROSENFELDT, Y. A. Z.; VILELLA, E. C.; HEBERLE, D. A.; LOSS, A. Methodological and environmental implications for coastal soil identification as support for land management. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 49, e0240105, 2025.

ROTHBALLER, M.; ECKERT, B.; SCHMID, M.; FEKETE, A.; SCHLOTTER, M.; LEHNER, A.; HARTMANN, A. Endophytic root colonization of gramineous plants by *Herbaspirillum frisingense*. **FEMS microbiology ecology**, v. 66, n. 1, p. 85-95, 2008.

RSTUDIO TEAM. **RStudio: Integrated Development for R**. RStudio, PBC, Boston, MA, 2023. Disponível em: <http://www.rstudio.com/>.

RUGINESCU, R.; GOMOIU, I.; POPESCU, O.; COJOC, R.; NEAGU, S.; LUCACI, I.; BATRINESCU-MOTEAU, C.; ENACHE, M. Bioprospecting for novel halophilic and halotolerant sources of hydrolytic enzymes in brackish, saline and hypersaline lakes of Romania. **Microorganisms**, v. 8, p. 1903, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms8121903>.

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

SALEEM, M.; HU, J.; JOUSSET, A. More than the sum of its parts: Microbiome biodiversity as a driver of plant growth and soil health. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 50, p. 145-168, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110617-062605>.

SÁNCHEZ-PORRO, C.; DE LA HABA, R. R.; SOTO-RAMÍREZ, N.; MÁRQUEZ, M. C.; MONTALVO-RODRÍGUEZ, 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. DOI: <https://doi.org/10.1099/ijs.0.000000-0>

SANTOS, H. G.; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C.; OLIVEIRA, V. A.; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A.; ARAÚJO, F. J. C.; OLIVEIRA, J. B.; CUNHA, T.

J. F. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 5. ed. rev. ampl. Brasília, DF: Embrapa; 2018.

SANTOS, O. A. Q. D.; SILVA, E. C. D.; GARCÍA, A. C.; FAGUNDES, H. D. S.; DINIZ, Y. V. D. F. G.; FERREIRA, R.; PEREIRA, M. G. Impact of land use on Histosols properties in urban agriculture ecosystems of Rio de Janeiro, Brazil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 44, e0200041, 2020.

SANTOYO, G.; PACHECO, C. H.; SALMERÓN, J. H.; LEÓN, R. H. The role of abiotic factors modulating the plant-microbe-soil interactions: toward sustainable agriculture. A review. **Spanish journal of agricultural research**, v. 15, n. 1, p. 13, 2017.

SARKAR, D.; ROVENICH, H.; JEENA, G.; NIZAM, S.; TISSIER, A.; BALCKE, G. U.; MAHDI, L. K.; BONKOWSKI, M.; LANGEN, G.; ZUCCARO, A. The inconspicuous gatekeeper: endophytic *Serendipita vermifera* acts as extended plant protection barrier in the rhizosphere. **New Phytologist**, v. 224, n. 2, p. 886–901, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1111/NPH.15904>.

SATURDAY, A. Restoration of degraded agricultural land: a review. **Journal of Environmental Health Science**, v. 4, n. 2, p. 44–51, 2018.

SCHIMEL, J.; BALSER, T. C.; WALLENSTEIN, M. Microbial stress-response physiology and its implications for ecosystem function. **Ecology**, v. 88, n. 6, p. 1386–1394, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1890/06-0219>.

SCHLIEP, K. P. **phangorn: phylogenetic analysis in R**. **Bioinformatics**, v. 27, n. 4, p. 592–593, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq706>.

SERRANO, O.; LOVELOCK, C. E.; ATWOOD, T. B.; MACREADIE, P. I.; CANTO, R.; PHINN, S.; ... DUARTE, C. M. Australian vegetated coastal ecosystems as global hotspots for climate change mitigation. **Nature Communications**, v. 10, n. 1, p. 4313, 2019.

SHADE, A.; STOPNISEK, N. Abundance-occupancy distributions to prioritize plant core microbiome membership. **Current Opinion in Microbiology**, v. 49, p. 50–58, 2019.

SIDDIKEE, M.A., CHAUHAN, P.S., ANANDHAM, R., HAN, G.H., SA, T. Isolation, characterization, and use for plant growth promotion under salt stress, of ACC deaminase producing halotolerant bacteria derived from coastal soil. **J. Microbiol. Biotechnol.**, v. 20, n.11, p. 1577–1584, 2010.

SOIL SURVEY STAFF. **Keys to Soil Taxonomy**. USDA-Natural Resources Conservation Service, 12th ed., Washington, DC, 2014.

SUN, R.; WANG, X.; TIAN, Y.; GUO, K.; FENG, X.; SUN, H.; LIU, B. Long-term amelioration practices reshape the soil microbiome in a coastal saline soil and alter the richness and vertical distribution differently among bacterial, archaeal, and fungal communities. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 768203, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.768203>.

SUN, R.; ZHANG, P.; RIGGINS, C. W.; ZABALOY, M. C.; RODRÍGUEZ-ZAS, S.; VILLAMIL, M. B. Long-term N fertilization decreased diversity and altered the composition

of soil bacterial and archaeal communities. **Agronomy**, v. 9, n. 10, p. 574, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/agronomy9100574>.

SWENSON, T. L.; KARAOZ, U.; SWENSON, J. M.; BOWEN, B. P.; NORTHEN, T. R. Linking soil biology and chemistry in biological soil crust using isolate exometabolomics. **Nat. Commun.**, v. 9, p. 1–10, 2018.

SZYMAŃSKA, S.; PŁOCINICZAK, T.; PIOTROWSKA-SEGET, Z.; HRYNKIEWICZ, K. Endophytic and rhizosphere bacteria associated with the roots of the halophyte *Salicornia europaea* L.–community structure and metabolic potential. **Microbiological Research**, v. 192, p. 37–51, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.05.012>.

TACKMANN, J.; MATIAS RODRIGUES, J. F.; MERING, C. Rapid inference of direct interactions in large-scale ecological networks from heterogeneous microbial sequencing data. **Cell Systems**, v. 9, n. 3, p. 286–296.e8, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cels.2019.08.002>.

TEIXEIRA, P. C.; DONAGEMMA, G. K.; FONTANA, A.; TEIXEIRA, W. G. **Manual de métodos de análise de solo**, 3. ed. rev. e ampl. Brasília, 2017.

TELES, E.A.P. **Seleção e identificação de bactérias halofílicas e halotolerantes solubilizadoras de fosfato**. 2023. 39f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Ciência do solo). Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, RJ, 2023.

TIAN, P.; RAZAVI, B. S.; ZHANG, X.; WANG, Q.; BLAGODATSKAYA, E. Microbial growth and enzyme kinetics in rhizosphere hotspots are modulated by soil organics and nutrient availability. **Soil Biol. Biochem.**, v. 141, p. 107662, 2020.

TIAN, X. Y.; ZHANG, C. S. Illumina-based analysis of endophytic and rhizosphere bacterial diversity of the coastal halophyte *Messerschmidia sibirica*. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 286912, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/FMICB.2017.02288/BIBTEX>.

TIEPO, A. N.; HERTEL, M. F.; ROCHA, S. S.; CALZAVARA, A. K.; DE OLIVEIRA, A. L. M.; PIMENTA, J. A.; OLIVEIRA, H. C.; BIANCHINI, E.; STOLF-MOREIRA, R. Enhanced drought tolerance in seedlings of Neotropical tree species inoculated with plant growth-promoting bacteria. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 130, p. 277–288, 2018.

VALLADARES, G. S.; PEREIRA, M. G.; BENITES, V. D. M.; ANJOS, L. H. C. D.; EBELING, A. G.; GUARESCHI, R. F. Carbon and nitrogen stocks and humic fractions in Brazilian Organosols. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 40, n. 0, e0151317, 2016.

VAN HORN, D. J.; OKIE, J. G.; BUELOW, H. N.; GOOSEFF, M. N.; BARRETT, J. E.; TAKACS-VESBACH, C. D. Soil microbial responses to increased moisture and organic resources along a salinity gradient in a polar desert. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 80, n. 10, p. 3034–3043, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.03414-13>.

VENTOSA, A.; MELLADO, E.; SÁNCHEZ-PORRO, C.; MÁRQUEZ, M. C. Halophilic and halotolerant micro-organisms from soils. In: DION, P.; NAUTIYAL, C. S. (org.). **Microbiology of extreme soils**. v. 13. Springer, 2007. p. 87–115.

VEUM, K. S.; GOYNE, K. W.; KREMER, R. J.; MILES, R. J.; SUDDUTH, K. A. Biological indicators of soil quality and soil organic matter characteristics in an agricultural management continuum. **Biogeochemistry**, v. 117, p. 81–99, 2014.

VOGEL, H. J.; EBERHARDT, E.; FRANKO, U.; LANG, B.; LIEß, M.; WELLER, U.; WOLLSCHLÄGER, U. Quantitative evaluation of soil functions: Potential and state. **Frontiers in Environmental Science**, v. 7, p. 463905, 2019.

VORHOLT, J. A.; VOGEL, C.; CARLSTROM, C. I.; MULLER, D. B. Establishing causality: opportunities of synthetic communities for plant microbiome research. **Cell Host Microbe** v. 22, p. 142–155, 2017.

WANGER, L. A.; KING, D. M.; MACK, R. N.; PRICE, E. W.; MASLIN, T. Can the concept of ecosystem services be practically applied to improve natural resource management decisions? **Ecological Economics**, v. 69, n. 5, p. 978-987, 2010.

WALL, D. H.; BARDGETT, R. D.; BEHAN-PELLETIER, V.; HERRICK, J. E.; JONES, T. H.; SIX, J.; RITZ, K. (Eds.). **Soil ecology and ecosystem services**. Oxford University Press, 2012.

WALLACE, K. J. Classification of ecosystem services: problems and solutions. **Biological Conservation**, v. 139, p. 235-246, 2007.

WANG, B.; KUANG, S.; SHAO, H.; CHENG, F.; WANG, H. Improving soil fertility by driving microbial community changes in saline soils of Yellow River Delta under petroleum pollution. **Journal of Environmental Management**, v. 304, p. 114265, 2022b. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.114265>.

WANG, L.; WANG, J.; GUO, D.; JIANG, A. Catabolic activity and structural diversity of bacterial community in soil covered by halophytic vegetation. **Current Microbiology**, v. 77, p. 1821–1828, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02001-7>.

WANG, R.; CUI, L.; LI, J.; LI, W. Factors driving the halophyte rhizosphere bacterial communities in coastal salt marshes. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, p. 1127958, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1127958>.

WANG, X. B.; LÜ, X. T.; YAO, J.; WANG, Z. W.; DENG, Y.; CHENG, W. X.; ZHOU, J. Z.; HAN, X. G. Habitat-specific patterns and drivers of bacterial β -diversity in China's drylands. **ISME Journal**, v. 11, n. 6, p. 1345–1358, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.11>.

WANG, X.; GUO, X.; HOU, L.; ZHANG, J.; HU, J.; ZHANG, F.; SHAN, C. A comparative study of bacterial diversity based on effects of three different shade shed types in the rhizosphere of *Panax quiquefolium* L. **PeerJ**, v. 10, e12807, 2022a. DOI: <https://doi.org/10.7717/peerj.12807>.

WANG, Y.; SUN, Q.; LIU, J.; WANG, L.; WU, X.; ZHAO, Z.; WANG, N.; GAO, Z. *Suaeda salsa* root-associated microorganisms could effectively improve maize growth and resistance under salt stress. **Microbiology Spectrum**, v. 10, n. 4, e0134922, 2022c. DOI: https://doi.org/10.1128/SPECTRUM.01349-22/SUPPL_FILE/SPECTRUM.01349-22-S0002.PDF.

WANG, Z.; SU, Q.; WANG, S.; GAO, Z.; LIU, J. Spatial distribution and health risk assessment of dissolved heavy metals in groundwater of eastern China coastal zone. **Environmental Pollution**, v. 290, p. 118016, 2021.

WEINSTEIN, M. M.; PREM, A.; JIN, M.; TANG, S.; BHASIN, J. M. FIGARO: An efficient and objective tool for optimizing microbiome rRNA gene trimming parameters. **Journal of Biomolecular Techniques**, v. 31, p. 610394, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1101/610394>.

WICKHAM, H. **ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis**. Springer-Verlag, New York, 2016. Available at: <https://ggplot2.tidyverse.org>.

WRIGHT, E. S. Using DECIPHER v2.0 to analyze big biological sequence data in R. **R Journal**, v. 8, p. 352–359, 2016. DOI: <https://doi.org/10.32614/RJ-2016-025>.

XAVIER, J F. **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.

XU, S.; ZHAN, L.; TANG, W.; WANG, Q.; DAI, Z.; ZHOU, L.; FENG, T.; CHEN, M.; WU, T.; HU, E.; YU, G. MicrobiotaProcess: a comprehensive R package for deep mining microbiome. **Innovation**, v. 4, n. 2, p. 100388, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.Xinn.2023.100388>.

XUE, R.; LIU, S.; STIRLING, E.; WANG, Y.; ZHAO, K.; MATSUMOTO, H.; MA, B. Core community drives phyllosphere bacterial diversity and function in multiple ecosystems. **Science of The Total Environment**, v. 896, p. 165187, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165187>.

YAISH, M.W.; AL-HARRASI, I.; ALANSARI, A.S.; AL-YAHYAI, R.; GLICK, B.R. The use of high throughput DNA sequence analysis to assess the endophytic microbiome of date palm roots grown under different levels of salt stress. **Int. Microbiol.**, v. 19, p. 143–155, 2016a.

YAISH, M.W.; AL-LAWATI, A.; JANA, G.A.; PATANKAR, H.V.; GLICK, B.R. Impact of soil salinity on the structure of the bacterial endophytic community identified from the roots of caliph medic (*Medicago truncatula*). **PLoS One**, v.11, e0159007, 2016b.

YAMAMOTO, K.; SHIWA, Y.; ISHIGE, T.; SAKAMOTO, H.; KEISUKE, T.; MASATAKA, U. Bacterial diversity associated with the rhizosphere and endosphere of two halophytes: *Glaux maritima* and *Salicornia Europaea*. **Front. Microbiol.**, v. 9, p. 2878, 2018.

YAMAMOTO, K.; SHIWA, Y.; ISHIGE, T.; SAKAMOTO, H.; TANAKA, K.; UCHINO, M.; TANAKA, N.; OGURI, S.; SAITOH, H.; TSUSHIMA, S. Bacterial diversity associated with the rhizosphere and endosphere of two halophytes: *Glaux maritima* and *Salicornia europaea*. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 2878, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3389/FMICB.2018.02878/BIBTEX>.

YANG, L.; NING, D.; YANG, Y.; HE, N.; LI, X.; CORNELL, C. R.; TIAN, J. Precipitation balances deterministic and stochastic processes of bacterial community assembly in grassland soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 168, p. 108635, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2022.108635>.

YEOMANS, J. C.; BREMER, 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. DOI: <https://doi.org/10.1080/00103628809368027>.

- YIN, F.; ZHANG, F.; CHENG, Z.; WANG, H. Drivers on the halophytes' rhizosphere bacteria community and functions in North China salinized areas. **Research Square**, 2021. DOI: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-253935/v1>.
- YUAN, Z.; DRUZHININA, I. S.; LABBÉ, J.; REDMAN, R.; QIN, Y.; RODRIGUEZ, R.; LIN, F. Specialized microbiome of a halophyte and its role in helping non-host plants to withstand salinity. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 32467, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep32467>.
- ZAHIR, Z. A.; SHAH, M. K.; NAVEED, M.; AKHTER, M. J. Substrate-dependent auxin production by *Rhizobium phaseoli* improves the growth and yield of *Vigna radiata* L. under salt stress conditions. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 20, n.9, p. 1288-1294, 2010.
- ZAHIR, Z.A.; GHANI, U.; NAVEED, M.; NADEEM, S.M.; ASGHAR, H.N. Comparative effectiveness of *Pseudomonas* and *Serratia* sp. containing ACC-deaminase for improving growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salt-stressed conditions. **Arch. Microbiol.**, v. 191, n. 5, p. 415–424. 2009.
- ZHANG, G.; BAI, J.; ZHAI, Y.; JIA, J.; ZHAO, Q.; WANG, W.; HU, X. Microbial diversity and functions in saline soils: a review from a biogeochemical perspective. **Journal of Advanced Research**, v. 59, p. 129–140, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jare.2023.06.015>.
- ZHANG, L.; ZHOU, J.; GEORGE, T. S.; LIMPENS, E.; FENG, G. Arbuscular mycorrhizal fungi conducting the hyphosphere bacterial orchestra. **Trends in Plant Science**, v. 27, n. 4, p. 402–411, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2021.10.008>.
- ZHAO, Y.; LI, T.; SHAO, P.; SUN, J.; XU, W.; ZHANG, Z. Variation in bacterial community structure in rhizosphere and bulk soils of different halophytes in the Yellow River Delta. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 9, p. 816918, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fevo.2021.816918>.

8. ANEXOS

8.1 Anexo 1: Material suplementar referente ao artigo do capítulo I – Impactos do uso agrícola nos atributos de Organossolos e na biodiversidade do solo

Tabela 1. Densidade do solo (Ds), densidade das partículas (Dp) e diâmetro médio ponderado (DMP) nas áreas de cultivo convencional e floresta.

Áreas	Ds	Dp	DMP
	(Kg/dm3)		mm
	0-10 cm		
Cultivo	0,68	1,83	4.23
Floresta	0,65	1,70	4.58
10-20 cm			
Cultivo	0,70	1,83	-
Floresta	0,66	1,90	-

Anexo 2: Material suplementar referente ao artigo do Capítulo III – Bioprospecção de rizobactérias provenientes de plantas halófitas produtoras de acc deaminase

Tabela 2. Descrição dos isolados bacterianos utilizados na análise da atividade da ACC deaminase.

Isolado	Origem	Classificação quanto a salinidade	Gênero identificado
SS2	<i>Sporobolus virginicus</i>	Não halofílico	<i>Bacillus</i>
SS80	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Bacillus</i>
SS35	<i>Cyperus ligularis</i>	Não halofílico	<i>Bacillus</i>
SS39	<i>Cyperus ligularis</i>	Halotolerante	<i>Bacillus</i>
SS137	<i>Blutaparon portulacoides</i>	Não halofílico	<i>Bacillus</i>
SS62	<i>Cyperus ligularis</i>	Halotolerante	<i>Bacillus</i>
SS63	<i>Cyperus ligularis</i>	Halotolerante	<i>Bacillus</i>
SS68	<i>Cyperus ligularis</i>	Não halofílico	<i>Bacillus</i>
SS71	<i>Cyperus ligularis</i>	Não halofílico	<i>Bacillus</i>
SS215	<i>Salicornia gaudichadiana</i>	Halotolerante	<i>Bacillus</i>
SS101	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Bacillus</i>
SS109	<i>Salicornia fruticosa</i>	Não halofílico	<i>Bacillus</i>
SS143	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Bacillus</i>
SS186	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Bacillus</i>
SS201	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Bacillus</i>
SS204	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Bacillus</i>
SS226	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Bacillus</i>
SS231	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Bacillus</i>
SS241	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Bacillus</i>

Continua...

Continuação da Tabela 2.

Isolado	Origem	Classificação quanto a salinidade	Gênero identificado
SS248	<i>Salicornia fruticosa</i>	Não halofílico	<i>Bacillus</i>
SS308	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Bacillus</i>
SS340	<i>Salicornia fruticosa</i>	Não halofílico	<i>Bacillus</i>
SS6	<i>Sporobolus virginicus</i>	Halotolerante	<i>Bacillus</i>
SS19	<i>Sporobolus virginicus</i>	Halofílico	<i>Bacillus</i>
SS85	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Bacillus</i>
SS145	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Bacillus</i>
SS135	<i>Cyperus ligularis</i>	Não halofílico	<i>Bacillus</i>
SS146	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Bacillus</i>
SS33	<i>Cyperus ligularis</i>	Não halofílico	<i>Bacillus</i>
SS211	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Enterobacter</i>
SS195	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Enterobacter</i>
SS255	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Enterobacter</i>
SS318	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Enterobacter</i>
SS20	<i>Cyperus ligularis</i>	Halotolerante	<i>Enterobacter</i>
SS34	<i>Cyperus ligularis</i>	Halofílico	<i>Enterobacter</i>
SS164	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Enterobacter</i>
SS183	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Enterobacter</i>
SS185	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Enterobacter</i>
SS189	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Enterobacter</i>
SS198	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Enterobacter</i>
SS315	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Enterobacter</i>
SS99	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Halobacillus</i>
SS128	<i>Blutaparon portulacoides</i>	Halotolerante	<i>Halobacillus</i>
SS12	<i>Sporobolus virginicus</i>	Halofílico	<i>Halomonas</i>
SS96	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halofílico	<i>Halomonas</i>
SS134	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halofílico	<i>Halomonas</i>
SS100	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halofílico	<i>Kushneria</i>
SS102	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halofílico	<i>Kushneria</i>
SS104	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halofílico	<i>Kushneria</i>
SS58	<i>Cyperus ligularis</i>	Halofílico	<i>Kushneria</i>
SS51	<i>Cyperus ligularis</i>	Halotolerante	<i>Oceanobacillus</i>
SS3	<i>Sporobolus virginicus</i>	Halotolerante	<i>Ochrobactrum</i>
SS10	<i>Sporobolus virginicus</i>	Halotolerante	<i>Ochrobactrum</i>
SS75	<i>Cyperus ligularis</i>	Halotolerante	<i>Ochrobactrum</i>
SS82	<i>Salicornia fruticosa</i>	Não halofílico	<i>Ochrobactrum</i>
SS90	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Ochrobactrum</i>
SS94	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Ochrobactrum</i>

Continua...

Continuação da Tabela 2.

Isolado	Origem	Classificação quanto a salinidade	Gênero identificado
SS245	<i>Salicornia fruticosa</i>	Não halofílico	<i>Ochrobactrum</i>
SS293	<i>Salicornia fruticosa</i>	Não halofílico	<i>Ochrobactrum</i>
SS297	<i>Salicornia fruticosa</i>	Não halofílico	<i>Ochrobactrum</i>
SS347	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Ochrobactrum</i>
SS11	<i>Sporobolus virginicus</i>	Halotolerante	<i>Ochrobactrum</i>
SS27	<i>Cyperus ligularis</i>	Halotolerante	<i>Ochrobactrum</i>
SS45	<i>Cyperus ligularis</i>	Halotolerante	<i>Ochrobactrum</i>
SS70	<i>Cyperus ligularis</i>	Não halofílico	<i>Ochrobactrum</i>
SS97	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Ochrobactrum</i>
SS120	<i>Blutaparon portulacoides</i>	Halotolerante	<i>Ochrobactrum</i>
SS217	<i>Salicornia fruticosa</i>	Não halofílico	<i>Ochrobactrum</i>
SS228	<i>Salicornia fruticosa</i>	Não halofílico	<i>Ochrobactrum</i>
SS235	<i>Salicornia fruticosa</i>	Não halofílico	<i>Ochrobactrum</i>
SS238	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Ochrobactrum</i>
SS286	<i>Salicornia fruticosa</i>	Não halofílico	<i>Ochrobactrum</i>
SS258	<i>Salicornia fruticosa</i>	Não halofílico	<i>Ochrobactrum</i>
SS294	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Ochrobactrum</i>
SS330	<i>Salicornia fruticosa</i>	Não halofílico	<i>Ochrobactrum</i>
SS336	<i>Salicornia fruticosa</i>	Não halofílico	<i>Ochrobactrum</i>
SS337	<i>Salicornia fruticosa</i>	Não halofílico	<i>Ochrobactrum</i>
SS54	<i>Cyperus ligularis</i>	Halotolerante	<i>Pseudomonas</i>
SS161	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Pseudomonas</i>
SS162	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Pseudomonas</i>
SS163	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Pseudomonas</i>
SS165	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Pseudomonas</i>
SS166	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Pseudomonas</i>
SS168	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Pseudomonas</i>
SS169	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Pseudomonas</i>
SS170	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Pseudomonas</i>
SS171	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Pseudomonas</i>
SS173	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Pseudomonas</i>
SS174	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Pseudomonas</i>
SS176	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Pseudomonas</i>
SS177	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Pseudomonas</i>
SS178	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Pseudomonas</i>
SS179	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Pseudomonas</i>
SS250	<i>Salicornia fruticosa</i>	Não halofílico	<i>Pseudomonas</i>
SS264	<i>Salicornia fruticosa</i>	Não halofílico	<i>Pseudomonas</i>

Continua...

Continuação da **Tabela 2.**

Isolado	Origem	Classificação quanto a salinidade	Gênero identificado
SS322	<i>Salicornia fruticosa</i>	Não halofílico	<i>Pseudomonas</i>
SS140	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Pseudomonas</i>
SS141	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Pseudomonas</i>
SS197	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Pseudomonas</i>
SS208	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halotolerante	<i>Pseudomonas</i>
SS127	<i>Blutaparon portulacoides</i>	Halofílico	<i>Salinicola</i>
SS15	<i>Sporobolus virginicus</i>	Halofílico	<i>Salinicola</i>
SS147	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halofílico	<i>Salinicola</i>
SS149	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halofílico	<i>Salinicola</i>
SS150	<i>Salicornia fruticosa</i>	Halofílico	<i>Salinicola</i>