



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

Centro de Ciências Exatas

Departamento de Bioquímica e Biotecnologia

Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia

LETTÍCIA MARQUES DA SILVA

**PROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO
VISANDO A REDUÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO CAUSADO PELO
DÉFICIT HÍDRICO EM PLANTAS DE TOMATE**

LONDRINA

2023

LETTÍCIA MARQUES DA SILVA

**PROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE
CRESCIMENTO VISANDO A REDUÇÃO DO ESTRESSE
OXIDATIVO CAUSADO PELO DÉFICIT HÍDRICO EM PLANTAS
DE TOMATE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia do Departamento de Bioquímica e Biotecnologia da Universidade Estadual de Londrina, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientador: Prof. André Luiz Martinez de Oliveira

LONDRINA

2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

S586p da Silva, Letícia Marques.

Prospecção de bactérias promotoras de crescimento visando a redução do estresse oxidativo causado pelo déficit hídrico em plantas de tomate / Letícia Marques da Silva. - Londrina, 2023.
57 f. : il.

Orientador: André Luiz Martinez de Oliveira.

Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, 2023.

Inclui bibliografia.

1. Bactérias promotoras de crescimento de plantas - Tese. I. Martinez de Oliveira, André Luiz . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. III. Título.

CDU 66

LETTÍCIA MARQUES DA SILVA

**PROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE
CRESCIMENTO VISANDO A REDUÇÃO DO ESTRESSE
OXIDATIVO CAUSADO PELO DÉFICIT HÍDRICO EM PLANTAS
DE TOMATE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia do Departamento de Bioquímica e Biotecnologia da Universidade Estadual de Londrina, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. André Luiz Martinez de Oliveira
BBTEC - Universidade Estadual de Londrina

Profa. Dra. Jesiane Stefania da Silva Batista
BEMG- Universidade Estadual de Ponta
Grossa

Profa. Dra. Carolina Weigert Galvão
BEMG - Universidade Estadual de Ponta
Grossa

Londrina, 14 de Março de 2023.

SILVA, Letícia Marques. Prospecção de bactérias promotoras de crescimento visando a redução do estresse oxidativo causado pelo déficit hídrico em plantas de tomate: 2023. 57 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina-PR, 2023.

RESUMO

O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) é classificado como uma frutífera, pertencente à família Solanaceae. É uma das olerícolas mais cultivadas no mundo ao lado da batata. Apesar da facilidade de cultivo, a sua produção enfrenta diversas dificuldades, como altas temperaturas, estresse hídrico, solos secos e ácidos. O déficit hídrico é um problema abiótico que tem afetado diversas culturas com maior intensidade. A restrição hídrica sob as plantas causa fechamento dos estômatos, diminuição da taxa fotossintética e, conseqüentemente, a produção descontrolada de espécies reativas de oxigênio (ROS), causando o estresse oxidativo. Para combater altas concentrações de ROS nas células, as plantas possuem um sistema de defesa, composto por enzimas antioxidantes, como: superóxido dismutase (SOD), peroxidase (POD) e catalase (CAT). Essas enzimas convertem ROS em formas não reativas, diminuindo a sua concentração na planta. Bactérias promotoras de crescimento (PGPB) vêm sendo muito utilizadas nas últimas décadas para diminuir danos causados pelo estresse biótico e abiótico de diferentes culturas. PGPB são microrganismos presentes principalmente na rizosfera de plantas, e atuam positivamente, de forma direta ou indireta, no crescimento vegetal. O objetivo deste trabalho foi identificar bactérias promotoras de crescimento vegetal com potencial para reduzir danos oxidativos decorrentes do estresse hídrico induzido por polietilenoglicol, utilizando plantas de tomate como modelo experimental. Sementes de tomate foram submetidas a germinação em meio ágar-água como controle, e meio ágar-água com adição de polietilenoglicol (PEG) em diferentes concentrações: 0%, 25% e 50% com objetivo de simular o estresse osmótico. Os tratamentos ficaram em câmara de crescimento por 30 dias (25°C/dia 22°C/noite, 16 horas de fotoperíodo e 80% UR). Após esse período, as plântulas foram pesadas para determinar a massa fresca da parte aérea. As análises para determinação de peróxido de hidrogênio (H₂O₂), proteínas solúveis totais, atividade de superóxido dismutase e peroxidase foram realizadas em espectrofotômetro. Os dados foram submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal - Wallis e as médias foram comparadas pelo teste de Dunn a 5% de probabilidade. Os isolados B5 – *Herbaspirillum* sp. (114), B6 – *Trinickia* sp. (24), B7 – *Bacillus* sp. (4) e B8 – *Bacillus* sp. (145) demonstraram boa capacidade em induzir a planta a tolerar o déficit hídrico.

Palavras-Chaves: Plant Growth-Promoting Bacteria; Espécies reativas de oxigênio; Enzimas antioxidantes; Polietilenoglicol.

SILVA, Letícia Marques. Prospection of growth-promoting bacteria aimed to reduce oxidative stress caused by water deficit in tomato plants 2023. 57 f. Dissertation (Master's Degree in Biotechnology) – State University of Londrina, Londrina-PR, 2023.

ABSTRACT

The tomato (*Solanum lycopersicum L.*) is classified as a fruit, belonging to the family Solanaceae. It is one of the most cultivated vegetables in the world alongside potatoes. Despite the ease of cultivation, its production faces several difficulties, such as high temperatures, water stress, dry soils and acids. Water deficit is an abiotic problem that increasingly affects diverse cultures. The water restriction in plants causes stomatal closure, decreased photosynthetic rate and, consequently, uncontrolled production of reactive oxygen species (ROS), causing oxidative stress. To combat high concentrations of ROS in the cell, plants have a defense system composed of antioxidant enzymes such as superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT). These enzymes convert ROS into nonreactive forms, decreasing their concentration in the plant. Growth-promoting bacteria (PGPB) has been widely used in recent decades to reduce damage caused by biotic and abiotic stress from different cultures. PGPB are microorganisms of free living in the soil, present mainly in the rhizosphere of plants, and act positively, directly or indirectly, in plant growth. The objective of this work was to identify bacteria promoting plant growth with potential to reduce oxidative damage resulting from water stress induced by polyethylene glycol, using tomato plants as an experimental model. Tomato seeds were submitted to germination in water agar medium as control, and water agar medium with the addition of polyethylene glycol (PEG) at different concentrations: 0%, 25% and 50% in order to simulate osotic stress. The treatments were in a growth chamber for 30 days (25°C/day 22°C/night, 16 hours of photoperiod and 80% RH). After this period, the seedlings were weighed to determine the fresh mass of the area part. Analyses for determination of hydrogen peroxide (H₂O₂), total soluble proteins, superoxide dismutase activity and peroxidase were performed in spectrophotometer. The data were submitted to the Kruskal Wallis nonparametric test and the means were compared by Dunn's test at 5% probability. Isolates B5 – *Herbaspirillum* sp. (114), B6 – *Trinickia* sp. (24), B7 – *Bacillus* sp. (4) and B8 – *Bacillus* sp. (145) demonstrated good ability to induce the plant to tolerate water deficit.

Keywords: Growth-promoting bacteria; Reactive oxygen species; Antioxidant enzymes; Polyethylene glycol.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Danos oxidativos causados por ROS	25
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Principais mecanismos e gêneros de bactérias promotoras de crescimento em plantas.....	20
Tabela 2 Estirpes bacterianas utilizadas neste estudo e respectivas características bioquímicas relacionadas com a promoção do crescimento vegetal.....	27
Tabela 3 Conteúdo de proteínas solúveis totais de plântulas de tomate	31
Tabela 4 Conteúdo de peróxido de hidrogênio da parte aérea de plântulas de tomate	34
Tabela 5 Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) da parte aérea de plântulas de tomate	38
Tabela 6 Atividade da enzima peroxidase (POD) da parte aérea de plântulas de tomate	41
Tabela 7 Tabela comparativa com os resultados que se destacaram dos tratamentos nas diferentes análises	46

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVO	13
2.1 Objetivo geral.....	13
2.2 Objetivo específico.....	13
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	14
3.1 Tomate.....	14
3.2 Bactérias promotoras de crescimento	15
3.3 ROS e o papel das enzimas antioxidantes.....	20
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	26
4.1 Material Vegetal.....	26
4.2 Bactérias utilizadas	26
4.3 Preparo das sementes e desenho experimental.....	28
4.4 Preparo do inóculo e condução do ensaio	28
4.5 Determinação do peróxido de hidrogênio.....	29
4.6 Determinação de proteínas totais.....	29
4.7 Determinação da atividade de peroxidase (POD).....	30
4.8 Determinação da atividade de superóxido dismutase (SOD).....	30
4.9 Análises estatísticas.....	30
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1 Determinação do conteúdo de proteínas totais.....	31
5.2 Determinação do conteúdo de peróxido de hidrogênio	34
5.3 Determinação da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD).....	38
5.4 Determinação da atividade da enzima peroxidase (POD).....	41

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	47

1 INTRODUÇÃO

O tomate (*Solanum lycopersicum*) é um fruto de grande importância econômica mundial, devido ao seu alto valor nutritivo na dieta humana (SINGH *et al.*, 2018). É um dos vegetais mais consumidos no mundo todo, sendo uma importante fonte de nutrientes, como licopeno, ferro, potássio, vitamina C, etc. (XU *et al.*, 2022). Além disso, o tomate possui antioxidantes como beta-caroteno e compostos fenólicos como os flavonoides (ALSAMIR *et al.*, 2021).

A produção global de tomate em 2020 foi superior a 180 milhões de toneladas. De acordo com a Embrapa (2022) o Brasil é o 5º maior produtor mundial da cultura, no qual o estado de Goiás lidera o ranking dos estados produtores no país. No ano de 2022, Goiânia ofertou mais de 5 milhões de toneladas de tomate para o mercado brasileiro (EMBRAPA, 2022). Apesar da facilidade de cultivo, o tomate depende muito da disponibilidade de água para seu crescimento durante todas as fases de seu desenvolvimento. A disponibilidade de água afeta diretamente a germinação das sementes, o crescimento da planta, a fotossíntese e a produção final dos frutos do tomateiro. Desta forma, a cultura do tomate pode ser prejudicada por diferentes fatores e estresses bióticos e abióticos relacionados com a água, como a seca, inundação, salinidade e contaminação por metais pesados (ALSAMIR *et al.*, 2021).

O aumento da temperatura causado por alterações na composição da atmosfera irá afetar negativamente cada vez mais a fisiologia das espécies vegetais, atingindo drasticamente a homeostase da planta (AL-ALOOSY *et al.*, 2019). Por exemplo, alterações no regime hídrico podem reduzir a disponibilidade de água para as plantas, modificando seu potencial hídrico e turgor, prejudicando assim o funcionamento da célula vegetal (SACHDEV *et al.*, 2021). A intensidade e a duração do estresse hídrico irão definir a gravidade do seu impacto fisiológico nas plantas. Uma das mudanças fisiológicas na planta associada ao estresse é o aumento da fotorredução de O₂ nos cloroplastos resultante do fechamento dos estômatos, aumentando assim os níveis de espécies reativas de oxigênio (ROS) nas células, e por consequência, causando danos oxidativos nas plantas (SACHDEV *et al.*, 2021).

O estresse oxidativo é definido como uma condição biológica dos seres vivos onde há um desequilíbrio entre a produção e a remoção ROS pelas células. Ou seja, quando há maior produção de ROS e menor atividade de sistemas

enzimáticos responsáveis por sua eliminação, há um desequilíbrio da homeostase e conseqüentemente ocorre o estresse oxidativo (CHANDRA *et al.*, 2021). ROS compreende um grupo de íons ou radicais livres formados pela redução do oxigênio molecular (O_2) durante os processos bioquímicos das células. Os principais tipos de ROS são: superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), hidroxila (OH^-) e o oxigênio singlete (1O_2) (AL-ALOOSY *et al.*, 2019).

Já é comprovado que alguns microrganismos associados a plantas possuem alto potencial para combater o estresse hídrico e a seca (NAYLOR; COLEMAN-DERR, 2018). As bactérias promotoras de crescimento de plantas, ou plant growth-promoting bacteria (PGPB), são aquelas capazes de colonizar tecidos internos ou a superfície vegetal, incluindo a rizosfera, conferindo propriedades benéficas ao seu crescimento (CHANDRA *et al.*, 2021). Várias PGPB vêm sendo investigadas e usadas em formulações de biofertilizantes, um insumo alternativo ao uso de fertilizantes químicos. Essas bactérias possuem a capacidade de aumentar a disponibilidade de nutrientes para as plantas a longo prazo, através da fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fósforo e produção de sideróforos. Além disso, as PGPB podem induzir o aumento da atividade de enzimas antioxidantes (superóxido dismutase, peroxidases, catalase), aumentando assim as chances de a planta superar condições de estresses abióticos e bióticos (CHANDRA *et al.*, 2021).

As associações planta-microrganismo podem elevar a tolerância dessas plantas às condições de seca, e conseqüentemente, a sua sobrevivência sob déficit hídrico (SILVA; LAMBERS, 2020). Além disso, as PGPB podem influenciar o desenvolvimento e arquitetura das raízes, favorecendo a absorção de água pelas plantas para que essas consigam suportar ainda mais o estresse hídrico. Logo, a inoculação com bactérias promotoras de crescimento pode ser considerada uma prática eficiente para mitigar os efeitos adversos do estresse oxidativo em plantas (CHANDRA *et al.*, 2021). Investigar a fundo as relações de microrganismos e plantas poderá fornecer conhecimentos necessários para a criação de inoculantes mais eficientes. Nesse contexto, explorar as alterações fisiológicas resultantes das interações planta-microrganismo se torna uma das estratégias eficazes para se alcançar uma alta taxa de sobrevivência de plantas em ambientes estressantes. O objetivo deste trabalho foi identificar cepas bacterianas com potencial de induzir a tolerância de plantas ao dano oxidativo

resultante do déficit hídrico utilizando o tomate como planta modelo, visando candidatos ao desenvolvimento de bioinsumos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Selecionar bactérias promotoras de crescimento vegetal com potencial para reduzir danos oxidativos decorrentes do déficit hídrico induzido por polietilenoglicol, utilizando plantas de tomate como modelo experimental.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

a). Avaliar a resposta da inoculação de diferentes bactérias associativas isoladas de espécies arbóreas nativas da Mata Atlântica no desenvolvimento inicial de plantas de tomate cultivadas sob diferentes níveis de déficit hídrico induzido por polietilenoglicol (PEG).

b) Determinar a atividade das enzimas peroxidase e superóxido dismutase em plântulas de tomate cultivadas sob diferentes níveis de déficit hídrico induzido PEG.

c) Determinar os níveis de peróxido de hidrogênio e proteínas totais em tecidos aéreos de plântulas de tomate cultivadas sob diferentes níveis de déficit hídrico induzido PEG.

d) Selecionar estirpes candidatas ao desenvolvimento de bioinsumo voltado à indução de tolerância de plantas contra danos oxidativos causados pelo déficit hídrico.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 TOMATE

O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cientificamente é classificado como uma frutífera, pertencente à família Solanaceae. É uma das olerícolas mais cultivadas do mundo ao lado da batata. Possui ampla distribuição geográfica, estando presente em diversas condições ambientais (SINGH *et al.*, 2018).

O tomateiro é originário da região Andina da América do Sul. A cultura foi introduzida na Europa no século XVI, e posteriormente se espalhou para a área do Mediterrâneo. Por meio do melhoramento genético houve um aumento no desenvolvimento de diferentes cultivares (ALSAMIR *et al.*, 2021). Atualmente existem mais de 3.000 espécies de tomates no mundo todo, sendo a espécie *Solanum lycopersicum* L. a mais amplamente utilizada. Esse fruto é considerado uma ótima fonte de minerais e vitaminas (vitaminas do tipo C e E), licopenos, ácido fólico, flavonoides e betacaroteno (SINGH *et al.*, 2018).

Os principais produtores de tomate no mundo hoje são a China, com uma produção de mais de 60 mi de toneladas no ano de 2019, seguido da Índia, Turquia e Estados Unidos (PANNO *et al.*, 2021). Além de ser um grande consumidor de tomate, o Brasil é o 5º maior produtor mundial da cultura (EMBRAPA, 2022).

O tomateiro é uma planta de crescimento rápido, no qual o seu período de crescimento varia de 90 a 150 dias. Esse fruto tem a característica de ser indiferente ao fotoperíodo, ou seja, floresce independente do período luminoso. Portanto, o tomateiro não responde significativamente ao fotoperíodo, no qual esse se desenvolve bem tanto em condições de dias curtos ou de dias longos. A temperatura diária ideal para o crescimento do tomate é de 18 a 25°C e a noturna é de 10 a 20°C (FAO, 2023).

O tomate pode ser cultivado tanto em condições de campo aberto como em condições protegidas, em solo ou meios sem solo (SINGH *et al.*, 2017). Apesar da facilidade em se cultivar essa cultura, a produção de tomate enfrenta diversas dificuldades, como por exemplo altas temperaturas, estresse hídrico, solos secos e ácidos (SINGH *et al.*, 2018).

O tomate é uma planta modelo de grande significância na pesquisa. Em um estudo feito por Liang *et al.* (2020), com objetivo de verificar e fornecer informações úteis sobre a resistência e os mecanismos de defesa de plantas ao

estresse hídrico, usaram o tomate como modelo. Segundo os autores, em relação a atividade enzimática, conforme a severidade da seca a qual as plantas eram submetidas aumentava, maior era a atividade das enzimas antioxidantes SOD, POD e CAT. Ainda, segundo os mesmos autores, a taxa fotossintética e eficiência no uso da luz foram diminuídas pelo estresse hídrico, o que induz consequentemente a produção de ROS descontrolado. Além disso, a restrição de água sob as plantas pode causar redução da biomassa e menor número de folhas. No estudo feito por Koch *et al.* (2019), onde investigaram os efeitos da seca no crescimento foliar do tomateiro em diferentes escalas, perceberam que o número de folhas no tomate foi reduzido pela diminuição no teor de água do solo. Foram observadas 11 folhas quando as plantas estavam sob 1,6 g H₂O g⁻¹ de solo seco, 10 folhas quando as plantas foram cultivadas sob 0,6 g H₂O g⁻¹ de solo seco e 9,5 folhas quando o teor de água do solo estava severamente reduzido, diminuindo, consequentemente a biomassa fresca da planta.

O uso de bactérias promotoras de crescimento vem sendo muito utilizado para diminuir ou atenuar os danos causados pelo estresse biótico e abiótico de diferentes culturas e plantas. Dessa forma, nas duas últimas décadas, diferentes grupos de pesquisas começaram a usar cepas de bactérias promotoras de crescimento para diminuir os estresses ambientais de plantas (SINGH *et al.*, 2018).

3.2 BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO

A rizosfera, também chamada de “zona de raiz”, é a área próxima à região das raízes. É a região de solo a uma distância de 1 a 3 mm das raízes das plantas (QU *et al.*, 2020). Consiste em um dos ecossistemas mais complexos da terra, onde há milhões de células microbianas. Essa diversidade de microrganismos presentes é determinada por alguns fatores, como o estágio de desenvolvimento da planta, genótipos e o ambiente do solo (FIELDS; FRIMAN, 2022). Nessa região ocorre a interação entre microrganismos do solo com a planta em si. Essa interação pode ser considerada benéfica, visto que os microrganismos acabam influenciando positivamente as plantas e esses acabam se beneficiando dos exsudatos radiculares que são secretados pelas raízes (FIELDS; FRIMAN, 2022).

O microbioma de uma planta, de forma geral, consiste em bactérias fixadoras de nitrogênio, fungos micorrízicos, rizobactérias promotoras de

crescimento de plantas (PGPB), arqueas, actinomicetos, protozoários e nematóides. Os fungos presentes no microbioma da rizosfera geralmente são saprófitos e mutualistas, enquanto as bactérias são decompositoras e litotróficas (MENDES *et al.*, 2013). Além disso, o microbioma de uma planta possui organismos patogênicos. De acordo com estudos feitos com o uso do sequenciamento do gene 16S rRNA, o microbioma central de uma planta é composto principalmente por bactérias (MOHANRAM; KUMAR, 2019). Essa diversidade microbiana é consequência de uma seleção natural, e embora exista conhecimento sobre como os microrganismos evoluem rapidamente em laboratório, ainda há muito o que se entender sobre como esses microrganismos se adaptam em ambientes naturais e em microbiomas (FIELDS; FRIMAN, 2022).

As bactérias promotoras de crescimento de plantas ou plant growth-promoting bacteria (PGPB) são microrganismos presentes principalmente na rizosfera de plantas. Essas bactérias melhoram o crescimento de plantas, ajudando-as lidar com estresses bióticos e abióticos (PURI *et al.*, 2020). Os grupos principais de PGPB são do filo Proteobacteria e Firmicutes. No filo Proteobacteria, os gêneros mais conhecidos são *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Serratia*, *Pantoea*, *Psychrobacter*, *Enterobacter* e *Rahnella*. Enquanto no filo Firmicutes o gênero *Bacilos sp.* são as bactérias mais predominantes (BATISTA *et al.*, 2018).

Existem dois mecanismos pelos quais as PGPB induzem o crescimento de plantas: direto e indireto. Os mecanismos diretos são aqueles onde as bactérias facilitam a aquisição de recursos pelas plantas, como nutrientes e água, e inclui também a modulação dos níveis de hormônios vegetais (VURUKONDA *et al.*, 2018). Os mecanismos diretos mais conhecidos de PGPB são: fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fosfato, produção de sideróforos e fito-hormônios.

O nitrogênio é um elemento de extrema importância para o crescimento dos vegetais (presente em ácidos nucleicos, proteínas e enzimas). O nitrogênio disponível na atmosfera é inacessível para as plantas e animais, e para que seja absorvido pelas raízes das plantas, o gás nitrogênio (N₂) precisa ser convertido em amônia (NH₃). Essa conversão é realizada pelas bactérias fixadoras de nitrogênio, no ciclo do nitrogênio. PGPB fixadoras de nitrogênio possuem a enzima nitrogenase, que transforma N₂ em NH₃, que posteriormente será

convertida em outras formas e absorvido pelas raízes de plantas (CHANDRAN *et al.*, 2021).

Outro mecanismo direto de PGPB é a solubilização de fosfato. O fósforo é outro elemento de grande importância para o crescimento das plantas, pois influencia os processos metabólicos, a transdução de sinais, fotossíntese e a biossíntese de macromoléculas (RAMAKRISHNA *et al.*, 2019). Acontece que mais de 90% do fósforo disponível no solo para as plantas é insolúvel, e nesse caso, sendo impossibilitado de ser absorvido. Existem bactérias promotoras de crescimento que possuem a capacidade de converter o fósforo insolúvel em fósforo solúvel pela presença da enzima fosfatase, que lhes confere a capacidade de solubilizar fósforo inorgânico em íons monobásicos ou dibásicos (CHANDRAN *et al.*, 2021). PGPB solubilizam e mineralizam fosfato, sintetizando ácidos orgânicos de baixo peso molecular (ácido glucônico e ácido cítrico).

O ferro é um elemento necessário na biossíntese da clorofila, fotossíntese e respiração das plantas. O ferro existe no solo de forma abundante, apesar disso, na forma insolúvel e sendo assim, indisponível para os vegetais. Com o objetivo de sequestrar e solubilizar o ferro do solo, PGPB produzem algumas moléculas quelantes, como os sideróforos (SAYYED *et al.*, 2018). Sideróforos são moléculas quelantes que tem função de sequestrar o ferro (Fe_3^+) do solo e levar para dentro das células bacterianas. Quando as bactérias liberam os sideróforos, esses quelam o íon férrico (Fe_3^+) que é transferido para a superfície da célula onde é reduzido ao íon ferroso solúvel (Fe_2^+). Sendo assim, bactérias produtoras de sideróforos tem relevância na nutrição de plantas (LOPES *et al.*, 2021).

Os fito-hormônios, também conhecidos como reguladores de crescimento de plantas, podem ser sintetizados por plantas ou bactérias. Essas substâncias regulam o crescimento da planta, atuando no tempo de floração, senescência e crescimento de sementes (KHOSHURU *et al.*, 2020). Além disso, podem influenciar vários processos fisiológicos, como a divisão celular, resposta ao estresse e expressão gênica. Os fito-hormônios também estimulam o crescimento de “pelos” radiculares, e como consequência, as plantas conseguem aumentar sua área de superfície radicular, aumentando também a sua capacidade de absorção de água e nutrientes (CHANDRAN *et al.*, 2021). Um exemplo de fito-hormônio produzido de forma natural por bactérias é a

auxina ou ácido indol-3-acético (IAA), que induz a divisão e diferenciação celular, estimula a germinação de sementes, controla o crescimento vegetativo, induz a tolerância a fatores estressantes, entre outros (PATHANIA *et al.*, 2020).

Dentre os mecanismos indiretos das PGPB, que promovem o crescimento de plantas de forma indireta estão a indução de tolerância de plantas ao estresse ambiental, produção de osmólitos, e a atuação como agentes de biocontrole (VURUKONDA *et al.*, 2018). O biocontrole é realizado pela supressão de patógenos das plantas a partir da produção de enzimas líticas (celulase, protease, quitinase e β -1,3- glucanase), por ex. que tem a função de degradar as paredes celulares das células dos patógenos (PURI *et al.*, 2020). As PGPB podem também produzir antibióticos que atuam como biocontrole. Alguns desses compostos antibióticos são: pirrolnitrina, oomicina, anfisina, lipopeptídeos cíclicos, fenazina, tropolona, tensina, xantobacina etc. (PATHANIA *et al.*, 2020). Além disso, as PGPB competem com outros microrganismos que são nocivos para as plantas. Em um estudo feito com a cultura do tomate, foi observado que os sintomas patogênicos do tomate podem ser controlados com o tratamento da bactéria *Esfingomona ssp.*, que inibe o crescimento de bactérias patogênicas *Pseudomonas syringae* (INNEREBNER *et al.*, 2011).

Cada vez mais as plantas estão expostas a condições de estresse ambiental, prejudicando seu crescimento e produtividade. PGPB induzem a produção de osmólitos (prolina, trealose, poliaminas e betaínas) no citoplasma das células vegetais, favorecendo a manutenção do seu turgor natural, e a maior tolerância a seca em plantas (KHOSHURU *et al.*, 2020). A prolina é um aminoácido que atua como um osmorregulador em vegetais expostos ao estresse. Quanto maior a concentração de prolina na planta, maior a tolerância dessas ao estresse (CHANDRAN *et al.*, 2021). Em condições estressantes, PGPB podem induzir a produção e o aumento da atividade de enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase, catalase e peroxidases, aumentando a tolerância da planta ao estresse. Esse aumento da atividade de algumas enzimas ocorre pela indução das vias enzimáticas provindos da inoculação com bactérias promotoras de crescimento vegetal. A interação que ocorre entre a bactéria e a planta garante um equilíbrio homeostático entre ROS e o sistema antioxidante, aumentando assim, a tolerância da planta ao estresse

(SHAFFIQUE *et al.*, 2022). Algumas bactérias como *Pseudomonas fluorescens* promovem a tolerância da planta ao estresse hídrico graças ao aumento da atividade da enzima peroxidase (POD) e superóxido dismutase (SOD) (LOPES *et al.*, 2021).

Tallapragada *et al.* (2016) em seu trabalho com o objetivo de diminuir o estresse hídrico em tomate, realizaram a aplicação de bactéria promotora de crescimento *Burkholderia* sp. e micorrizas. De acordo com os autores, apesar do estresse hídrico dificultar o crescimento da planta e consequentemente gerar menor biomassa fresca, a inoculação de *Burkholderia* sp. no tomate aumentou significativamente a biomassa vegetal das plantas em comparação as não inoculadas. Em relação a atividade antioxidante, a produção de peroxidases (POD) foi maior nas plantas inoculadas com PGBP do que nas plantas inoculadas com micorrizas. Ainda, segundo os mesmos autores, a aplicação de PGPB e micorrizas no tomateiro aumentou significativamente a biomassa da planta, comprimento de raiz, comprimento de parte área e alta atividade de enzimas antioxidantes, sugerindo tolerância contra o estresse hídrico por microrganismos.

Tabela 1 – Principais mecanismos de promoção do crescimento vegetal e gêneros de bactérias que se utilizam dos respectivos mecanismos para promover o crescimento das plantas.

MECANISMOS	GÊNERO DE PGPB
Fixação de nitrogênio	<i>Bacillus, Rhizobium, Azotobacter, Azospirillum, Burkholderia, Frankia</i>
Solubilização de fosfato	<i>Arthrobacter, Burkholderia, Enterobacter, Pseudomonas, Bacillus, Erwinia, Rhizobium, Flavobacterium, Rhodococcus, Serratia</i>
Produção de sideróforos	<i>Pseudomonas, Bacillus, Rhizobium, Azotobacter, Enterobacter, Serratia</i>
Produção de fito-hormônios	<i>Rhizobium, Bradyrhizobium, Mesorhizobium, Bacillus, Pantoea, Arthrobacter, Pseudomonas, Enterobacter, Burkholderia, Agrobacterium, Xanthomonas, Azospirillum</i>
Biocontrole	<i>Pseudomonas, Bacillus, Trichoderma</i>
Tolerância ao estresse	<i>Pseudomonas, Bacillus, Pantoea, Burkholderia, Rhizobium</i>
Produção de osmólitos	<i>Bacillus, Ochrobactrum, Pseudomonas</i>

Fonte: Adaptado de Vurukonda *et al.* (2018).

3.3 ROS E O PAPEL DAS ENZIMAS ANTIOXIDANTES

Devido as mudanças climáticas globais, cada vez mais as plantas vêm passando por estresses abióticos, como seca, salinidade e metais pesados. Sob estresse hídrico, as plantas são afetadas severamente, principalmente em seu crescimento e produtividade. A diminuição de água leva o fechamento de estômatos e prejudica o crescimento vegetal (GHOSH *et al.*, 2021). Conseqüentemente, tem-se uma menor biomassa vegetal, que acarreta a diminuição da respiração e fotossíntese celular, prejudicando todo o metabolismo da planta. Outra consequência negativa do estresse hídrico é a redução do oxigênio molecular e a produção em excesso de espécies reativas

de oxigênio (ROS) que danificam as células, causando o estresse oxidativo (FURLAN *et al.*, 2020).

Espécies reativas de oxigênio (ROS) são produzidas naturalmente pelo metabolismo celular das plantas, e apesar disso, possuem papel duplo e conflitante (MUSHTAQ *et al.*, 2020). Apesar de serem os principais reguladores de vários processos biológicos (proliferação, desenvolvimento, diferenciação, aclimatação, defesa e vias de morte celular), são compostos tóxicos para as células que quando em altas concentrações podem desencadear a oxidação descontrolada de membranas, a destruição do DNA e proteínas, além de danificar carboidratos, lipídios etc. (HASANUZZAMAN *et al.*, 2020).

As células dos vegetais geram ROS por diferentes vias, a depender do tecido da planta, do estágio de desenvolvimento e das condições externas as quais o vegetal está exposto (JANKŮ *et al.*, 2019). Cloroplastos, mitocôndrias, apoplastos, membranas plasmáticas e peroxissomos são os locais onde ROS são produzidos. Entre esses, o cloroplasto é o local principal (HASANUZZAMAN *et al.*, 2020). NAPH oxidases localizadas na membrana plasmática e as peroxidases de fenóis são as principais vias envolvidas na produção de ROS na planta (SACHDEV *et al.*, 2021). Além disso, as formas reativas de oxigênio são produzidas no centro de reação de I e II dos cloroplastos (SACHDEV *et al.*, 2021).

As principais espécies reativas de oxigênio (ROS) são o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), superóxido (O_2^-), oxigênio singlete (1O_2) e o radical hidroxila (-OH). Esses compostos são produzidos como subprodutos do metabolismo da planta (CASTRO *et al.*, 2021).

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é considerado uma espécie reativa de oxigênio mais estável, sendo o menos reativo. Naturalmente o H_2O_2 é produzido durante o transporte fotossintético de elétrons, na respiração mitocondrial e nos peroxissomos durante a fotorrespiração (KERCHEV; VAN BREUSEGEM, 2021). O H_2O_2 pode se difundir pelas membranas lipídicas através de canais de aquaporinas. Estudos demonstram que em plantas o transporte de H_2O_2 pode ocorrer por homólogos de aquaporina e pela proteína do tonoplasto (TIP). O excesso de H_2O_2 causa autofagia dos cloroplastos e dos peroxissomos, além de desencadear morte celular programada em plantas (JANKŮ *et al.*, 2019). Além disso, H_2O_2 em excesso oxida aminoácidos como a cisteína e a metionina, além

de oxidar enzimas do ciclo de Calvin (MUSHTAQ *et al.*, 2020). O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) desempenha papel biológico muito importante, como a transdução de sinais de defesa em plantas. Também participa de reações catalíticas das enzimas peroxidases. Estudos demonstram que a inativação de peroxidases na célula se dá pela alta concentração ou excesso de H_2O_2 no meio da reação. Dessa forma, para manter a integridade de peroxidases é importante manter H_2O_2 em baixas concentrações nas células (SELLAMI *et al.*, 2022).

O radical superóxido é a primeira espécie reativa de oxigênio no qual esse pode sofrer reações seguidas, gerando outros tipos de ROS mais tóxicos (MUSHTAQ *et al.*, 2020). O oxigênio singlete é produzido no cloroplasto, através da reação entre a clorofila e o oxigênio molecular. Essa espécie reativa de oxigênio causa danos severos no fotossistema I e II, além de causar danos no DNA, proteínas e lipídios (MUSHTAQ *et al.*, 2020).

Após a indução de seca em plantas de arroz por 8 dias, Saha *et al.* (2018) constataram que o estresse hídrico aumentou a presença de H_2O_2 duas vezes mais do que o controle. Condições de seca severa (déficit hídrico de 75%) aumentou severamente a quantidade de H_2O_2 em plantas de milho (HASANUZZAMAN *et al.*, 2020).

Em outro estudo, Malhotra *et al.* (2017), suspenderam a irrigação no tomate por 6 dias, resultando em um aumento de 39% de ROS. Hasanuzzaman *et al.* (2019) investigaram o efeito do estresse hiperosmótico em *Brassica napus L.* com o uso de 10% e 20% de polietileno glicol (PEG). Constataram que houve um aumento de H_2O_2 sob o estresse osmótico. Sendo assim, o estresse hiperosmótico induziu maior acúmulo de H_2O_2 nas plantas, com maior peroxidação da membrana quando comparado ao controle.

Enquanto Abbas *et al.* (2018) observaram altos teores de H_2O_2 em trigo quando cultivado em condições de déficit hídrico (70% da capacidade de campo). Rady *et al.* (2020) observaram um aumento de H_2O_2 em 37% a mais nas plantas *Solanum lycopersicum* submetidas a seca quando comparado ao controle.

Filippou *et al.* (2011) constataram um aumento significativo de H_2O_2 em plantas de *Medicago truncatula* sob condições de seca. Em outro estudo, Kusvuran e Dasgan (2017) compararam dois genótipos de *Phaseolus vulgaris* (Bn-150 tolerante a seca) e Bn-16 (sensível a seca). Os dois genótipos foram

submetidos a condições de estresse hídrico (50% capacidade de campo por 14 dias), no qual foi constatado que o genótipo Bn-16 apresentou conteúdo duas vezes maior de H₂O₂ quando comparado ao genótipo Bn-150.

Diversas proteínas presentes nas células vegetais são vulneráveis ao estresse oxidativo, acarretando sua inativação e degradação. Dessa forma, um dos principais indicativos do estado fisiológico de uma planta é o teor de proteína total, no qual a síntese de proteínas em plantas é diretamente afetada por estresses ambientais. O estresse ambiental pode provocar mudanças nos teores proteicos e na atividade enzimática, causando danos no crescimento e desenvolvimento vegetal. Sendo assim, concentrações elevadas de ROS pode quebrar cadeias peptídicas, alterar cargas elétricas de proteínas etc. (AL-ALOOSY *et al.*, 2019). A produção de osmorreguladores como as proteínas solúveis totais estão diretamente relacionadas com a absorção e assimilação de água pelas plantas. É por isso que o estresse oxidativo resulta em dano oxidativo, pois as espécies reativas de oxigênio têm a capacidade de oxidar os resíduos de aminoácidos de proteínas. Dessa forma, a tolerância ao estresse oxidativo pode ser alcançada pela eliminação dos excessos de ROS através das enzimas antioxidantes (KERCHEV; VAN BREUSEGEM, 2021).

Ao longo da evolução, as plantas desenvolveram mecanismos de defesa para eliminar as espécies reativas de oxigênio (ROS) que podem causar danos oxidativos em seu metabolismo (HINAL *et al.*, 2022). A superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), glutathione redutase (GR) e peroxidase (POX) compreendem o sistema antioxidante enzimático das plantas. Existem ainda o sistema antioxidante não enzimáticos, como as vitaminas, os flavonoides, os carotenoides e os estilbenos, que em casos necessários também conseguem diminuir o excesso de ROS nas células vegetais, impedindo assim o estresse oxidativo (SACHDEV *et al.*, 2021).

As SODs dos vegetais são divididas em três grandes grupos, a depender dos cofatores metálicos presentes em seu sítio catalítico: ferro SOD (FeSOD), presentes nos cloroplastos, manganês (MnSOD), presentes nas mitocôndrias e cobre-zinco (Cu-ZnSOD) presentes no citosol, cloroplastos e apoplastos (TOUNSI *et al.*, 2022). A principal função da enzima superóxido dismutase é processar o $\cdot\text{O}_2$ (superóxido), um poderoso agente oxidante, para H₂O₂ (DVOŘÁK *et al.*, 2020).

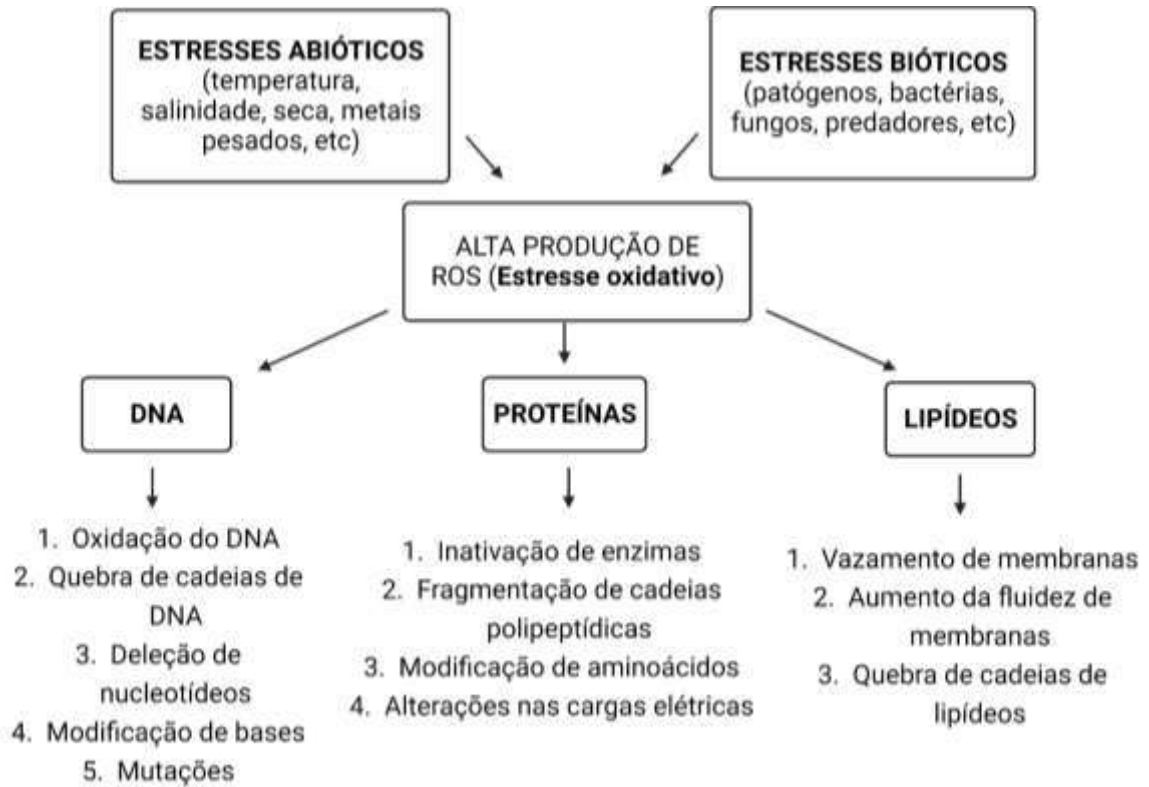
As catalases (CATs) são enzimas localizadas no citosol e nos peroxissomos que possuem a principal função em converter o peróxido de hidrogênio em O₂. Possui alta taxa de conversão, podendo converter 6.000.000 de moléculas de H₂O₂ para água e O₂ em 1 minuto. Enquanto a Peroxidase (POD) é uma oxirredutase, que possui capacidade de estimular a conversão do peróxido de hidrogênio em água, atuando através da oxidação de substâncias doadoras de hidrogênio (fenóis, aminas aromáticas, hidroquinona etc.). As peroxidases decompõem diversos peróxidos (comumente conhecido como peróxido de hidrogênio) com objetivo de oxidar substratos orgânicos e inorgânicos (CHALLABATHULA *et al.*, 2022).

Pesquisas recentes demonstram o papel importante das enzimas antioxidantes na indução de plantas a tolerância a seca (KERCHEV; VAN BREUSEGEM, 2021). Por exemplo, de acordo com estudos feitos por Cunha *et al.* (2019) a superexpressão de enzimas superóxido dismutase (SOD) em batata conferiu-lhe mais resistência e tolerância à seca. Wang *et al.* (2005) constataram bom desempenho em plantas de arroz geneticamente modificadas com MnSOD sob estresse hídrico por polietilenoglicol. Em outro estudo feito por Wang *et al.* (2016), foi demonstrado que plantas de trigo com superexpressão de superóxido dismutase Cu/Zn no citosol conferiu tolerância ao estresse salino e consequentemente redução no estresse oxidativo da planta. De acordo com estudos feitos por Negi *et al.* (2015) e Prashanth *et al.* (2007), plantas *Avicennia marina* (mangue cinza), *Arachis hypogaea* (amendoim), *Oryza sativa* (arroz) e *Nicotiana tabacum* (tabaco) obtiveram maior tolerância a seca e consequentemente maior resistência ao estresse oxidativo devido a superexpressão de superóxido dismutase Cu/Zn (KERCHEV; VAN BREUSEGEM, 2021).

Zhang *et al.* (2020) inocularam *Pseudomonas lini* e *Serratia plymuthica* em *Ziziphus jujuba*, e observaram o aumento significativo na produção das enzimas antioxidantes SOD e POD, melhorando assim a resistência ao estresse oxidativo das plantas. Outro estudo feito por Chiappero *et al.* (2019) constataram aumento das enzimas peroxidase (POD) e superóxido dismutase (SOD) em *Mentha piperita* quando inoculadas com cepas de *Pseudomonas fluorescences* e *Bacillus amyloliquefaciens* sob estresse hídrico. Vaishnav *et al.* (2020) relataram aumento da atividade das enzimas antioxidantes POD e SOD em

plantas de tomates inoculadas com cepas PGPR e submetidas ao estresse salino.

Figura 1 – Danos oxidativos causados por EROS



Fonte: Próprio Autor, 2023.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL VEGETAL

Foram utilizadas sementes de tomate IPA 6 ISLA, lote 153203, com germinação 88% e pureza 98,2%. O ciclo dessa cultivar é de 115 dias (verão), com frutos tipo globular e crescimento determinado. Possui resistência ou tolerância a *Fusarium*, *Verticillium*, nematoide e rachadura dos frutos ou cracking.

4.2 BACTÉRIAS UTILIZADAS

Foram utilizadas 10 estirpes bacterianas provenientes de uma coleção obtida da rizosfera de duas espécies arbóreas nativas da Mata Atlântica (*Cecropia pachystachya* e *Cariniana estrellensis*) (CARNEIRO, 2022). As estirpes utilizadas foram selecionadas a partir do conjunto de características bioquímicas indicadoras de seu potencial de promoção do crescimento de plantas (produção de auxinas, crescimento sob estresse osmótico e produção de sideróforos). As estirpes utilizadas e as respectivas características de promoção estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2. Estirpes bacterianas utilizadas neste estudo e respectivas características bioquímicas relacionadas com a promoção do crescimento vegetal.

[Identificação]	[Origem]	Crescimento em 45% de PEG	Produção de Auxina	Formação de Biofilme ¹	Capacidade de Sol. Fosfato ²	Biossíntese de Sideróforos ³
B1 – <i>Mucilaginibacter</i> sp. (3)	<i>C. estrellensis</i>	SIM	SIM	0,459	4,5	ND
B2 – <i>Bacillus</i> sp. (112 R1)	<i>C. pachystachya</i>	SIM	SIM	0,417	2,5	0,4
B3 – <i>Bacillus</i> sp. (105)	<i>C. pachystachya</i>	SIM	SIM	ND	ND	ND
B4 – <i>Mesorhizobium</i> sp. (98)	<i>C. pachystachya</i>	SIM	SIM	ND	ND	0,5
B5 – <i>Herbaspirillum</i> sp. (114)	<i>C. estrellensis</i>	SIM	SIM	ND	ND	ND
B6 – <i>Trinickia</i> sp. (24)	<i>C. estrellensis</i>	SIM	SIM	0,282	4,1	ND
B7 – <i>Bacillus</i> sp. (4)	<i>C. pachystachya</i>	SIM	SIM	0,616	ND	ND
B8 – <i>Bacillus</i> sp. (145)	<i>C. pachystachya</i>	SIM	SIM	ND	2,1	ND
B9 – <i>Mucilaginibacter</i> sp. (45)	<i>C. estrellensis</i>	SIM	SIM	0,65	ND	ND
B10 – <i>Bacillus</i> sp. (8)	<i>C. pachystachya</i>	SIM	SIM	ND	ND	ND

[Identificação], estirpes utilizadas nesse estudo: B1 – B10. [Origem], rizosfera das arbóreas *Cariniana estrellensis* e *Cecropia pachystachya*. Crescimento sob 45% de polietilenoglicol em placas de petri. Produção de auxina: análise qualitativa. ^{1,3} – Valor de absorvância, ² – Razão do diâmetro da colônia

4.3 PREPARO DAS SEMENTES E DESENHO EXPERIMENTAL

As sementes foram esterilizadas superficialmente por imersão em solução de hipoclorito de sódio 12% por 3 minutos, seguida de 3 lavagens com água destilada (RUBIM *et al.*, 2010). Duas sementes superficialmente esterilizadas foram adicionadas a cada um dos tubos de ensaio (falcons de 50 mL) preenchidos com 35 mL de solução ágar-água (1,5% de ágar em água destilada), ou preenchido com a mesma solução adicionada de diferentes concentrações de polietileno glicol (PEG 8000) 25% e 50% g L⁻¹ de PEG. As concentrações de PEG foram definidas com base no ensaio de caracterização dos isolados. O polietilenoglicol (PEG) vem sendo usado com sucesso em muitos trabalhos de pesquisa para simular efeitos de déficit hídrico em plantas, principalmente por não penetrar nas células, não ser degradado e não causar toxidez, graças ao seu alto peso molecular (HASEGAWA *et al.*, 1984).

Ao final, cada estirpe bacteriana foi avaliada sob três concentrações de PEG, totalizando 40 tratamentos de inoculação; um tratamento adicional (controle) foi preparado nas mesmas condições dos tratamentos de inoculação (diferentes concentrações de PEG). O experimento foi conduzido sob delineamento experimental fatorial (11 x 4) com 12 repetições, totalizando 528 tubos de ensaio.

4.4 PREPARO DO INÓCULO E CONDUÇÃO DO ENSAIO

Cada uma das 10 PGPB utilizadas foi cultivada em 5 mL de meio Dygs líquido (2g de glicose, 1,5 g de peptona, 2 g de extrato de levedura, 0,5 g de KH₂PO₄, 0,6 g de MgSO₄ para 1 L de H₂O, pH 6,8) e a partir de 200 µl do respectivo material crio preservado. Os cultivos foram realizados sob agitação orbital (240 rpm) a 28 °C por 24 horas.

Previamente à semeadura, 1200 sementes de tomate esterilizadas superficialmente foram distribuídas em 10 placas de Petri (120 sementes em cada placa), e imersas nos inóculos preparados como descrito anteriormente. Após 15 minutos de imersão, as sementes foram removidas das placas de Petri e transferidas para os tubos de ensaio preparados com a solução de ágar-água nas diferentes concentrações de PEG (0%, 25%, e 50%).

Os falcons semeados e inoculados foram mantidos fechados com papel filme e levados a uma câmara de crescimento com temperatura (25 °C dia/22 °C

noite), luminosidade (16 horas de fotoperíodo, com lâmpadas brancas, incandescentes e fluorescentes) e umidade (80 % UR) controladas, onde permaneceram por 30 dias até a germinação da plântula, emissão de raiz e formação do primeiro par de folhas.

Após 30 dias nestas condições, as plantas foram removidas dos tubos de ensaio, congeladas em nitrogênio líquido (N₂) e armazenadas a -80 °C, até o momento de seu uso para determinações de atividade enzimática, como descrito a seguir.

4.5 DETERMINAÇÃO DO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO

Para a determinação do peróxido de hidrogênio seguiu-se a metodologia de Gay *et al.* (1999). As folhas foram coletadas e 100 mg do tecido vegetal foi macerado em nitrogênio líquido e imediatamente transferido para um tubo de ensaio. Ao macerado, 1 mL de solução de ácido tricloroacético (TCA 0,2% em metanol foi adicionada e a suspensão homogeneizada por inversão dos tubos. Após isso, as suspensões foram centrifugadas a 12.000 rpm por 5 minutos e reservadas (denominadas de extrato bruto). A determinação da concentração de H₂O₂ nos extratos brutos foi realizada em alíquotas de 100 µL, adicionadas de 400 µL de iodeto de potássio (KI) e 100 µL de tampão de fosfato de potássio 0,1 M pH 7,5. As reações foram homogeneizadas por agitação leve e mantidas em banho de gelo por 60 min no escuro. Alíquotas de 200 µL das reações foram transferidas para microplacas e levadas a determinação da absorbância 390 nm em leitora de microplacas SpectraMax Plus 384. A calibração do equipamento (branco) foi feita com a substituição do extrato bruto por água destilada. A quantificação da concentração de H₂O₂ foi obtida com o auxílio de uma curva padrão de peróxido de hidrogênio em diferentes concentrações (50, 100, 200, 300, 400 e 500 nmol H₂O₂ mL⁻¹).

4.6 DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS TOTAIS

A determinação de proteínas totais solúveis foi feita pelo método de Bradford (1976) em alíquotas de 500 µl do extrato bruto (folhas) adicionadas de 2,5 mL da solução de Bradford. Para o branco foi usado 500 µl de H₂O e 2,5 mL de solução de Bradford. Após 15 minutos de reação, a leitura das amostras foi feita a 595 nm em espectrofotômetro. A quantificação do teor de proteínas foi obtida com auxílio de uma curva padrão de caseína, em diferentes concentrações (100, 200, 300, 400 e 500 µg mL⁻¹).

4.7 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DE PEROXIDASE (POD)

Para determinar a atividade da enzima peroxidase foi usado o protocolo de Peixoto *et al.* (1999). A atividade da enzima foi determinada pela diluição de 50 µl do extrato bruto (folhas) em 1960 µl de tampão de reação fosfato de potássio 25 mM. Após a incubação por 1 minuto, foi adicionado 200 µl de H₂SO₄ (ácido sulfúrico concentrado) para interromper a reação. A leitura da absorbância foi feita a 420 nm em um espectrofotômetro e a determinação da atividade enzimática foi realizada com base no coeficiente de extinção molar de 2,47 mM⁻¹ cm⁻¹. Para calcular a atividade de POD, foram utilizadas algumas variáveis, como: o volume da cubeta, o volume do tampão de extração e o volume do extrato bruto. A atividade da enzima foi corrigida pela massa fresca.

4.8 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DE SUPERÓXIDO DISMUTASE (SOD)

Para determinar a atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) foi utilizado o protocolo de Giannopolitis e Ries (1977). Foram utilizados 50 µl de extrato bruto (folhas) adicionado em volume padronizado para cada amostra, uma solução tampão fosfato de potássio 50 mM contendo riboflavina, EDTA cloreto de azul nitrotetrazólio (NBT). Os tubos denominados “amostra da luz” foram colocados em uma caixa composta por lâmpadas fluorescentes (15 W) a 25°C por 15 minutos, para ocorrer a reação da fotoredução do NBT. Os tubos denominados “branco do escuro” ficaram em uma caixa escura por 15 minutos. Em seguida foi realizado a determinação da atividade de SOD pela leitura espectrofotométrica ($\lambda = 560$ nm). Para determinar a atividade da enzima foi realizada a correção pela massa fresca, no qual 1 unidade (U) de SOD é definida como a quantidade de enzima requerida para inibir 50% da fotoredução do composto NBT.

4.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. As médias foram comparadas pelo teste de Dunn a 5% de probabilidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O efeito dos potenciais PGPB inoculadas no tomate foi avaliado a partir da análise de atributos bioquímicos do tomate (quantificação de proteínas totais, quantificação do conteúdo total de peróxido de hidrogênio, quantificação da atividade de enzimas antioxidantes SOD e POD).

5.1 Determinação do conteúdo de proteínas totais

As proteínas relacionam-se de forma direta com os estresses que a planta sofre, como por exemplo a seca, salinidade, alcalinidade etc. O déficit hídrico pode causar rompimento da membrana e desnaturação das proteínas (ZHANG *et al.*, 2015). Dessa forma, as proteínas possuem papel importante na identificação das defesas da planta para a sua sobrevivência sob estresse (PAL *et al.*, 2016). Por exemplo, em condições de salinidade, o uso de rizobactérias em arroz estimulou a produção de proteínas relacionadas à patogênese (quitinase), aumentando a capacidade de resistência das plantas de arroz ao sal. Logo, sob estresse abiótico observa-se alterações na concentração de algumas proteínas (GARCÍA-CRISTOBAL *et al.*, 2015). O estresse hídrico favorece a ação de enzimas proteolíticas que degradam as proteínas utilizadas pela planta como fonte de reserva, promovendo a redução da concentração de proteínas totais solúveis na planta (NEVES *et al.*, 2012).

Tabela 3 - Conteúdo de proteínas totais expresso em $\mu\text{g mL}^{-1}$ da parte aérea de plântulas de tomate cultivadas sob diferentes concentrações de polietilenoglicol-8000 (PEG) (0%, 25% e 50%) e inoculadas com diferentes bactérias promotoras de crescimento (B1 a B10). O tratamento Controle não recebeu inoculação. Os asteriscos indicam valores diferentes do tratamento Controle de acordo com o teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn ($p < 0.05$). Os resultados são expressos com a média dos tratamentos. O símbolo (–) indica material insuficiente para análise da amostra e, portanto, sem resultado.

PGPB inoculada	[PEG]		
	0%	25%	50%
Controle	1,53	0,5	2,74
B1 – <i>Mucilaginibacter</i> sp. (3)	5,59	0,02	–
B2 – <i>Bacillus</i> sp. (112 R1)	0,18	5,50 *	–
B3 – <i>Bacillus</i> sp. (105)	0,02	5,46 *	0,87

B4 – <i>Mesorhizobium</i> sp. (98)	3,57	0,07	2,64
B5 – <i>Herbaspirillum</i> sp. (114)	2,61	1,96 *	0,9
B6 – <i>Trinickia</i> sp. (24)	0,11	1,17	0,8
B7 – <i>Bacillus</i> sp. (4)	2,1	1,57	0,87
B8 – <i>Bacillus</i> sp. (145)	2,43	0,81	1
B9 – <i>Mucilaginibacter</i> sp. (45)	2,08	1,17	0,64
B10 – <i>Bacillus</i> sp. (8)	2,33	2,43 *	1,03

[PEG], concentração de polietilenoglicol na solução agarizada utilizada como substrato. B0 – B10, estirpes bacterianas utilizadas. C, sem inoculação ou controle. B1, inoculação com Gênero *Mucilaginibacter* sp. estirpe 3. B2, inoculação com Gênero *Bacillus* sp. estirpe 112 R1. B3, inoculação com *Bacillus* sp. estirpe 105. B4, inoculação com *Mesorhizobium* sp. estirpe 98. B5, inoculação com *Herbaspirillum* sp. estirpe 114. B6, inoculação com *Trinickia* sp. estirpe 24. B7, inoculação com *Bacillus* sp. estirpe 4. B8, inoculação com *Bacillus* sp. estirpe 145. B9, inoculação com *Mucilaginibacter* sp. estirpe 45. B10, inoculação com *Bacillus* sp. estirpe 8.

Observando os resultados de proteínas totais ($\mu\text{g mL}^{-1}$) na condição [PEG] 0%, podemos ver que não há diferença significativa entre todos os tratamentos e o controle ($1,5 \mu\text{g mL}^{-1}$), no qual a maioria dos tratamentos obtiveram altos valores de proteínas totais, e o menor valor de proteína encontrado foi para o tratamento inoculado com B3 – *Bacillus* sp. (105) ($0,02 \mu\text{g mL}^{-1}$) que difere do tratamento inoculado com B5 – *Herbaspirillum* sp. (114) ($5,59 \mu\text{g mL}^{-1}$), indicando que o tratamento inoculado com B3 – *Bacillus* sp. (105) está sofrendo algum estresse, e que por não estar sob déficit hídrico, pode ser o efeito da inoculação com a bactéria, visto que esse isolado pode estar competindo com a plântula pela água disponível no meio de cultivo.

Na concentração [PEG] 25%, observa-se que os tratamentos inoculados com B6 – *Trinickia* sp. (24), B7 – *Bacillus* sp. (4), B8 – *Bacillus* sp. (145) e B9 – *Mucilaginibacter* sp. (45) não diferiram significativamente do controle ($0,50 \mu\text{g mL}^{-1}$). O maior conteúdo de proteínas solúveis para essa condição de [PEG] foi o tratamento inoculado com B2 – *Bacillus* sp. (112 R1) com o valor de $5,50 \mu\text{g mL}^{-1}$, indicando ser positivo a inoculação com essa bactéria. Os demais tratamentos não difeririam entre si. O menor teor de proteína encontrado para essa condição de [PEG] foi o tratamento inoculado com B1 – *Mucilaginibacter* sp. (3) com o valor de $0,02 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Enquanto para a condição de déficit hídrico induzido [PEG] 50% observamos que todos os tratamentos também não diferiram do controle ($2,74$

$\mu\text{g mL}^{-1}$). O maior valor encontrado de proteínas totais para essa condição foi o tratamento inoculado com B4 – *Mesorhizobium* sp. (98) com valor de $2,64 \mu\text{g mL}^{-1}$. O menor valor encontrado para a condição de [PEG] 50% foi o tratamento B6 – *Trinickia* sp. (24), com valor encontrado de $0,8 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Ao observamos, para a variável de proteínas solúveis totais, há um padrão de redução dos teores de proteínas solúveis totais no tratamento inoculado com B7 – *Bacillus* sp. (4) em todas as concentrações de [PEG] (0%, 25% e 50%), com valores de $2,10 \mu\text{g mL}^{-1}$, $1,57 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $0,87 \mu\text{g mL}^{-1}$ respectivamente. Provavelmente esse resultado está relacionado ao aumento da atividade de enzimas proteolíticas, que quebram proteínas de reserva nas plantas e conseqüentemente diminui a síntese de proteína, visto que a deficiência hídrica afeta todo o processo bioquímico do vegetal. Sob estresse hídrico, a diminuição da síntese de proteína é uma resposta bioquímica importante na planta como forma de superar o estresse. Uma das causas da diminuição das proteínas solúveis totais em plantas sob estresse hídrico é devido ao declínio na fotossíntese, visto que um dos primeiros mecanismos de defesa sob seca é o fechamento dos estômatos. Além disso, plantas sob condições estressantes inibem a biossíntese de proteínas pela indisponibilidade de matéria prima (SCHELLENBAUM *et al.*, 1998). Outra razão para a diminuição de proteínas solúveis totais em plantas submetidas a seca é a rápida degradação do que a sintetização, visto que a rápida degradação da proteína é consequência de altos teores de H_2O_2 ou ROS que acabam quebrando as cadeias polipeptídicas (KIDOKORO *et al.*, 2009).

Resultado diferente encontrado no trabalho de Batool *et al.* (2020) onde foi avaliada a concentração de proteínas totais em duas cultivares de batata submetidas a seca. De acordo com os resultados, o estresse hídrico resultou em altos teores de proteínas solúveis nas plantas de ambas as cultivares (Santae e PRI-Red). O teor de proteínas solúveis aumentou à medida que o nível de seca aumentou. Inclusive, foi observado maior teor de proteínas solúveis nas plantas inoculadas com bactéria promotora de crescimento do que nas plantas não inoculadas. Os teores de proteínas solúveis aumentaram 25% e 68% nas plantas inoculadas e 20% e 59% nas plantas não inoculadas, demonstrando que a inoculação com as bactérias foi benéfica em manter os maiores teores de proteínas solúveis totais em plantas sob seca.

Enquanto no estudo feito por Oliveira Neto *et al.* (2007), com objetivo de avaliar a influência do estresse hídrico sob teores de proteínas solúveis totais em folhas de teca (*Tectona grandis*), constataram que os teores de proteínas solúveis nas plantas irrigadas foram constantes e com pouca variação, enquanto as plantas sob estresse hídrico houve diminuição drástica nos teores de proteínas solúveis totais (de 47,814 g⁻¹ MS para 2,593 g⁻¹ MF), com um decréscimo de 94,57%, demonstrando que sob condição de déficit hídrico as plantas tendem a diminuir seus teores de proteínas solúveis totais. Em outro estudo, feito por Teixeira *et al.* (2015), onde avaliaram as alterações do metabolismo do nitrogênio em plantas jovens de noni (*Morinda citrifolia*) submetidas a deficiência hídrica, constataram que as plantas que estavam sob déficit hídrico tinham menores teores de proteínas solúveis totais quando comparadas com as plantas que estavam sob irrigação. Uma das respostas da planta para o estresse abiótico como o déficit hídrico é a produção e acúmulo de solutos compatíveis osmoticamente. O impacto do estresse hídrico nas proteínas solúveis da planta é muito evidente. No estudo feito por Bano *et al.* (2013) onde avaliaram os efeitos positivos no crescimento de milho por meio do ajuste osmótico inoculados com *Azospirillum lipoferum* sob restrição hídrica, constataram em seu trabalho a diminuição nos teores de proteínas solúveis totais nos tratamentos que estavam sob restrição hídrica em comparação ao controle. Os controles estavam bem regados e sem inoculação, esses obtiveram os maiores valores de teor de proteínas solúveis totais. Segundo os autores, a inoculação com *Azospirillum lipoferum* reduziu cerca de 21,84% o teor de proteínas nas plantas expostas a seca, demonstrando que mesmo sob inoculação, as plantas sob seca demonstraram os menores teores de proteínas.

5.2 Determinação do conteúdo de peróxido de hidrogênio

O peróxido de hidrogênio é uma das espécies reativas de oxigênio (ROS), sendo produzido de forma natural pelo metabolismo aeróbico por meio da respiração ou fotossíntese. Possui papel duplo e conflitante dentro das plantas, no qual em baixas concentrações atuam como moléculas sinalizadoras, envolvido em processos de aclimatação e defesa, como: fechamento de estômatos, fortalecimento da parede celular, produção de fitoalexinas, atuando também em processos de senescência vegetal (MUSHTAQ *et al.*, 2020). Em

altas concentrações na célula pode causar oxidação de moléculas importantes para o funcionamento vegetal, levando a morte programada em plantas (FURLAN *et al.*, 2020).

Tabela 4 – Conteúdo de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) expresso em µmol g⁻¹ MF da parte aérea de plântulas de tomate cultivadas sob diferentes concentrações de polietilenoglicol-8000 (PEG) (0%, 25% e 50%) e inoculadas com diferentes bactérias promotoras de crescimento (B1 a B10). O tratamento Controle não recebeu inoculação. Os asteriscos indicam valores diferentes do tratamento controle de acordo com o teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn (p<0.05). Os resultados são expressos com a média de 12 repetições.

PGPB inoculada	[PEG]		
	0%	25%	50%
Controle	2,05	1,68	4,88
B1 – <i>Mucilaginibacter</i> sp. (3)	3,25 *	1,72 *	10,57 *
B2 – <i>Bacillus</i> sp. (112 R1)	0,69 *	0,16 *	0,52 *
B3 – <i>Bacillus</i> sp. (105)	0,88 *	10,45 *	3,03 *
B4 – <i>Mesorhizobium</i> sp. (98)	2,27	1,03 *	2,14 *
B5 – <i>Herbaspirillum</i> sp. (114)	0,72 *	0,27 *	0,38 *
B6 – <i>Trinickia</i> sp. (24)	0,14 *	0,14 *	0,79 *
B7 – <i>Bacillus</i> sp. (4)	1,76 *	1,76 *	0,85 *
B8 – <i>Bacillus</i> sp. (145)	2,68 *	2,68 *	0,59 *
B9 – <i>Mucilaginibacter</i> sp. (45)	0,68 *	1,10 *	5,87 *
B10 – <i>Bacillus</i> sp. (8)	2,07	0,28 *	2,55 *

[PEG], concentração de polietilenoglicol na solução agarizada utilizada como substrato. B0 – B10, estirpes bacterianas utilizadas. C, sem inoculação ou controle. B1, inoculação com Gênero *Mucilaginibacter* sp. estirpe 3. B2, inoculação com Gênero *Bacillus* sp. estirpe 112 R1. B3, inoculação com *Bacillus* sp. estirpe 105. B4, inoculação com *Mesorhizobium* sp. estirpe 98. B5, inoculação com *Herbaspirillum* sp. estirpe 114. B6, inoculação com *Trinickia* sp. estirpe 24. B7, inoculação com *Bacillus* sp. estirpe 4. B8, inoculação com *Bacillus* sp. estirpe 145. B9, inoculação com *Mucilaginibacter* sp. estirpe 45. B10, inoculação com *Bacillus* sp. estirpe 8.

Observando a condição [PEG] 0%, apenas o tratamento B4 – *Mesorhizobium* sp. (98) não diferiu do controle. O tratamento inoculado com B8 – *Bacillus* sp. (145) obteve um valor de 2,97 µmol g⁻¹ MF, sendo superior ao controle (2,05 µmol g⁻¹ MF), podendo indicar que a própria inoculação tenha

causado algum estresse, visto que não há restrição hídrica e conseqüentemente não pode ser esse fator como causador do estresse oxidativo na planta. Os tratamentos B4 – *Mesorhizobium* sp. (98) (2,27 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) e B10 – *Bacillus* sp. (8) (2,07 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) ficaram iguais no mesmo grupo, demonstrando não ter diferenças significativas entre si. Os tratamentos inoculados com B9 – *Mucilaginibacter* sp. (45), B6 – *Trinickia* sp. (24), B5 – *Herbaspirillum* sp. (114) e B3 – *Bacillus* sp. (105) obtiveram os menores valores de H_2O_2 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF, respectivamente: 0,68 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF, 0,69 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF, 0,77 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF, 0,72 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF e 0,88 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF, demonstrando ser um ponto positivo para a inoculação com essas bactérias, visto que não demonstraram estresse oxidativo.

Sob [PEG] 25%, todos os tratamentos diferem entre si significativamente pelo teste de Kruskal-Wallis ao nível de 5% de significância, valor de $p < 0,05$ para as médias. Podemos observar que a maior concentração de H_2O_2 na parte aérea de plântulas de tomate foi obtido pelo tratamento inoculado com B3 – *Bacillus* sp. (105), no qual a média foi de 10,54 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF, sinalizando alto estresse oxidativo da planta. Na sequência temos o tratamento inoculado com B8 – *Bacillus* sp. (145), com 2,68 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF, o tratamento inoculado com B7 – *Bacillus* sp. (4) com valor de 1,76 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF e o tratamento inoculado com B1 – *Mucilaginibacter* sp. (3) com valor de 1,72 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF, todos esses, com valores acima do controle (1,68 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF). Quando comparado ao controle, os menores valores obtidos de concentração de H_2O_2 foram os tratamentos inoculados com B6 – *Trinickia* sp. (24), B2 – *Bacillus* sp. (112, R1), B5 – *Herbaspirillum* sp. (98), B10 – *Bacillus* sp. (8) e B4 – *Mesorhizobium* sp. (98), com os seguintes valores, respectivamente: 0,14 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF, 0,16 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF, 0,27 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF, 0,28 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF e 1,03 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF. Para essa concentração, o tratamento inoculado com B6 – *Trinickia* sp. (24) demonstrou o menor valor de concentração de H_2O_2 na planta, indicando indução de tolerância ao déficit hídrico, ponto positivo para a inoculação com essa bactéria.

Em relação ao [PEG] 50%, todos os tratamentos difeririam do controle pelo teste de Kruskal-Wallis, observamos que os níveis de H_2O_2 aumentaram significativamente no controle (4,88 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) indicando que o cultivo sob PEG promoveu estresse na plântula. Nos demais tratamentos (B5 – *Herbaspirillum* sp. (114), B6 – *Trinickia* sp. (24), B7 – *Bacillus* sp. (4) e B8 – *Bacillus* sp. (145)) não houve aumento. O tratamento inoculado com B1 –

Mucilaginibacter sp. (3) e B9 – *Mucilaginibacter* sp. (45) foram os que tiveram mais estresse oxidativo (dano oxidativo) mesmo sob condições de inoculação de bactérias promotoras de crescimento, quando comparado ao controle, indicando que esse gênero de bactéria não promoveu proteção para a planta contra o déficit hídrico sob [PEG] 50%. Observa-se que os tratamentos que tiveram os maiores valores de H₂O₂ (B1 – *Mucilaginibacter* sp. (43) e B9 – *Mucilaginibacter* sp. (45)) são do mesmo gênero de bactéria, indicando um comportamento semelhante das bactérias sob essa condição de déficit hídrico. O menor valor encontrado de H₂O₂ para essa concentração de [PEG] foi o tratamento inoculado com B5 – *Herbaspirillum* sp. (114) (0,38 μmol g⁻¹ MF), demonstrando que para essa concentração de [PEG] a bactéria se mostrou mais eficiente em induzir a tolerância ao déficit hídrico da planta. Esses resultados corroboram com os resultados de H₂O₂ sob [PEG] 25% (Tabela 5) onde o tratamento inoculado com B5 – *Herbaspirillum* sp. (114) teve um menor estresse oxidativo.

Filippou *et al.* (2011) submeteram plantas de *M. truncatula* ao estresse hídrico por 11 dias, e constataram altos valores de H₂O₂ próximos de 6 μmol g⁻¹ MF, demonstrando que as plantas mais estressadas eram as que estavam sob estresse hídrico. No trabalho de Tiepo *et al.* (2018), foram avaliados os efeitos da inoculação com quatro espécies bacterianas (*Azospirillum brasiliense*, *Bacilos* sp, *Azomonas* sp. e *Azorhizophillus* sp.) sobre o crescimento e metabolismo de sementes de espécies arbóreas *Trema micranta* e *Cariniana estrellensis*. Referente aos resultados do dano oxidativo em folhas de *T.micranta* e *C.estrellensis*, no qual essas foram submetidas a seca por 30 dias, os maiores valores de H₂O₂ em folhas foram em mudas sob estresse hídrico em comparação com os tratamentos que ficaram submetidos a rega. Enquanto a inoculação com *Bacillus* sp. induziu valores menores de H₂O₂ nas mudas sob estresse hídrico quando comparado ao controle, em relação as outras bactérias.

Em outro trabalho, de Batool *et al.* (2020) foi avaliada a mudança nas espécies reativas de oxigênio (ROS), incluindo superóxidos e peróxido de hidrogênio em duas cultivares de batata submetidas a seca. De acordo com os resultados, o estresse hídrico resultou em um aumento na produção de superóxido em ambas as cultivares de batata (Santae e PRI-Red). As cultivares que foram inoculadas com bactéria promotora de crescimento (*Bacillus subtilis*) apresentaram menor aumento de superóxido do que as plantas não inoculadas.

Em relação a concentração de H_2O_2 , as plantas de batata (Santae e PRI-Red) inoculadas com *Bacillus subtilis* obtiveram os menores valores para H_2O_2 quando comparado as plantas sem inoculação, e além disso, os maiores valores de H_2O_2 nas plantas foram os tratamentos que estavam sob estresse severo de água. Sob condições de estresse hídrico, a produção de H_2O_2 diminuiu em ambas as cultivares (Santae e PRI-Red). Porém, sob tratamentos de estresse hídrico (estresse moderado e estresse severo), as plantas inoculadas com *Bacillus subtilis* apresentaram menores valores de H_2O_2 quando comparada as plantas sem inoculação. Em estresse moderado e severo, a cultivar de batata Santae apresentou aumentos de 47% e 68% de H_2O_2 quando inoculada, enquanto as plantas sem inoculação apresentaram aumentos de 56% e 75% em comparação as plantas bem irrigadas. A cultivar PRI-Red apresentou aumento para estresse moderado e severo de 55% e 73% de H_2O_2 sem inoculação, e para as plantas inoculadas a diminuição de H_2O_2 foi de 62% e 85% quando comparado ao controle, indicando que a inoculação com bactérias promotoras de crescimento amenizou a produção de ROS em plantas sob estresse hídrico.

Para a variável concentração de H_2O_2 em folhas, os tratamentos inoculados com B5 – *Herbaspirillum* sp. (114), B6 – *Trinickia* sp. (24) e B7 – *Bacillus* sp. (4) demonstraram os menores valores de H_2O_2 nas diferentes concentrações de [PEG]. Entre esses, o tratamento inoculado com B5 – *Herbaspirillum* sp. (114) demonstrou os menores valores de H_2O_2 , sempre valores mais baixos comparados ao controle, em todas as concentrações de [PEG] 0%, 25% e 50%, indicando ser uma bactéria promissora para a indução da tolerância ao estresse oxidativo em plantas submetidas a seca.

5.3 Determinação da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD)

A enzima superóxido dismutase é considerada a primeira linha de defesa da planta contra o estresse oxidativo, convertendo o radical superóxido em peróxido de hidrogênio. Quanto maior a atividade de SOD nas células maior é a proteção conferida pela ação da enzima contra o estresse oxidativo (DVOŘÁK *et al.*, 2020).

Tabela 5 – Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) expressa em $U\ g^{-1}$ MF da parte aérea de plântulas de tomate cultivadas sob diferentes

concentrações de polietilenoglicol-8000 (PEG) (0%, 25% e 50%) e inoculadas com diferentes bactérias promotoras de crescimento (B1 a B10). O tratamento Controle não recebeu inoculação. Os asteriscos indicam valores diferentes do tratamento Controle de acordo com o teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn ($p < 0.05$). Os resultados são expressos com a média dos tratamentos. O símbolo (-) indica material insuficiente para análise da amostra e, portanto, sem resultado.

PGPB inoculada	[PEG]		
	0%	25%	50%
Controle	241,78	55,64	429,96
B1 – <i>Mucilaginibacter</i> sp. (3)	–	–	–
B2 – <i>Bacillus</i> sp. (112 R1)	262,4	248,94	–
B3 – <i>Bacillus</i> sp. (105)	237,8	83,87	176,91 *
B4 – <i>Mesorhizobium</i> sp. (98)	59,20 *	29,69	232,94 *
B5 – <i>Herbaspirillum</i> sp. (114)	7,91 *	224,48	121,76 *
B6 – <i>Trinickia</i> sp. (24)	247,06	249,11 *	252,14
B7 – <i>Bacillus</i> sp. (4)	153,29 *	193,2	181,33 *
B8 – <i>Bacillus</i> sp. (145)	145,38 *	55,06	191,47 *
B9 – <i>Mucilaginibacter</i> sp. (45)	115,03 *	36,93	558,09
B10 – <i>Bacillus</i> sp. (8)	69,04 *	38,62	73,77 *

[PEG], concentração de polietilenoglicol na solução agarizada utilizada como substrato. B0 – B10, estirpes bacterianas utilizadas. C, sem inoculação ou controle. B1, inoculação com Gênero *Mucilaginibacter* sp. estirpe 3. B2, inoculação com Gênero *Bacillus* sp. estirpe 112 R1. B3, inoculação com *Bacillus* sp. estirpe 105. B4, inoculação com *Mesorhizobium* sp. estirpe 98. B5, inoculação com *Herbaspirillum* sp. estirpe 114. B6, inoculação com *Trinickia* sp. estirpe 24. B7, inoculação com *Bacillus* sp. estirpe 4. B8, inoculação com *Bacillus* sp. estirpe 145. B9, inoculação com *Mucilaginibacter* sp. estirpe 45. B10, inoculação com *Bacillus* sp. estirpe 8.

Em [PEG] 0%, os tratamentos inoculados com B4 – *Mesorhizobium* sp. (98), B5 – *Herbaspirillum* sp. (114), B7 – *Bacillus* sp. (4), B8 – *Bacillus* sp. (145), B9 – *Mucilaginibacter* sp. (45) e B10 – *Bacillus* sp. (8) diferiram do controle de acordo com o teste de Kruskal-Wallis. Os maiores valores encontrados para a atividade da enzima SOD foram os tratamentos inoculados com B2 – *Bacillus* sp. (112 R1), com valor encontrado de 262,40 U g⁻¹ MF e B6 – *Trinickia* sp. (24) com valor encontrado de 247,06 U g⁻¹ MF, valores esses superiores ao controle (241,78 U g⁻¹ MF). O menor valor encontrado para a atividade de SOD foi do

tratamento inoculado com B5 – *Herbaspirillum* sp. (114), com valor de 7,91 U g⁻¹ MF. Esses resultados demonstram que mesmo sob condição normal (sem PEG), a planta apresenta alta atividade da enzima SOD comparado ao controle, demonstrando que pode haver alguma influência da inoculação com bactérias, proporcionando o aumento da atividade de SOD.

Referente a concentração [PEG] 25%, o único tratamento que diferiu do controle foi o inoculado com B6 – *Trinickia* sp. (24). Observa-se os maiores valores de atividade da enzima SOD nos tratamentos inoculados com B6 (249,11 U g⁻¹ MF), B2 (248,94 U g⁻¹ MF), B5 (224,48 U g⁻¹ MF) e B7 (193,20 U g⁻¹ MF), indicando que a inoculação com essas bactérias pode ter influenciado o aumento da atividade de SOD sob essa condição de [PEG]. O menor valor da atividade da enzima SOD para [PEG] 25% foi o tratamento inoculado com B4 – *Mesorhizobium* sp. (98) (26,96 U g⁻¹ MF), indicando que sob essa condição, mesmo sob inoculação com bactéria promotora de crescimento vegetal não houve aumento da atividade de SOD.

Na concentração [PEG] 50%, os tratamentos inoculados com B3 – *Bacillus* sp. (105), B4 – *Mesorhizobium* sp. (98), B5 – *Herbaspirillum* sp. (114), B7 – *Bacillus* sp. (4), B8 – *Bacillus* sp. (145) e B10 – *Bacillus* sp. (8) difeririam significativamente do controle pelo teste de Kruskal-Wallis. Observa-se o maior valor de atividade específica de SOD para o tratamento inoculado com B9 – *Mucilagibacter* sp. (45) com valor encontrado de 558,09 U g⁻¹ MF, porém, ao observar os valores de H₂O₂ para o mesmo tratamento (Tabela 5) veremos um dos maiores valores de H₂O₂, indicando que outros mecanismos estejam funcionando para mitigar H₂O₂ na planta, provavelmente POD. Os menores valores encontrados para a atividade específica de SOD foram os tratamentos inoculados com B10 – *Bacillus* sp. (8), B5 – *Herbaspirillum* sp. (114), B3 – *Bacillus* sp. (105), B7 – *Bacillus* sp. (4) e B6 – *Trinickia* sp. (24), com os seguintes valores, respectivamente: 73,77 U g⁻¹ MF, 121,76 U g⁻¹ MF, 176,91 U g⁻¹ MF, 181,33 U g⁻¹ MF e 252,14 U g⁻¹ MF, indicando que sob a condição de [PEG] 50% os tratamentos inoculados com essas bactérias não aumentaram a atividade de SOD.

De acordo com estudo feito por Kusvuran e Dasgan (2017), os quais investigaram a atividade de enzimas antioxidantes (SOD, CAT, GR e APX) sobre os mecanismos de tolerância ao estresse hídrico em genótipos de feijão,

observaram que sob estresse hídrico severo (0% de capacidade de campo), as atividades de SOD aumentaram para os genótipos tolerantes (118,74% a mais) em relação aos genótipos sensíveis (54,09%), indicando assim que sob maiores níveis de estresse hídrico, maior será o estresse oxidativo e conseqüentemente maior a atividade da enzima antioxidante.

Batool *et al.* (2020) avaliaram em seu trabalho o efeito do estresse hídrico e a inoculação de bactéria promotora de crescimento na atividade enzimática da superóxido dismutase (SOD) em duas cultivares de batata submetidas a seca (Santaea e PRI-Red). De acordo com os resultados obtidos por Batool *et al.* (2020), sob estresse hídrico a atividade de superóxido dismutase (SOD) aumentou, no qual os maiores valores obtidos foram das plantas sob estresse severo em comparação ao estresse moderado de seca. As plantas inoculadas com bactéria promotora de crescimento apresentaram as maiores atividades de SOD quando comparado as plantas sem inoculação, sugerindo assim uma influência positiva da bactéria na atividade da enzima. A atividade da enzima SOD aumentou 24% (estresse hídrico moderado) e 63% (estresse hídrico severo) para as plantas inoculadas e aumentou 20% e 50% nas plantas sem inoculação.

5.5 Determinação da atividade da enzima peroxidase (POD)

As peroxidases são enzimas de extrema importância para a célula vegetal. Atuam em processos de defesa de plantas. Essas enzimas usam compostos fenólicos como substratos. Doam elétrons para o peróxido de hidrogênio, favorecendo a formação de H₂O, atuando assim, na eliminação e limpeza dos excessos de H₂O₂ em plantas sob estresses abióticos (CHALLABATHULA *et al.*, 2022).

Tabela 6 – Atividade da enzima peroxidase (POD) expressa em mmol min⁻¹ g⁻¹ MF da parte aérea de plântulas de tomate cultivadas sob diferentes concentrações de polietilenoglicol-8000 (PEG) (0%, 25% e 50%) e inoculadas com diferentes bactérias promotoras de crescimento (B1 a B10). O tratamento Controle não recebeu inoculação. Os asteriscos indicam valores diferentes do tratamento Controle de acordo com o teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn (p<0.05). Os resultados são expressos com a média dos tratamentos.

O símbolo (–) indica material insuficiente para análise da amostra e, portanto, sem resultado.

PGPB inoculada	[PEG]		
	0%	25%	50%
Controle	220,37	140,93	63,37
B1 – <i>Mucilaginibacter</i> sp. (3)	89,70 *	129,7	337,87 *
B2 – <i>Bacillus</i> sp. (112 R1)	102,07 *	131,3	–
B3 – <i>Bacillus</i> sp. (105)	13,60 *	85,93	4,27 *
B4 – <i>Mesorhizobium</i> sp. (98)	43,80 *	143,83	43,60 *
B5 – <i>Herbaspirillum</i> sp. (114)	161,43 *	49,20 *	59,6
B6 – <i>Trinickia</i> sp. (24)	42,47 *	68,5	121,17 *
B7 – <i>Bacillus</i> sp. (4)	155,70 *	131	276,97 *
B8 – <i>Bacillus</i> sp. (145)	3,70 *	52,53	154,80 *
B9 – <i>Mucilaginibacter</i> sp. (45)	199,4	90,63	37,77 *
B10 – <i>Bacillus</i> sp. (8)	94,73 *	106,83	108,60 *

[PEG], concentração de polietilenoglicol na solução agarizada utilizada como substrato. B0 – B10, estirpes bacterianas utilizadas. C, sem inoculação ou controle. B1, inoculação com Gênero *Mucilaginibacter* sp. estirpe 3. B2, inoculação com Gênero *Bacillus* sp. estirpe 112 R1. B3, inoculação com *Bacillus* sp. estirpe 105. B4, inoculação com *Mesorhizobium* sp. estirpe 98. B5, inoculação com *Herbaspirillum* sp. estirpe 114. B6, inoculação com *Trinickia* sp. estirpe 24. B7, inoculação com *Bacillus* sp. estirpe 4. B8, inoculação com *Bacillus* sp. estirpe 145. B9, inoculação com *Mucilaginibacter* sp. estirpe 45. B10, inoculação com *Bacillus* sp. estirpe 8.

Para [PEG] 0% de PEG, o único tratamento que não diferiu do controle foi o inoculado com B9 – *Mucilaginibacter* sp. (45), com a maior atividade da enzima POD (199,40 mmol min⁻¹ g⁻¹ MF). Observa-se que apesar do tratamento inoculado com B9 – *Mucilaginibacter* sp. (45) estar tendo alta atividade de POD para [PEG] 0, o mesmo tratamento teve baixos valores de concentração de H₂O₂ e de SOD, indicando que POD estava atuando de forma mais efetiva do que SOD para mitigar o estresse na planta. O segundo maior valor da atividade da enzima POD foi do tratamento inoculado com B5 – *Herbaspirillum* sp. (114) (161,43 mmol min⁻¹ g⁻¹ MF o que corrobora com os baixos resultados de H₂O₂ para o mesmo tratamento e [PEG] encontrados na Tabela 5, indicando que a alta atividade de POD pode ter diminuído os níveis de H₂O₂. Os menores valores de atividade da enzima POD foi para o tratamento inoculado com B8 – *Bacillus* sp. (145), com valor encontrado de 3,70 mmol min⁻¹ g⁻¹ MF seguido de B3 – *Bacillus*

sp. (105), com valor encontrado de $13,60 \text{ mmol min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ MF}$ no qual não diferiram significativamente entre si.

Na concentração 25% de [PEG], apenas o tratamento B5 – *Herbaspirillum* sp. (114) diferiu significativamente do controle, no qual obteve o menor valor encontrado da atividade de POD ($49,20 \text{ mmol min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ MF}$), indicando baixa atividade da enzima para esse tratamento sob essa condição de déficit hídrico, o que não corrobora com os baixos valores de H_2O_2 para o mesmo tratamento e mesma condição de [PEG] na Tabela 5, indicando que outros mecanismos de defesa antioxidante estavam atuando para diminuir H_2O_2 na planta. Os tratamentos inoculados com B1 – *Mucilaginibacter* sp. (3), B2 – *Bacillus* sp. (112 R1), B3 – *Bacillus* sp. (105), B4 – *Mesorhizobium* sp. (98), B6 – *Trinickia* sp. (24), B7 – *Bacillus* sp. (4), B8 – *Bacillus* sp. (145), B9 – *Mucilaginibacter* sp. (45) e B10 – *Bacillus* sp. (8) não diferiram entre si significativamente pelo teste de Kruskal-Wallis ao nível de 5% de significância. Apenas o tratamento B4 – *Mesorhizobium* sp. (98) ($143,83 \text{ mmol min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ MF}$) e B5 – *Herbaspirillum* sp. (114) ($49,20 \text{ mmol min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ MF}$) diferiram entre si estatisticamente, no qual B4 – *Mesorhizobium* sp. (98) foi a maior média encontrada para a atividade da enzima POD, tendo coerência com os resultados da Tabela 5, onde o mesmo tratamento inoculado com B4 – *Mesorhizobium* sp. (98) obteve os menores valores de H_2O_2 , indicando atividade antioxidante e proteção contra o estresse conferido pela inoculação da bactéria.

Para [PEG] 50%, os tratamentos inoculados com B1 – *Mucilaginibacter* sp. (3), B3 – *Bacillus* sp. (112 R1), B4 – *Mesorhizobium* sp. (98), B6 – *Trinickia* sp. (24), B7 – *Bacillus* sp. (4), B8 – *Bacillus* sp. (145), B9 – *Mucilaginibacter* sp. (45) e B10 – *Bacillus* sp. (8) diferiram estatisticamente do Controle segundo o teste de Kruskal-Wallis. Apenas o tratamento inoculado com B5 – *Herbaspirillum* sp. (114) não diferiu do Controle estatisticamente. O tratamento inoculado com B1 – *Mucilaginibacter* sp. (3) demonstrou a maior atividade da enzima POD ($337,78 \text{ mmol min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ MF}$), o que não corrobora com os altos valores de H_2O_2 encontrados para o mesmo tratamento e mesma condição de [PEG] na Tabela 5, indicando que mesmo com a alta atividade de POD não foi suficiente para mitigar os excessos de H_2O_2 produzidos na planta sob [PEG] 50%. Os menores valores encontrados para a atividade de POD foram dos tratamentos inoculados com B3 – *Bacillus* sp. (105), com valor encontrado de $4,27 \text{ mmol min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ MF}$ e

B9 – *Mucilaginibacter* sp. (45) com valor encontrado de 37,77 mmol min⁻¹ g⁻¹ MF, a qual não diferiram significativamente entre si. A baixa atividade de POD no tratamento inoculado com B3 – *Bacillus* sp. (105) também se repete para a atividade de SOD para a mesma concentração [PEG] 50% observados na Tabela 6, com baixos valores de H₂O₂ observados na Tabela 5, podendo indicar que outros mecanismos estavam atuando para a redução de H₂O₂ na planta.

Saravanakumar *et al.* (2010) em seu trabalho inocularam cepas bacterianas de *P. fluorescens* e *B. subtilis* em plantas de feijão mungu (*Vigna Radiata*) com o objetivo de estudar a atividade enzimática antioxidante sob condições de estresse hídrico. A atividade da peroxidase foi observada em diferentes intervalos de tempo após o estresse hídrico. De acordo com resultados, Saravanakumar *et al.* (2010) constataram a maior atividade enzimática em plantas tratadas com *P. fluorescens* mesmo após 144 horas de estresse hídrico. No caso das plantas não inoculadas, a atividade enzimática começou a diminuir a partir de 72 horas sob estresse hídrico, demonstrando assim a influência positiva de bactérias sob a atividade enzimática antioxidante da planta. No trabalho de Junior (2012) onde avaliou as características bioquímicas e desenvolvimento do tomate submetido a salinidade e estresse hídrico, concluíram que para a atividade da enzima POD, houve um aumento gradual na atividade quando a planta estava submetida ao estresse hídrico. A alta atividade da enzima em plantas submetidas a estresses pode ser explicado pela habilidade de alguns genótipos em degradar substâncias tóxicas (ROS) liberados em condições de estresse abiótico (SUBHASHINI; REDDY, 1990). No trabalho de Chiappero *et al.* (2019) com o objetivo de explorar os efeitos da inoculação de PGPB em plantas de hortelã-pimenta sob estresse hídrico, onde usaram duas cepas bacterianas para inoculação *Bacillus amyloliquefaciens* e *Pseudomonas fluorescens*. As plantas foram submetidas a estresse hídrico após 20 dias de cultivo. Nesse estudo, Chiappero *et al.* (2019) constataram que a atividade da enzima antioxidante peroxidase (POD) foi 3 vezes maior nas plantas inoculadas com *Bacillus amyloliquefaciens* e *Pseudomonas fluorescens* sob estresse hídrico do que nas plantas não inoculadas, demonstrando assim uma boa resposta da planta ao estresse hídrico e um ponto positivo para a inoculação com bactérias.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em relação as proteínas solúveis totais, para o déficit hídrico moderado induzido por [PEG] 25%, a bactéria B2 – *Bacillus* sp. (112 R1), B3 – *Bacillus* sp. (105) e B10 – *Bacillus* sp. (8) se destacaram. Para o déficit hídrico severo induzido por [PEG] 50%, a bactéria B4 – *Mesorhizobium* sp. (98) se destacou com o maior valor encontrado, apesar de não ter diferença significativa do controle.

Para peróxido de hidrogênio (H₂O₂) como indicador de estresse oxidativo, o tratamento inoculado com B5 – *Herbaspirillum* sp. (114), B6 – *Trinickia* sp. (24) e B7 – *Bacillus* sp. (4) se destacaram. Entre esses, B5 – *Herbaspirillum* sp. (114) se demonstrou melhor em induzir a planta a tolerância ao estresse oxidativo em todas as concentrações de [PEG].

Para a atividade de superóxido dismutase (SOD) o tratamento inoculado com B6 – *Trinickia* sp. (24) se destacou com o maior valor da atividade de SOD para [PEG] 25%, já para [PEG] 50% o tratamento inoculado com B9 – *Mucilaginibacter* sp. (45) se destacou com a maior atividade de SOD, porém não houve diferença significativa do controle.

E para a atividade de peroxidase (POD), o tratamento inoculado com B4 – *Mesorhizobium* sp. (98) se destacou para o déficit hídrico moderado induzido por [PEG] 25%, com o maior valor de atividade encontrado, mas não houve diferença significativa do controle. Já para o déficit hídrico severo induzido por [PEG] 50%, o tratamento inoculado com B1 – *Mucilaginibacter* (3) e B7 – *Bacillus* sp. (4) se destacaram.

As estirpes mais indicadas para prosseguir com o trabalho, em ensaios de maior duração ou com outras espécies vegetais são B5 – *Herbaspirillum* sp. (114), B6 – *Trinickia* sp. (24), B7 – *Bacillus* sp. (4) e B8 – *Bacillus* sp. (145).

Tabela 7 – Tabela comparativa com os resultados que se destacaram dos tratamentos nas diferentes análises. O símbolo (–) nas colunas indicam resultados não satisfatórios para cada análise, indicando que a inoculação com essa bactéria não demonstrou efeito positivo para aquela condição.

PBG INOCULADA	BIOMASSA (mg)			PROTEÍNAS ($\mu\text{g mL}^{-1}$)			H_2O_2 ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF)			SOD (U g^{-1} MF)			POD (mmol min^{-1} g^{-1} MF)		
	0%	25%	50%	0%	25%	50%	0%	25%	50%	0%	25%	50%	0%	25%	50%
Controle	545	264	175	1,53	0,5	2,74	2,05	1,68	4,88	242	55,54	429,96	220,37	140,93	63,37
B1 – <i>Mucilaginibacter</i> sp. (3)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	337,87
B2 – <i>Bacillus</i> sp. (112 R1)	–	–	–	–	5,5	–	–	–	–	262	248,9	–	–	–	–
B3 – <i>Bacillus</i> sp. (105)	–	–	–	–	5,46	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
B4 – <i>Mesorhizobium</i> sp. (98)	400	435	334	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	143,81	–
B5 – <i>Herbaspirillum</i> sp. (114)	327	395	352	–	–	–	0,72	0,27	0,38	–	224,5	–	–	–	–
B6 – <i>Trinickia</i> sp. (24)	312	312	400	–	–	–	0,14	0,14	0,79	247	249,1	–	–	–	–
B7 – <i>Bacillus</i> sp. (4)	–	–	–	–	–	–	1,76	1,76	0,85	–	–	–	–	–	276,97
B8 – <i>Bacillus</i> sp. (145)	376	546	645	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	154,80
B9 – <i>Mucilaginibacter</i> sp. (45)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	558,09	199,4	–	–
B10 – <i>Bacillus</i> sp. (8)	340	441	350	–	2,43	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

Fonte: Próprio autor, 2023.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, Tahir *et al.* Biochar application increased the growth and yield and reduced cadmium in drought stressed wheat grown in an aged contaminated soil. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, [S.L.], v. 148, p. 825-833, fev. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.11.063>.

AL-ALOOSY, Yousif Ahmad Mahmood *et al.* THE ROLE OF ENZYMATIC AND NON-ENZYMATIC ANTIOXIDANTS IN FACING THE ENVIRONMENTAL STRESSES ON PLANT: A REVIEW. **Plant Archives**, Baghdad, v. 19, p. 1057-1060, 2019.

ALSAMIR, Muhammed *et al.* An overview of heat stress in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). **Saudi Journal Of Biological Sciences**, [S.L.], v. 28, n. 3, p. 1654-1663, mar. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.11.088>.

BANO, Qudsia *et al.* EFFECT OF AZOSPIRILLUM INOCULATION ON MAIZE (*ZEA MAYS* L.) UNDER DROUGHT STRESS. **Pakistan Journal Of Botany**, [s. l.], v. 45, p. 47-52, 2013.

BATISTA, Bruna Durante *et al.* Screening of tropically derived, multi-trait plant growth- promoting rhizobacteria and evaluation of corn and soybean colonization ability. **Microbiological Research**, [S.L.], v. 206, p. 33-42, jan. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2017.09.007>.

BATOOL, Tahira *et al.* Plant growth promoting rhizobacteria alleviates drought stress in potato in response to suppressive oxidative stress and antioxidant enzymes activities. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 2-17, 12 out. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-020-73489-z>.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p.248-254, 1976.

CARNEIRO, Mariane Campos. Isolamento, identificação e diversidade de representantes do bacterioma associado a duas espécies arbóreas nativas da mata atlântica. 2022. 85 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Brasil, 2022.

CASTRO, Bardo *et al.* Stress-induced reactive oxygen species compartmentalization, perception and signalling. **Nature Plants**, [S.L.], v. 7, n. 4, p. 403-412, 12 abr. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41477-021-00887-0>.

CHALLABATHULA, Dinakar *et al.* Differential modulation of photosynthesis, ROS and antioxidant enzyme activities in stress-sensitive and -tolerant rice cultivars during salinity and drought upon restriction of COX and AOX pathways of mitochondrial oxidative electron transport. **Journal Of Plant Physiology**, [S.L.], v. 268, p. 153583, jan. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jplph.2021.153583>.

CHANDRAN, Priyanka *et al.* Strategies to mitigate the adverse effect of drought stress on crop plants—influences of soil bacteria: a review. **Pedosphere**, [S.L.], v. 31, n. 3, p. 496-509, jun. 2021. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1002-0160\(20\)60092-3](http://dx.doi.org/10.1016/s1002-0160(20)60092-3).

CHANDRAN, Hema *et al.* Plant Growth-Promoting Rhizobacteria as a Green Alternative for Sustainable Agriculture. **Sustainability**, [S.L.], v. 13, n. 19, p. 10986, 3 out. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/su131910986>.

CHIAPPERO, Julieta *et al.* Plant growth promoting rhizobacteria improve the antioxidant status in *Mentha piperita* grown under drought stress leading to an enhancement of plant growth and total phenolic content. **Industrial Crops And Products**, [S.L.], v. 139, p. 111553, nov. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111553>.

CUNHA, Juliana R. *et al.* Proteomic and physiological approaches reveal new insights for uncover the role of rice thylakoidal APX in response to drought stress. **Journal Of Proteomics**, [S.L.], v. 192, p. 125-136, fev. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2018.08.014>.

DVOŘÁK, Petr *et al.* In vivo light-sheet microscopy resolves localisation patterns of FSD1, a superoxide dismutase with function in root development and osmoprotection. **Plant, Cell & Environment**, [S.L.], v. 44, n. 1, p. 68-87, 9 out. 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/pce.13894>.

EMBRAPA. **Tomate**. 2022. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/tomate>. Acesso em: 14 jan. 2023.

FAO. **Tomato - Crop description and Climate**. 2023. Disponível em: <https://www.fao.org/land-water/databases-and-software/crop-information/tomato/en/>. Acesso em: 14 jan. 2023.

FIELDS, Bryden; FRIMAN, Ville-Petri. Microbial eco-evolutionary dynamics in the plant rhizosphere. **Current Opinion In Microbiology**, [S.L.], v. 68, p. 102153, ago. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2022.102153>.

FILIPPOU, Panagiota *et al.* Effect of drought and rewatering on the cellular status and antioxidant response of *Medicago truncatula* plants. **Plant Signaling & Behavior**, [S.L.], v. 6, n. 2, p. 270-277, fev. 2011. Informa UK Limited.

FURLAN, Ana Laura *et al.* Proline metabolic dynamics and implications in drought tolerance of peanut plants. **Plant Physiology And Biochemistry**, [S.L.], v. 151, p. 566-578, jun. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.04.010>.

GARCÍA-CRISTOBAL, J. *et al.* Priming of pathogenesis related-proteins and enzymes related to oxidative stress by plant growth promoting rhizobacteria on rice plants upon abiotic and biotic stress challenge. **Journal Of Plant Physiology**, [S.L.], v. 188, p. 72-79, set. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jplph.2015.09.011>.

GHOLZ, H.L. *et al.* Water and forest productivity. **Forest Ecology And Management**, [S.L.], v. 30, n. 1-4, p. 1-18, fev. 1990. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0378-1127\(90\)90122-r](http://dx.doi.org/10.1016/0378-1127(90)90122-r).

GHOSH, U. K. *et al.* Proline, a multifaceted signalling molecule in plant responses to abiotic stress: understanding the physiological mechanisms. **Plant Biology**, [S.L.], v. 24, n. 2, p. 227-239, 18 nov. 2021. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/plb.13363>.

HASANUZZAMAN, Mirza *et al.* Regulation of Reactive Oxygen Species Metabolism and Glyoxalase Systems by Exogenous Osmolytes Confers Thermotolerance in Brassica napus. **Gesunde Pflanzen**, [S.L.], v. 72, n. 1, p. 3-16, 11 jul. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10343-019-00476-4>.

HASANUZZAMAN, Mirza *et al.* Reactive Oxygen Species and Antioxidant Defense in Plants under Abiotic Stress: revisiting the crucial role of a universal defense regulator. **Antioxidants**, [S.L.], v. 9, n. 8, p. 681, 29 jul. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/antiox9080681>.

HASEGAWA, P. M. *et al.* Cellular mechanisms of tolerance to water stress. **HortScience**, Alexandria, v.19, n. 3, p. 371-7. 1984.

HINAI, Marwa Sulaiman Al *et al.* Proline accumulation, ion homeostasis and antioxidant defence system alleviate salt stress and protect carbon assimilation in bread wheat genotypes of Omani origin. **Environmental And Experimental Botany**, [S.L.], v. 193, p. 104687, jan. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104687>.

JUNIOR, Josué Ferreira Silva. Desenvolvimento do tomate em diferentes níveis de irrigação e de doses de salinidade. 2012. 76f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Irrigação e Drenagem) – Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP, Campus de Botucatu, Botucatu, São Paulo, Brasil, 2012.

KERCHEV, Pavel I.; VAN BREUSEGEM, Frank. Improving oxidative stress resilience in plants. **The Plant Journal**, [S.L.], v. 109, n. 2, p. 359-372, 7 out. 2021. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/tpj.15493>.

KHOSHRU, Bahman *et al.* Current scenario and future prospects of plant growth-promoting rhizobacteria: an economic valuable resource for the agriculture revival under stressful conditions. **Journal Of Plant Nutrition**, [S.L.], v. 43, n. 20, p. 3062-3092, 31 jul. 2020. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/01904167.2020.1799004>.

KIDOKORO, Satoshi *et al.* The Phytochrome-Interacting Factor PIF7 Negatively Regulates DREB1 Expression under Circadian Control in Arabidopsis. **Plant Physiology**, [S.L.], v. 151, n. 4, p. 2046-2057, 16 out. 2009. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1104/pp.109.147033>.

KOCH, Garance *et al.* Leaf Production and Expansion: a generalized response to drought stresses from cells to whole leaf biomass.:a case study in the tomato compound leaf. **Plants**, [S.L.], v. 8, n. 10, p. 409, 12 out. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/plants8100409>.

KUSVURAN, Sebnem; DASGAN, H. Yildiz. Effects of drought stress on physiological and biochemical changes in *Phaseolus vulgaris* L. **Legume Research - An International Journal**, [S.L.], p. 10-14, 12 jan. 2017. Agricultural Research Communication Center. <http://dx.doi.org/10.18805/lr.v0i0.7025>.

LOPES, Monyck Jeane dos Santos *et al.* Effect of *Pseudomonas fluorescens* and *Burkholderia pyrrocinia* on the Growth Improvement and Physiological Responses in *Brachiaria brizantha*. **American Journal Of Plant Sciences**, [S.L.], v. 09, n. 02, p. 250-265, 2018. Scientific Research Publishing, Inc. <http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2018.92021>.

MALHOTRA, Chanchal *et al.* Sodium silicate mediated response of antioxidative defense system in *Lycopersicon esculentum* mill. under water stress. **International Journal Of Phytomedicine**, [S.L.], v. 9, n. 2, p. 25, 5 jul. 2017. Advanced Research Journals. <http://dx.doi.org/10.5138/09750185.2108>.

MAYAK, Shimon *et al.* Plant growth-promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomatoes and peppers. **Plant Science**, [S.L.], v. 166, n. 2, p. 525-530, fev. 2004. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2003.10.025>.

MEDEIROS, Bruna Pintor. Estresse hídrico simulado por Polietilenoglicol 6000: um estudo sobre os efeitos em plantas de tomate *Herbaspirillum seropedicae*, e o potencial da inoculação na resistência ao estresse. 2013. 92f. Dissertação (Mestrado em Biociências e Biotecnologia) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campo dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil, 2013.

MOHANRAM, Saritha; KUMAR, Praveen. Rhizosphere microbiome: revisiting the synergy of plant-microbe interactions. **Annals Of Microbiology**, [S.L.], v. 69, n. 4, p. 307-320, 23 fev. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s13213-019-01448-9>.

MUSHTAQ, Zeenat *et al.* Salt stress, its impacts on plants and the strategies plants are employing against it: a review. **Journal Of Applied Biology & Biotechnology**, [S.L.], v. 8, n. 3, p. 81-91, 26 jun. 2020. Journal of Applied Pharmaceutical Science. <http://dx.doi.org/10.7324/jabb.2020.80315>.

NAYLOR, Dan; COLEMAN-DERR, Devin. Drought Stress and Root-Associated Bacterial Communities. **Frontiers In Plant Science**, [S.L.], v. 8, p. 1-16, 9 jan. 2018. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2017.02223>.

NEGI, Neelam Prabha *et al.* Overexpression of CuZnSOD from *Arachis hypogaea* alleviates salinity and drought stress in tobacco. **Plant Cell Reports**,

[S.L.], v. 34, n. 7, p. 1109-1126, 25 fev. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00299-015-1770-4>.

NEVES, M. G.; Silva, J. N.; Silva, L. S.; Souza, L. C. **Teores de Prolina, Aminoácidos e Proteínas Solúveis Totais em Resposta a Deficiência Hídrica e Concentrações de Silício em Plantas de Milho**. Anais do XXIX Congresso Nacional de milho e sorgo - Águas de Lindóia - 26 a 30 de agosto de 2012.

OLIVEIRA NETO, Cândido Ferreira de *et al.* Influência do Estresse Hídrico nos Teores de Proteínas e Aminoácidos Solúveis Totais em Folhas de Teca (*Tectona grandis* L. f.). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, p. 927-929, 2007.

PAL, Tarun *et al.* DRPPP: a machine learning based tool for prediction of disease resistance proteins in plants. **Computers In Biology And Medicine**, [S.L.], v. 78, p. 42-48, nov. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.combiomed.2016.09.008>

PANNO, Stefano *et al.* A Review of the Most Common and Economically Important Diseases That Undermine the Cultivation of Tomato Crop in the Mediterranean Basin. **Agronomy**, [S.L.], v. 11, n. 11, p. 2188, 29 out. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/agronomy11112188>.

PATHANIA, Priyanka *et al.* Role of plant growth-promoting bacteria in sustainable agriculture. **Biocatalysis And Agricultural Biotechnology**, [S.L.], v. 30, p. 101842, nov. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101842>.

PRASHANTH, S. R. *et al.* Over expression of cytosolic copper/zinc superoxide dismutase from a mangrove plant *Avicennia marina* in indica Rice var Pusa Basmati-1 confers abiotic stress tolerance. **Transgenic Research**, [S.L.], v. 17, n. 2, p. 281-291, 1 jun. 2007. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11248-007-9099-6>.

PURI, Akshit *et al.* In vitro and in vivo analyses of plant-growth-promoting potential of bacteria naturally associated with spruce trees growing on nutrient-poor soils. **Applied Soil Ecology**, [S.L.], v. 149, p. 103538, maio 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103538>.

QU, Qian *et al.* Rhizosphere Microbiome Assembly and Its Impact on Plant Growth. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [S.L.], v. 68, n. 18, p. 5024-5038, 7 abr. 2020. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.0c00073>.

RADY, Mostafa M. *et al.* Selenium application in two methods promotes drought tolerance in *Solanum lycopersicum* plant by inducing the antioxidant defense system. **Scientia Horticulturae**, [S.L.], v. 266, p. 109290, maio 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109290>.

RAMAKRISHNA, Wusirika *et al.* Plant growth promoting bacteria in agriculture: two sides of a coin. **Applied Soil Ecology**, [S.L.], v. 138, p. 10-18, jun. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.02.019>.

RUBIM, Raquel Fialho *et al.* Tratamento com hipoclorito de sódio para remoção do pergaminho e aceleração da germinação de sementes de café conilon. **Revista Brasileira de Sementes**, Campo dos Goytacazes, v. 32, n. 4, p. 88-98, 2010.

SACHDEV, Swati *et al.* Abiotic Stress and Reactive Oxygen Species: generation, signaling, and defense mechanisms. **Antioxidants**, [S.L.], v. 10, n. 2, p. 277, 11 fev. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/antiox10020277>.

SHAFFIQUE, Shifa *et al.* Research Progress in the Field of Microbial Mitigation of Drought Stress in Plants. *Frontiers In Plant Science*, [S.L.], v. 13, p. 1-15, 19 maio 2022. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2022.870626>.

SARAVANAKUMAR, D. *et al.* Plant growth promoting bacteria enhance water stress resistance in green gram plants. **Acta Physiologiae Plantarum**, [S.L.], v. 33, n. 1, p. 203-209, 6 jun. 2010. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11738-010-0539-1>.

SAYYED, R. Z. *et al.* Plausible Role of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria in Future Climatic Scenario. **Environmental Biotechnology: For Sustainable Future**, [S.L.], p. 175-197, 7 dez. 2018. Springer Singapore. http://dx.doi.org/10.1007/978-981-10-7284-0_7.

SACHDEV, Swati *et al.* Abiotic Stress and Reactive Oxygen Species: generation, signaling, and defense mechanisms. **Antioxidants**, [S.L.], v. 10, n. 2, p. 277, 11 fev. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/antiox10020277>.

SCHELLENBAUM, L. *et al.* Effects of drought on non-mycorrhizal and mycorrhizal maize: changes in the pools of non-structural carbohydrates, in the activities of invertase and trehalase, and in the pools of amino acids and imino acids. **New Phytologist**, [S.L.], v. 138, n. 1, p. 59-66, jan. 1998. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1469-8137.1998.00892.x>.

SELLAMI, Kheireddine *et al.* Peroxidase enzymes as green catalysts for bioremediation and biotechnological applications: a review. **Science Of The Total Environment**, [S.L.], v. 806, p. 150500, fev. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150500>.

SINGH, Hira *et al.* Tomato Grafting: a global perspective. **Hortscience**, [S.L.], v. 52, n. 10, p. 1328-1336, out. 2017. American Society for Horticultural Science. <http://dx.doi.org/10.21273/hortsci11996-17>.

SINGH, Vipin Kumar *et al.* Interaction of plant growth promoting bacteria with tomato under abiotic stress: a review. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, [S.L.], v. 267, p. 129-140, nov. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2018.08.020>.

SILVA, Lucas C. R.; LAMBERS, Hans. Soil-plant-atmosphere interactions: structure, function, and predictive scaling for climate change mitigation. **Plant And Soil**, [S.L.], v. 461, n. 1-2, p. 5-27, 10 fev. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-020-04427-1>.

SUBHASHINI; REDDY. Effect of salt stress on enzyme activities on callus culture of tolerant and susceptible rice cultivars. **Indian Journal Of Experimental Biology**, India, v. 28, n. 3, p. 277-279, 1990.

TALLAPRAGADA, Padmavathi *et al.* Influence of Rhizophagus spp. and Burkholderia seminalison the Growth of Tomato (*Lycopersicon esculatum*) and Bell Pepper (*Capsicum annuum*) under Drought Stress. **Communications In Soil Science And Plant Analysis**, [S.L.], v. 47, n. 17, p. 1975-1984, 2 ago. 2016. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/00103624.2016.1216561>.

TEIXEIRA, Dielle Thainá de França *et al.* ALTERAÇÕES NO METABOLISMO DO NITROGÊNIO EM PLANTAS DE NONI SOB DUAS CONDIÇÕES HÍDRICAS. **Enciclopédia Biosfera**, [S.L.], p. 89-106, 2 dez. 2015. Centro Científico Conhecer. http://dx.doi.org/10.18677/enciclopedia_biosfera_2015_073.

TIEPO, Angélica Nunes *et al.* Enhanced drought tolerance in seedlings of Neotropical tree species inoculated with plant growth-promoting bacteria. **Plant Physiology And Biochemistry**, [S.L.], v. 130, p. 277-288, set. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.07.021>.

TOUNSI, Sana *et al.* Superoxide dismutase (SOD) family in durum wheat: promising candidates for improving crop resilience. **Protoplasma**, [S.L.], v. 260, n. 1, p. 145-158, 29 abr. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00709-022-01767-w>.

VAISHNAV, Anukool *et al.* Sphingobacterium sp. BHU-AV3 Induces Salt Tolerance in Tomato by Enhancing Antioxidant Activities and Energy Metabolism. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 11, p. 36, 3 abr. 2020. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2020.00443>.

VURUKONDA, Sai Shiva Krishna Prasad *et al.* Plant Growth Promoting and Biocontrol Activity of Streptomyces spp. as Endophytes. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 19, n. 4, p. 952, 22 mar. 2018. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms19040952>.

ZHANG, Min *et al.* Drought-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria isolated from jujube (*Ziziphus jujuba*) and their potential to enhance drought tolerance. **Plant And Soil**, [S.L.], v. 452, n. 1-2, p. 423-440, 6 jun. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-020-04582-5>.

ZHANG, Meng *et al.* Identification of geranylgeranyl diphosphate synthase genes from *Tripterygium wilfordii*. **Plant Cell Reports**, [S.L.], v. 34, n. 12, p.

2179-2188, 8 out. 2015. Springer Science and Business Media LLC.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00299-015-1860-3>