



**MARIANA DE SOUZA RIBEIRO**

**BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO NA  
INDUÇÃO DE TOLERÂNCIA AO ESTRESSE SALINO EM  
MORANGUEIRO**

**LAVRAS-MG  
2021**

**MARIANA DE SOUZA RIBEIRO**

**BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO NA INDUÇÃO DE  
TOLERÂNCIA AO ESTRESSE SALINO EM MORANGUEIRO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Moacir Pasqual  
Orientador

Profa. Dra. Joyce Dória Rodrigues  
Coorientadora

**LAVRAS-MG  
2021**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Ribeiro, Mariana de Souza.

Bactérias promotoras de crescimento na indução de tolerância  
ao estresse salino em morangueiro / Mariana de Souza Ribeiro. -  
2021.

53 p. : il.

Orientador(a): Moacir Pasqual.

Coorientador(a): Joyce Dória Rodrigues.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de  
Lavras, 2021.

Bibliografia.

1. Bioestimulantes. 2. Salinidade. 3. Microrganismos. I.  
Pasqual, Moacir. II. Rodrigues, Joyce Dória. III. Título.

**MARIANA DE SOUZA RIBEIRO**

**BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO NA INDUÇÃO DE  
TOLERÂNCIA AO ESTRESSE SALINO EM MORANGUEIRO**

**GROWTH PROMOTING BACTERIA IN THE INDUCTION OF SALINE STRESS  
TOLERANCE IN STRAWBERRY**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 22 de julho de 2021.

Dr. Cleiton Lourenço de Oliveira    UFLA

Dr. Adriano Bortolotti da Silva    UNIFENAS

Prof. Dr. Moacir Pasqual  
Orientador

Profa. Dra. Joyce Dória Rodrigues  
Coorientadora

**LAVRAS-MG  
2021**

*À minha família, em especial aos meus pais,  
Magno (em memória) e Magda.  
Dedico*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me guiado até aqui e por ter me proporcionado a oportunidade de viver esses momentos de grande aprendizado.

A toda a minha família, em especial à minha mãe Magda e ao meu irmão Mateus, pelo apoio que sempre me proporcionaram.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Agricultura, por me proporcionarem a oportunidade e a estrutura necessária para realizar um mestrado de excelência.

Aos meus orientadores Professor Moacir Pasqual e Professora Joyce Dória, pela orientação, por todos os conhecimentos transmitidos, pela disponibilidade em me guiar nesse processo de aprendizagem, e pelo auxílio financeiro para que meu mestrado pudesse ser realizado.

Aos técnicos maravilhosos do laboratório, Vantuil e Filipe, que dedicaram seu tempo e seu conhecimento para me ajudarem sempre que eu precisei. Um agradecimento especial ao Filipe, por sempre estar disposto a me ajudar, por todo o conhecimento compartilhado, pela ajuda nas análises e em todo o processo que resultou nessa dissertação. Te agradeço de coração, por tudo!

Aos meus amigos do laboratório agradeço imensamente a parceria e a troca de conhecimentos realizadas. Em especial agradeço ao Ronilson, que foi uma das primeiras pessoas a me ajudar e me ensinar a base da cultura de tecidos, pela amizade e pelo seu companheirismo. Também em especial à Michele, agradeço pela amizade, pela disponibilidade de me ajudar sempre que precisei, pela troca de conhecimento e por todos os momentos que compartilhamos. À Lilian, que é uma pessoa maravilhosa, e me ensinou os primeiros passos do cultivo do morangueiro *in vitro*, te agradeço imensamente!

Ao Adalvan, que me acolheu quando cheguei ao laboratório, pela amizade que desenvolvemos, por toda a disponibilidade de me ajudar e por todo o conhecimento compartilhado comigo, muito obrigada.

Ao Antônio, pela disponibilidade em ajudar nas análises e pelo seu companheirismo.

À professora Heloisa, do setor de sementes, por ter me disponibilizado o laboratório e os reagentes para a realização das análises.

Ao CNPq, CAPES e FAPEMIG, pelo apoio financeiro aos projetos de pesquisas e concessão de bolsas aos membros da equipe. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Código de Financiamento 001, pela concessão da bolsa de Mestrado.

Muito obrigada!

*“Combati o bom combate, terminei a corrida,  
guardei a fé.” (Timóteo, 4:7)*

## RESUMO

O morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch.) é uma planta pertencente à família Rosaceae, com grande relevância econômica, principalmente para a agricultura familiar. Além disso, possui a capacidade, inclusive, de ser utilizada como ornamental, pela beleza das suas folhas e flores. Dentre os estresses abióticos, o estresse salino é um dos mais severos que restringem a produção agrícola, podendo causar impacto negativo nas plantas e interferir no seu crescimento e desenvolvimento. Objetivou-se investigar a utilização de bactérias promotoras de crescimento em duas cultivares de morangueiro (Pircinque e BRS Estiva) submetidas ao estresse salino por NaCl. Realizou-se a ativação e a inoculação de quatro microrganismos nas plantas de morangueiro, sendo dois considerados tolerantes à salinidade (*Streptomyces* sp., *Pseudomonas fluorescens*) e dois isolados da folha do morangueiro (*Rhizobium* sp. e *Enterobacter* sp.), para verificar o efeito destas bactérias inoculadas em plantas de morangueiro visando mitigar o estresse ambiental. A interação existente entre as plantas e as bactérias foram benéficas em diversos aspectos envolvendo as duas cultivares. Nos estudos envolvendo a cultivar Pircinque, a *Enterobacter* sp. se mostrou eficaz no que diz respeito ao conteúdo de pigmentos fotossintéticos (clorofila *a*, *b*, total e carotenoides) em plantas em contato com o sal e inoculadas com este microrganismo. Os resultados apresentados pela cultivar BRS Estiva foram ainda mais benéficos, uma vez que todas as bactérias apresentaram destaque em algum momento, seja nas características fitotécnicas ou no conteúdo de pigmentos fotossintéticos. A utilização de bactérias promotoras de crescimento se apresenta como alternativa biológica e sustentável para ajudar na mitigação dos efeitos negativos provocados pelo estresse salino em plantas de morangueiro.

Palavras-chave: Bioestimulantes. Salinidade. Microrganismos.

## ABSTRACT

The strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) is a plant belonging to the Rosaceae family with great economic relevance, mainly for family farming. In addition, it has the ability to even be used as an ornamental because of the beauty of its leaves and flowers. Among the abiotic stresses, salt stress is one of the most severe that restricts agricultural production, and can cause a negative impact on plants and interfere with their growth and development. The objective was to investigate the use of growth-promoting bacteria in two strawberry cultivars (Pircinque and BRS Estiva) submitted to saline stress by NaCl. Activation and inoculation of four microorganisms in strawberry plants was carried out, two considered tolerant to salinity (*Streptomyces* sp., *Pseudomonas fluorescens*) and two isolates of the strawberry leaf (*Rhizobium* sp. and *Enterobacter* sp.), to verify the effect of these bacteria stress inoculated in strawberry plants to mitigate environmental stress. The existing interaction between plants and bacteria was beneficial in several aspects involving the two cultivars. In studies involving the cultivar Pircinque, *Enterobacter* sp. proved effective with regard to the content of photosynthetic pigments (chlorophyll a, b, total and carotenoids) in plants in contact with salt and inoculated with this microorganism. The results presented by the cultivar BRS Estiva were even more beneficial, since all the bacteria showed prominence at some point, either in phytotechnical characteristics or in the content of photosynthetic pigments. The use of growth-promoting bacteria is presented as a biological and sustainable alternative to help mitigate the negative effects caused by salt stress in strawberry plants.

Keywords: Biostimulants. Salinity. Microorganisms.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Visualização do efeito de bactérias promotoras de crescimento em morangueiro cv. Pircinque sob concentração de 50 $\mu$ M de NaCl. ....	30
Figura 2 -	Efeito das bactérias promotoras de crescimento no conteúdo de clorofila a, b, total e carotenoides de morangueiro da cultivar Pircinque sob concentração de 50 $\mu$ M de NaCl.....	31
Figura 3 -	Efeito das bactérias promotoras de crescimento no comprimento de raiz e parte aérea de morangueiro da cultivar Pircinque sob concentração de 50 $\mu$ M de NaCl. ....	32
Figura 4 -	Efeito das bactérias promotoras de crescimento no número de folhas de morangueiro da cultivar Pircinque sob concentração de 50 $\mu$ M de NaCl.....	33
Figura 5 -	Efeito das bactérias promotoras de crescimento no conteúdo de massa fresca e seca de morangueiro da cultivar Pircinque sob concentração de 50 $\mu$ M de NaCl. ....	34
Figura 6 -	Visualização do efeito de bactérias promotoras de crescimento em morangueiro cv. BRS Estiva sob concentração de 50 $\mu$ M de NaCl. ....	43
Figura 7 -	Efeito das bactérias promotoras de crescimento no comprimento da raiz e parte aérea de plantas de morangueiro cv. BRS Estiva submetidas ao estresse salino.	44
Figura 8 -	Efeito das bactérias promotoras de crescimento no número de folhas de plantas de morangueiro cv. BRS Estiva submetidas ao estresse salino. ....	45
Figura 9 -	Efeito das bactérias promotoras de crescimento na massa fresca e seca de plantas de morangueiro cv. BRS Estiva submetidas ao estresse salino.....	46
Figura 10 -	Efeito das bactérias promotoras de crescimento na manutenção de pigmentos fotossintéticos em plantas de morangueiro cv. BRS Estiva submetidas ao estresse salino. ....	47

## SUMÁRIO

	<b>PRIMEIRA PARTE.....</b>	<b>13</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>Referencial teórico.....</b>	<b>15</b>
<b>2.1</b>	<b>A cultura do morangueiro .....</b>	<b>15</b>
<b>2.2</b>	<b>Estresse salino em plantas .....</b>	<b>15</b>
<b>2.2.1</b>	<b>Estresse salino em morangueiro.....</b>	<b>16</b>
<b>2.3</b>	<b>Bactérias promotoras de crescimento.....</b>	<b>17</b>
<b>2.3.1</b>	<b>Mecanismos para a promoção do crescimento de plantas.....</b>	<b>17</b>
<b>2.3.1.1</b>	<b>Produção de auxinas e citocininas .....</b>	<b>18</b>
<b>2.3.1.2</b>	<b>Enzima ACC desaminase.....</b>	<b>18</b>
<b>2.3.1.3</b>	<b>Compostos orgânicos voláteis.....</b>	<b>19</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>20</b>
	<b>SEGUNDA PARTE – ARTIGOS* .....</b>	<b>25</b>
	<b>ARTIGO 1 BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO NA MANUTENÇÃO DE PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS EM PLANTAS DE MORANGUEIRO SUBMETIDAS AO ESTRESSE SALINO .....</b>	<b>26</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>27</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>28</b>
<b>2.1</b>	<b>A multiplicação e enraizamento do material vegetal .....</b>	<b>28</b>
<b>2.2</b>	<b>Reativação e inoculação de isolados bacterianos.....</b>	<b>28</b>
<b>2.3</b>	<b>Exposição do material ao estresse salino.....</b>	<b>29</b>
<b>2.4</b>	<b>Análises fitotécnicas .....</b>	<b>29</b>
<b>2.5</b>	<b>Análises de pigmentos fotossintéticos .....</b>	<b>29</b>
<b>2.6</b>	<b>Delineamento experimental e análise estatística.....</b>	<b>30</b>
<b>3</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>30</b>
<b>3.1</b>	<b>Efeito das bactérias promotoras de crescimento nos pigmentos fotossintéticos.</b>	<b>31</b>
<b>3.2</b>	<b>Efeito das bactérias promotoras de crescimentos nas características fitotécnicas. .....</b>	<b>32</b>
<b>3.2.1</b>	<b>Comprimento de parte aérea e raiz .....</b>	<b>32</b>
<b>3.2.2</b>	<b>Número de folhas.....</b>	<b>33</b>
<b>3.2.3</b>	<b>Massa fresca e seca .....</b>	<b>33</b>
<b>4</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>34</b>

5	CONCLUSÃO .....	36
	REFERÊNCIAS .....	37
	<b>ARTIGO 2 BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO INDUZEM TOLERANCIA AO ESTRESSE SALINO EM PLANTAS DE MORANGUEIRO .....</b>	<b>39</b>
1	INTRODUÇÃO .....	40
2	MATERIAL E MÉTODOS .....	41
2.1	Obtenção do material vegetal.....	41
2.2	Reativação e inoculação de isolados bacterianos.....	41
2.3	Exposição do material ao estresse salino.....	41
2.4	Análises fitotécnicas .....	42
2.5	Análises de pigmentos fotossintéticos .....	42
2.6	Delineamento experimental e análise estatística.....	42
3	RESULTADOS .....	43
3.1	Efeito das bactérias promotoras de crescimentos nas características fitotécnicas. ....	43
3.1.1	Comprimento de parte aérea e raiz .....	43
3.1.2	Número de folhas.....	44
3.1.3	Massa fresca e massa seca.....	45
3.2	Efeito das bactérias promotoras de crescimento nos pigmentos fotossintéticos.....	46
4	DISCUSSÃO .....	47
4.1	Efeito das bactérias promotoras de crescimento nas características fitotécnicas .. ..	47
4.2	Efeito das bactérias promotoras de crescimento na síntese de pigmentos fotossintéticos .....	49
5	CONCLUSÃO .....	50
	REFERÊNCIAS .....	51

## **PRIMEIRA PARTE**

## 1 INTRODUÇÃO

Mundialmente, em termos de estresse ambiental, o estresse salino é considerado o mais severo de todos, afetando principalmente o solo e o crescimento das plantas, pois pode interferir na disponibilidade e absorção de nutrientes pelas plantas (NUMAM *et al.*, 2018). Dentre as razões para o acúmulo de sal no solo, encontram-se a lixiviação e a drenagem insuficiente da água de irrigação (FRENKEL *et al.*, 1978).

No Brasil, especificamente nas regiões semiáridas, a água utilizada na irrigação, na maioria das vezes, apresenta elevada concentração de sais, comprometendo o solo e principalmente o desenvolvimento das culturas (SILVA *et al.*, 2017).

O estresse salino pode causar perturbações fisiológicas e bioquímicas nas plantas, resultando em distúrbios nas relações hídricas e na fotossíntese, contribuindo para o acúmulo de íons  $\text{Na}^+$  e/ou  $\text{Cl}^-$  nos cloroplastos e afetando os processos envolvidos na fotossíntese (TAIZ *et al.*, 2017). Alterações também ocorrem no acúmulo de solutos orgânicos compatíveis, tais como N-aminossolúveis e carboidratos solúveis, refletindo na absorção e utilização de nutrientes essenciais pelas plantas (AMORIM *et al.*, 2010).

O morangueiro é uma planta com pouca tolerância a salinidade, e isso torna-se um fator limitante à sua produção, uma vez que a salinidade restringe seu crescimento e desenvolvimento (KEUTGEN; PAWELZIK, 2009). O crescimento dessas plantas é influenciado pela condutividade elétrica (CE), que se trata da medida indireta da concentração salina existente no solo e na solução nutritiva. O morangueiro não tolera valores superiores a  $1,4 \text{ dS m}^{-1}$ . Sendo assim, em cultivo utilizando substrato, recomenda-se a condutividade elétrica de  $0,9 \text{ dS m}^{-1}$ , e em cultivo hidropônico de  $1,2$  a  $1,5 \text{ dS m}^{-1}$  (MARTINEZ BARROSO; ALVAREZ, 1999; ANDRIOLO *et al.*, 2009; PORTELA *et al.*, 2012).

As bactérias promotoras de crescimento de plantas podem se estabelecer na rizosfera como organismos de vida livre, podendo colonizar a superfície das raízes das plantas (VEJAN *et al.*, 2016). A capacidade de promover o crescimento das plantas está relacionada aos mecanismos que atuam de forma direta ou indireta. Diretamente, por meio da ajuda no processo de fixação biológica de nitrogênio, produção e regulação de fitormônios e disponibilização de nutrientes do solo (KAUR *et al.*, 2016). Indiretamente, por meio da capacidade que esses microrganismos possuem de auxiliarem na proteção vegetal contra patógenos e danos provocados por estresses abióticos (HASSEN *et al.*, 2016).

Há interação benéfica entre plantas e bactérias promotoras de crescimento, e esta interação encontra ampla aplicabilidade biotecnológica, principalmente no desenvolvimento de inoculantes, em substituição ao uso de agroquímicos (PREININGER *et al.*, 2018).

Assim como o uso de plantas melhoradas por meio da engenharia genética (produção de plantas transgênicas), o uso das bactérias promotoras de crescimento pode ser útil no desenvolvimento de estratégias para facilitar o crescimento de plantas em solos salinos, além de se tornar uma opção sustentável para o cultivo de plantas em condição de estresse ambiental.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 A cultura do morangueiro

O morangueiro é uma planta frutífera pertencente à família Rosaceae, resultante do cruzamento entre espécies nativas de *Fragaria virginiana*, formando a espécie botânica *Fragaria ananassa*, Duch. (FILGUEIRA, 2008). O morango é um dos frutos mais apreciados no mundo devido ao seu sabor, coloração, aroma e benefícios para a saúde (BOMBARELY *et al.*, 2010). Além disso, apresenta grande relevância socioeconômica, manifestando, inclusive, capacidade de uso para fins ornamentais, quintais e canteiros (TIMM *et al.*, 2009)

a espécie é nativa de regiões de clima temperado da Europa, Mediterrâneo e das Américas (ANTUNES *et al.*, 2011), mas que, ao longo do tempo, adaptou-se a diferentes condições climáticas, sendo cultivado em todo mundo (SILVA *et al.*, 2007). No Brasil, nas regiões Sul, Sudeste, Centro-Oeste e Nordeste, a cultura do morangueiro apresenta grande relevância com relação a área cultivada (PILLOT, 2012). O morango se tornou a base da economia de muitos municípios, principalmente no Sul e Sudeste, onde juntos são responsáveis por 90% da área cultivada do país (NASCIMENTO; PEREIRA, 2016).

A planta é herbácea, estolonífera, rasteira e perene, mas que é cultivada como anual. Seu sistema radicular é fasciculado e superficial, e a maior parte da raiz encontra-se nos cinco primeiros centímetros do solo (FILGUEIRA, 2008). As folhas podem ser constituídas de três a cinco folíolos e as flores são agrupadas em inflorescências do tipo cimeria. O florescimento depende de fatores ambientais e o processo de polinização ocorre por insetos e pelo vento. O fruto é classificado como não climatérico e deve ser colhido no ponto de maturação (ANTUNES *et al.*, 2011).

### 2.2 Estresse salino em plantas

O estresse salino é considerado o mais severo de todos, afetando o solo, o crescimento das plantas e organismos vivos (NUMAM *et al.*, 2018). Aproximadamente 5,2 bilhões de ha de terras ao redor do mundo são afetados pela salinidade, erosão e degradação do solo, sendo que aproximadamente 50% dessas áreas são afetadas pela salinidade, o que prejudica os produtores (RIADH *et al.*, 2010).

O estresse salino pode ser descrito como forças osmóticas exercidas contra as plantas quando as mesmas se encontram em ambientes com altos níveis salinos. A salinização ocorre

quando são encontrados nos solos íons de sal solúveis em água como o sódio (Na), bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ), magnésio (Mg), sulfato ( $\text{SO}_4^{2-}$ ), potássio (K), cloreto ( $\text{Cl}^-$ ), cálcio (Ca) e carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) (ZHU *et al.*, 2005). Dentre as razões para o acúmulo de sal no solo, encontram-se a lixiviação e a drenagem insuficiente da água de irrigação (FRENKEL *et al.*, 1978). Estes íons presentes em grandes quantidades são considerados tóxicos para as plantas, podendo afetar negativamente o crescimento das mesmas (ZHU *et al.*, 2005).

Nas plantas, o estresse salino pode causar perturbações fisiológicas e bioquímicas, resultando em distúrbios nas relações hídricas, particularmente na fotossíntese, podendo inibir o acúmulo de íons  $\text{Na}^+$  e/ou  $\text{Cl}^-$  nos cloroplastos, os quais afetam os processos envolvidos na fotossíntese (TAIZ *et al.*, 2017). Também ocorrem alterações no acúmulo de solutos orgânicos compatíveis, tais como N-aminossolúveis e carboidratos solúveis, refletindo na absorção e na utilização de nutrientes essenciais para as plantas (AMORIM *et al.*, 2010). Também ocorre aumento da taxa de fotorrespiração, aumentando as espécies reativas de oxigênio (ROS) no interior das plantas (PARIDA; DAS, 2005).

### **2.2.1 Estresse salino em morangueiro**

O morangueiro é sensível à salinidade e um dos principais problemas para o seu cultivo é a salinidade encontrada nos solos, que afeta negativamente o crescimento e rendimento vegetativo (GARRIGA *et al.*, 2015). A salinidade interrompe o crescimento do morangueiro e pode estimular necrose foliar, senescência precoce e diminuição da área foliar fotossintética (YAGHUBI *et al.*, 2016). Além disso, o crescimento vegetativo, o teor relativo de água nas folhas, a quantidade de clorofila, a produção e qualidade dos frutos, também são afetados negativamente pela salinidade (GARRIGA *et al.*, 2015). As respostas à salinidade no morango variam com a duração e grau do estresse salino (leve, moderado, grave), do estágio de desenvolvimento da planta e sistema utilizado para o plantio (CARDEÑOSA *et al.*, 2015).

O crescimento do morangueiro é influenciado pela condutividade elétrica (CE), que se trata da medida indireta da concentração salina existente no solo e na solução nutritiva. O morango não tolera valores superiores a  $1,4 \text{ dS m}^{-1}$ , em cultivo utilizando substrato recomenda-se  $0,9 \text{ dS m}^{-1}$  e em hidropônico  $1,2$  a  $1,5 \text{ dS m}^{-1}$  (MARTINEZ BARROSO; ALVAREZ, 1999; ANDRIOLO *et al.*, 2009; PORTELA *et al.*, 2012).

## 2.3 Bactérias promotoras de crescimento

As bactérias promotoras do crescimento vegetal podem se estabelecer na rizosfera como organismos de vida livre, podendo colonizar a superfície das raízes das plantas (VEJAN *et al.*, 2016), e pertencem geralmente aos gêneros de *Bacillus* e *Pseudomonas*.

A capacidade de promover o crescimento das plantas está relacionada a mecanismos que atuam de forma direta ou indireta. Diretamente, por meio da ajuda no processo de fixação biológica de nitrogênio, produção e regulação de fitormônios e disponibilização de nutrientes do solo (KAUR *et al.*, 2016). Indiretamente, por meio da capacidade que esses microrganismos possuem de auxiliarem na proteção vegetal contra patógenos e danos provocados por estresses abióticos (HASSEN *et al.*, 2016).

Há interação benéfica entre plantas e as bactérias promotoras de crescimento, e esta interação encontra ampla aplicabilidade biotecnológica, principalmente no desenvolvimento de inoculantes, em substituição ao uso de agroquímicos (PREININGER *et al.*, 2018). Podem ser empregados como bioestimulantes, agentes de biocontrole, biofortificantes e biorremediação (NIA *et al.*, 2012; ALORI; BABALOLA, 2018).

Estudos estão sendo realizados para verificar a utilização de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) como nova estratégia para diminuir o efeito da salinidade (DIMKPA *et al.*, 2009). Esses estudos sugerem que a utilização dessas bactérias se trata de alternativa promissora para redução do estresse causado pela salinidade (YAO *et al.*, 2010).

### 2.3.1 Mecanismos para a promoção do crescimento de plantas

Dentre os mecanismos utilizados para promoção do crescimento das plantas, encontra-se a produção de diferentes fitormônios, como auxinas e citocininas (LÓPEZ-BUCIO *et al.*, 2007; MANTELIN; TOURAINE, 2004). O papel desses microrganismos na promoção do crescimento das plantas, gestão de nutrientes e controle de doenças é crucial, pois atuam colonizando a rizosfera e promovendo o crescimento das plantas por meio de mecanismos diretos ou indiretos (NIA *et al.*, 2012; RAMADOSS *et al.*, 2013).

As bactérias promovem o crescimento das plantas por meio direto, geralmente facilitando a aquisição de nutrientes como ferro, fósforo e nitrogênio, ou controlando os níveis hormonais das plantas. E indiretamente, diminuindo os efeitos inibitórios de vários agentes patogênicos. As plantas crescem mais facilmente na presença de hormônios vegetais, como citocininas, giberelinas, etileno, dentre outros, porém, é difícil entender como os fitormônios

produzidos pelas bactérias (auxinas, citocininas, dentre outros) agem no organismo da planta, uma vez que as mesmas moléculas são produzidas simultaneamente (SALAMONE *et al.*, 2001; JOO *et al.*, 2005).

Além do mecanismo citado, as bactérias promotoras de crescimento podem oferecer proteção às plantas contra o estresse salino e até mesmo o estresse hídrico, alterando a expressão do gene da planta para que a mesma não seja afetada por estas tensões. Em vários estudos as bactérias promotoras de crescimento aumentam a produção vegetal dos metabolitos betaína, prolina e treolase, assim como a síntese de enzimas e desintoxicam espécies reativas de oxigênio como a superóxido desmutase (SOD) e catalase (CAT) (NAUTIYAL *et al.*, 2013).

### **2.3.1.1 Produção de auxinas e citocininas**

As auxinas ajudam no crescimento, divisão celular e enraizamento das plantas. Os níveis de auxina e a quantidade de água podem modificar o sistema radicular da planta (LÓPEZ-BUCIO *et al.*, 2007). Grande número de bactérias produz ácido indol-3-butírico (AIB), ácido indol-3-acético (AIA) e outra gama de precursores da auxina (MARTÍNEZ-MORALES *et al.*, 2003). O AIA é uma forma ativa de auxina, devido ao seu ciclo de vida, torna-se um importante regulador no crescimento e desenvolvimento de plantas (OSTROWSKI; JAKUBOWSKA, 2008).

As citocininas são compostos derivados de purinas, envolvidas em processos de formação de calos e rebentos, ajudam na divisão celular e crescimento das células. Seu uso possibilita manter as células totipotentes nos meristemas das raízes, viabilizando o crescimento das plantas (HOWELL *et al.*, 2003). O aumento do crescimento das plantas também pode ser relacionado com a produção de citocinina realizada pelas bactérias (ARKHIPOVA *et al.*, 2005).

### **2.3.1.2 Enzima ACC desaminase**

Estresses abióticos, como alto teor de sal, induzem a síntese do etileno em plantas e inibem o crescimento das mesmas (ABELES *et al.*, 1992). Um dos possíveis mecanismos estudados é o da interação entre a enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) desaminase e o ACC derivado das plantas. A enzima ACC desaminase pode decompor o ACC derivado de plantas, que é o precursor do etileno, abaixando assim, o nível do etileno nas plantas. Isso possibilita compreender que as bactérias promotoras de crescimento em plantas, que apresentam a expressão da enzima ACC desaminase, podem diminuir todos os efeitos

promovidos pelo etileno de forma mais intensa quando a planta é submetida ao estresse, como a inibição do alongamento da raiz, murchamento de flor, abscisão foliar e inibição da interação planta e fungos micorrízicos (ABELES *et al.*, 1992; GLICK *et al.*, 1998; GLICK *et al.*, 2007).

A ACC desaminase está presente em poucas bactérias e desempenha papel importante no crescimento e desenvolvimento de plantas em condições de estresse, reduzindo o etileno produzido pelas plantas devido ao estresse em que foram submetidas (ZAHIR *et al.*, 2009). Por meio da engenharia genética grande número de plantas transgênicas já expressam o gene ACDS bacteriano (gene que codifica a enzima ACC-desaminase), que diminui os níveis de etileno nas plantas e confere proteção às mesmas (FARWELL *et al.*, 2007; ZHANG *et al.*, 2008).

Estudos realizados com isolados contendo a enzima ACC desaminase demonstraram, como esperado, o aumento significativo na produção de biomassa das plantas expostas ao ambiente salino e à seca (MAYAK *et al.*, 2004).

### **2.3.1.3 Compostos orgânicos voláteis**

Os compostos orgânicos voláteis possuem baixo peso molecular, a exemplo de cetonas, aldeídos, álcoois e hidrocarbonetos, que entram na atmosfera como vapores e desempenham papel muito importante na interação entre microrganismos e plantas (VESPERMANN *et al.*, 2007).

As bactérias promotoras de crescimento também podem produzir compostos voláteis, tais como o 2,3-butainodiol e acetoína, que podem ser usados para comunicação entre bactérias e plantas, e também promover o crescimento das plantas (ORTÍZ-CASTRO *et al.*, 2009). Além disso, podem atuar também como bio-promotor por meio de mecanismos conhecidos como resistência induzida sistêmica (RIS), que é utilizado como defesa das plantas, geralmente ativado quando há ataque de patógenos (RYU *et al.*, 2004).

Estudos realizados com a espécie *Arabidopsis thaliana*, a respeito dos compostos orgânicos voláteis emitidos por esses microrganismos, demonstraram que eles estimularam muitos sinais hormonais, que incluía auxina, citocininas, giberelinas, ácido salicílico e brassinosteroides (ZHANG *et al.*, 2008; RYU *et al.*, 2004).

## REFERÊNCIAS

- ABELES, F.; MORGAN, P.; SALTVEIT, M.J. **Ethylene in plant biology**. New York: Academic Press, 1992.
- ALORI, E.T.; BABALOLA, O. O. Microbial Inoculants for Improving Crop Quality and Human Health in Africa. **Front Microbiol.**, [S.l.], v. 19, n. 9, p. 2213, Sep 2018.
- AMORIM, A. V.; GOMES FILHO, E.; BEZERRA, M. A.; PRISCO, J. T.; LACERDA, C. F. de. "Respostas fisiológicas de plantas adultas de cajueiro anão precoce à salinidade." **Revista Ciência Agronômica**, [S.l.], v. 41, n. 1, p. 113-121, 2010.
- ANDRIOLO, J. L.; DJEIMI, I. J.; SCHMITTI, O. J.; VAZI, M. A. B.; CARDOSO, F. L. ERPEN, L. Concentração da solução nutritiva no crescimento da planta, na produtividade e na qualidade de frutas do morangueiro. **Ciência Rural**, [S.l.], v. 39, p. 684-690, 2009.
- ANTUNES, L. E. C.; CARVALHO, G. L.; SANTOS, A. dos. "A cultura do morango." Col Criar Plantar ABC 500P/500R Saber (INFOTECA-E). Informação Tecnológica; Pelotas: Embrapa, Clima Temperado, 2011.
- ARKHIPOVA, T. N. *et al.* "Ability of bacterium *Bacillus subtilis* to produce cytokinins and to influence the growth and endogenous hormone content of lettuce plants." **Plant Soil**, [S.l.], v. 272, n. 1-2, p. 201-209, 2005.
- BOMBARELY, A. C. *et al.* "Generation and analysis of ESTs from strawberry (*Fragaria xananassa*) fruits and evaluation of their utility in genetic and molecular studies." **BMC Genomics**, [S.l.], v. 11, n. 1, p. 503, 2010.
- CARDEÑOSA, V.; MEDRANO, E.; LORENZO, P.; SÁNCHEZ-GUERRERO, M. C.; CUEVAS, F.; PRADAS, I.; MORENO-ROJAS, J. M. Effects of salinity and nitrogen supply on the quality and health-related compounds of strawberry fruits (*Fragaria × ananassa* cv. *Primoris*). **J Sci Food Agric**, [S.l.], v. 95, n. 14, p. 2924–2930, 2015.
- CARVALHO, S. P. de. História e evolução da cultura do morangueiro no Brasil nos últimos 50 anos. **Horticultura Brasileira**, Viçosa, v. 29, n.2, 2011.
- DIMKPA, C.; WEINAND, T.; ASCH, F. "Plant–rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions." **Plant, Cell & Environment**, [S.l.], v. 32, n. 12, p. 1682-1694, 2009.
- FARWELL, A. J. *et al.* "Tolerance of transgenic canola plants (*Brassica napus*) amended with plant growth-promoting bacteria to flooding stress at a metal-contaminated field site." **Environmental Pollution**, [S.l.], v. 147, n. 3, p. 540-545, 2007.
- FILGUEIRA, F. A. R. "**Novo manual de olericultura**: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças." Viçosa: UFV, 2008.
- FRENKEL, H. *et al.* "Effects of clay type and content, exchangeable sodium percentage, and electrolyte concentration on clay dispersion and soil hydraulic conductivity". **Soil Sci. Soc. Am. J.**, [S.l.], v. 42, n. 1, p. 32–39, 1978.

GARRIGA, M. *et al.* Effect of salt stress on genotypes of commercial (*Fragaria x ananassa*) and Chilean strawberry (*F. chiloensis*). **Sci Hortic**, [S.l.], v. 195, p. 37–47, 2015.

GLICK, B. R.; CHENG, Z.; CZARNY, J.; DUAN, J. Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria. New perspectives and approaches in plant growth-promoting, Rhizobacteria research. **Eur J Plant Pathol.**, [S.l.], v. 119, p. 329-339, 2007.

GLICK, B. R.; PENROSE, D. M.; LI, J. "A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria." **Journal of Theoretical Biology**, [S.l.], v. 190, n. 1, p. 63-68, 1998.

HAMDAN, S. H. *et al.* "Electrokinetic remediation technique: an integrated approach to finding new strategies for restoration of saline soil and to control seawater intrusion." **ChemElectroChem.**, [S.l.], v. 1, n. 7, p. 1104-1117, 2014.

HASSEN, A. I.; BOPAPE, F. L.; SANGER, E L. K. Microbial Inoculants as Agents of Growth Promotion and Abiotic Stress Tolerance in Plants. **Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity**. New Delhi: Springer India, 2016. p 23–36.

HOWELL, S. H., S. LALL AND P. CHE. "Cytokinins and shoot development." **Trends in Plant Science**, [S.l.], v. 8, n. 9, p. 453-459, 2003.

JOO, G. J. *et al.* "Gibberellins-producing rhizobacteria increase endogenous gibberellins content and promote growth of red peppers." **Journal of Microbiology**, [S.l.], v. 43, n. 6, p. 510-515, 2005.

KAUR, H.; KAUR, J. E.; GERA, R. Plant Growth Promoting Rhizobacteria: A Boon to Agriculture. **Int J Cell Sci Biotechnol**, [S.l.], v. 5, p. 17–22, 2016.

KEUTGEN, A. J.; PAWELZIK, E. "Impacts of NaCl stress on plant growth and mineral nutrient assimilation in two cultivars of strawberry." **Environmental Experimental Botany**, [S.l.], v. 65, n. 2-3, p. 170-176, 2009.

LÓPEZ-BUCIO, J. *et al.* "Bacillus megaterium rhizobacteria promote growth and alter root-system architecture through an auxin-and ethylene-independent signaling mechanism in *Arabidopsis thaliana*." **Molecular Plant-Microbe Interactions**, [S.l.], v. 20. n. 2, p. 207-217, 2007.

MANTELIN, S.; TOURAINÉ, B. "Plant growth-promoting bacteria and nitrate availability: impacts on root development and nitrate uptake." **Journal of experimental Botany**, [S.l.], v. 55, n. 394, p. 27-34, 2004.

MARTINEZ-BARROSO, C.; ALVAREZ, C. E. Toxicity symptoms and tolerance of strawberry to salinity in the irrigation water. **Scientia Horticulturae**, [S.l.], v. 71, p. 177-188, 1997.

MARTÍNEZ-MORALES, L. J. *et al.* "Indole-3-butyric acid (IBA) production in culture medium by wild strain *Azospirillum brasilense*." **J FEMS Microbiology Letters**, [S.l.], v. 228, n. 2, p. 167-173, 2003.

- MAYAK, S.; TIROSH, T.; GLICK, B. R. "Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress." **Plant physiology Biochemistry**, [S.l.], v. 42, n. 6, p. 565-572, 2004.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. "A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures." **Physiologia Plantarum**, [S.l.], v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.
- NASCIMENTO, W. M.; PEREIRA, R. B. **Hortaliças de propagação vegetativa: técnicas de propagação**. Brasília, DF: Embrapa, 2016. p. 229.
- NAUTIYAL, C. S. *et al.* "Plant growth-promoting bacteria *Bacillus amyloliquefaciens* NBRISN13 modulates gene expression profile of leaf and rhizosphere community in rice during salt stress." **Plant Physiology Biochemistry**, [S.l.], v. 66, p. 1-9, 2013.
- NIA, S. H. *et al.* "Yield and yield components of wheat as affected by salinity and inoculation with *Azospirillum* strains from saline or non-saline soil." **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, [S.l.], v. 11, n. 2, p. 113-121, 2012.
- NUMAN, M. *et al.* "Plant growth promoting bacteria as an alternative strategy for salt tolerance in plants: a review". **Microbiological Research**, [S.l.], v. 209, p. 21-32, 2018.
- ORTÍZ-CASTRO, R. H. A. *et al.* "The role of microbial signals in plant growth and development." **Plant Signaling**, [S.l.], v. 4, n. 8, p. 701-712, 2009.
- OSTROWSKI, M.; JAKUBOWSKA, A. "Identification of enzyme activity that conjugates indole-3-acetic acid to aspartate in immature seeds of pea (*Pisum sativum*)." **Journal of Plant Physiology**, [S.l.], v. 165, n. 5, p. 564-569, 2008.
- PARIDA, A.K.; DAS, A. B. "Salt tolerance and salinity effects on plants: a review". **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S.l.], v. 60, p. 324-349, 2005.
- PILLON, C. N. Prefácio. *In*: VIZZOTO, M. *et al.* (Orgs). Palestras e resumos. *In*: SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO, 6., 2012, Brasília. **Anais [...]. ENCONTRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS**, 5., 2012, Brasília. **Anais [...]. Brasília Nativas do Mercosul**. Brasília: Embrapa, 2012. p. 5.
- PORTELA, I. P.; PEIL, R. M. N.; ROMBALDI, C. V. Efeito da concentração de nutrientes no crescimento, produtividade e qualidade de morangos em hidroponia. **Horticultura Brasileira**, [S.l.], v. 30, p. 266-273, 2012.
- PREININGER, C. SAUER, U. BEJARANO, A. E.; BERNINGER, T. Concepts and applications of foliar spray for microbial inoculants. **Appl Microbiol Biotechnol**, [S.l.], v. 102, p. 7265-7282, 2018.
- RABHI, M. C. *et al.* "Evaluation of the capacity of three halophytes to desalinate their rhizosphere as grown on saline soils under nonleaching conditions." **African Journal of Ecology**, [S.l.], v. 47, n. 4, p. 463-468, 2009.
- RAMADOSS, D. *et al.* "Mitigation of salt stress in wheat seedlings by halotolerant bacteria isolated from saline habitats." **Springer Open Journal**, [S.l.], v. 2, n. 1, p. 6, 2013.

RIADH, K. M. *et al.* Responses of halophytes to environmental stresses with special emphasis to salinity. **Advances in Botanical Research**, Elsevier, v. 53, p. 117-145, 2010.

RYU, C-M. *et al.* "Bacterial volatiles induce systemic resistance in Arabidopsis." **Plant Physiology**, [S.l.], v. 134, n. 3, p. 1017-1026, 2004.

SALAMONE, I. G. de; HYNES, R. K.; NELSON, L. M. "Cytokinin production by plant growth promoting rhizobacteria and selected mutants." **Canadian Journal of Microbiology**, [S.l.], v. 47, n. 5, p. 404-411, 2001.

SILVA, A.; DIAS, M.; MARO, L. "Botânica e fisiologia do morangueiro." **Informe Agropecuário**, [S.l.], v. 28, n. 236, p. 7-3, 2007.

SILVA, E. M. *et al.* Morfofisiologia de portaenxerto de goiabeira irrigado com águas salinizadas sob doses de nitrogênio. **Comunicata Scientiae**, [S.l.], v. 8, n. 1, p. 32-42, 2017.

SINGH, T.; PALEG, I.; ASPINALL, D. "Stress Metabolism I. Nitrogen Metabolism and Growth in the Barley Plant During Water Stress." **Australian Journal of Biological Sciences**, [S.l.], v. 26, n. 1, p. 45-56, 1973.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *et al.* **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TIMM, L. C. *et al.* **Morangueiro irrigado**. Aspectos técnicos e ambientais do cultivo. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 2009. p. 163.

TONIN, J. *et al.* Controle de plantas daninhas e aspectos produtivos de morangueiro sob diferentes coberturas do solo. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, [S.l.], v. 16, n. 1, p. 48-53, 2017.

VEJAN, P. *et al.* Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Agricultural Sustainability-A Review. **Molecules**, [S.l.], v. 21, p. 573, 2016.

VESPERMANN, A. *et al.* "Rhizobacterial volatiles affect the growth of fungi and Arabidopsis thaliana." **Applied and Environmental Microbiology**, [S.l.], v. 73, n. 17, p. 5639-5641, 2007.

WANG, W. *et al.* "Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance." **Planta**, [S.l.], v. 218, n. 1, p. 1-14, 2003.

YAGHUBI, K. H. *et al.* Potassium silicate alleviates deleterious effects of salinity on two strawberry cultivars grown under soilless pot culture. **Sci Hort.**, [S.l.], v. 213, p. 87-95, 2016.

YAO, L. Z. *et al.* "Growth promotion and protection against salt stress by Pseudomonas putida Rs-198 on cotton." **European Journal of Soil Biology**, [S.l.], v. 46, n. 1, p. 49-54, 2010.

ZAHIR, Z. A. *et al.* "Comparative effectiveness of *Pseudomonas* and *Serratia* sp. containing ACC-deaminase for improving growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salt-stressed conditions." **Arch Microbiol**, [S.l.], v. 191, n. 5, p. 415-424, 2009.

ZHANG, H. *et al.* "Soil bacteria confer plant salt tolerance by tissue-specific regulation of the sodium transporter HKT1." **Molecular Plant-Microbe Interactions**, [S.l.], v. 21, n. 6, p. 737-744, 2008.

ZHU, J.-K. *et al.* "Salt and crops: salinity tolerance." **Council for Agricultural Science**, [S.l.], v. 32, n. 2, p. 13, 2005.

**SEGUNDA PARTE – ARTIGOS\***

## ARTIGO 1 BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO NA MANUTENÇÃO DE PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS EM PLANTAS DE MORANGUEIRO SUBMETIDAS AO ESTRESSE SALINO

### RESUMO

O morangueiro é uma planta com pouca tolerância à salinidade, isso se torna um fator limitante à sua produção. A salinidade afeta diretamente o crescimento das plantas e o acúmulo de sais no cloroplasto, podendo interferir na síntese de pigmentos e induzir sua destruição. O objetivo do trabalho foi obter bactérias promotoras de crescimento de plantas que melhorem a síntese de pigmentos fotossintéticos em plantas de morangueiro submetidas ao ambiente salino. O estudo foi constituído de seis tratamentos, sendo dois controles (zero e salino) e quatro contendo as bactérias (*Pseudomonas fluorescens*, *Streptomyces* sp., *Rhizobium* sp., *Enterobacter* sp.). Plantas de morangueiro cultivar Pircinque oriundas do cultivo *in vitro* foram inoculadas com as bactérias e transferidas para vasos de 2L contendo substrato comercial Tropstrato HA Hortaliças acrescido de 50 µM de NaCl. Após 90 dias, foram avaliados clorofila *a*, *b* e total e carotenoides e comprimento de parte aérea, comprimento de raiz, número de folhas, massa fresca e seca de plantas. A bactéria *Enterobacter* sp. foi a mais promissora em todos os parâmetros testados, teores de clorofila *a*, *b*, total e carotenoides. Com relação aos parâmetros fitotécnicos as bactérias não demonstraram ser eficientes na contenção dos danos provocados pelo estresse. O microrganismo não proporcionou maior tolerância das plantas de morangueiro à salinidade. Porém, a bactéria selecionada *Enterobacter* sp. pode ser utilizada em plantas de morangueiro na cultivar Pircinque que venham sofrer com salinidade, a fim de minimizar os impactos dos íons salinos na síntese de pigmentos fotossintéticos.

Palavras chaves: Microrganismos. Salinidade. Fotossíntese.

### ABSTRACT

Strawberry is a plant with little tolerance to salinity, this becomes a limiting factor for its production. Salinity directly affects plant growth and the accumulation of salts in the chloroplast, which can interfere with pigment synthesis and induce its destruction. The objective of this work was to obtain plant growth-promoting bacteria that improve the synthesis of photosynthetic pigments in strawberry plants subjected to saline environment. The study consisted of six treatments, two controls (zero and saline) and four containing the bacteria (*Pseudomonas fluorescens*, *Streptomyces* sp., *Rhizobium* sp., *Enterobacter* sp.). Strawberry plants cultivar Pircinque from *in vitro* cultivation were inoculated with the bacteria and transferred to 2L pots containing commercial substrate Tropstrato HA Hortaliças added with 50 µM of NaCl. After 90 days, chlorophyll *a*, *b* and total and carotenoids and length of area, root length, number of leaves, fresh and dry mass of plants were evaluated. The *Enterobacter* sp. was the most promising in all tested parameters, chlorophyll *a*, *b*, total and carotenoid contents. Regarding the phytotechnical parameters, the bacteria did not prove to be efficient in containing the damage caused by stress. The microorganism did not provide greater tolerance of strawberry plants to salinity. However, the selected bacteria *Enterobacter* sp. can be used in strawberry plants of the Pircinque cultivar that may suffer from salinity, in order to minimize the impacts of saline ions in the synthesis of photosynthetic pigments.

Keywords: Microorganisms. Salinity. Photosynthesis.

## 1 INTRODUÇÃO

O morangueiro é uma espécie frutífera, pertencente à família Rosaceae, originária da Europa ocasionada pelo cruzamento entre espécies selvagens *Fragaria chiloenses* e *Fragaria virginiana*, resultando na espécie *Fragaria x ananassa* Duch. (VIGNOLO *et al.*, 2016). Os países que se destacam na produção do morango são Estados Unidos, Coréia do Sul, Espanha, Japão e Polônia (CERUTTI *et al.*, 2018). Pircinque é uma cultivar de morangueiro originária da Itália e, desde que foi introduzida no Brasil seu desenvolvimento vem sendo estudado nas condições do país (CAMARGO *et al.*, 2020). Fagherazzi *et al.* (2017) compararam essa cultivar com outras utilizadas no planalto sul catarinense e concluíram que a cultivar italiana pode ser considerada promissora para os produtores brasileiros.

Dentre os estresses abióticos existentes, o estresse salino é considerado um dos mais prejudiciais às culturas (ZHU; GONG, 2014). Uma vez que a salinização dos solos restringe significativamente toda a produção agrícola, devido ao estresse osmótico provocado pelos sais, causando impacto negativo no crescimento e desenvolvimento das plantas e afetando diretamente o rendimento da produção (ZHAO *et al.*, 2016).

O morangueiro quando exposto ao estresse salino é afetado negativamente, reduzindo o crescimento da cultura, estimulando necroses foliares, senescência, diminuição do teor relativo de água nas folhas, quantidade de clorofila, produção e qualidade dos frutos (YAGHUBI *et al.*, 2016; GARRIGA *et al.*, 2015). O acúmulo de íons salinos como o Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> afetam diretamente os pigmentos fotossintéticos das plantas, como a clorofila *a*, *b*, total e conteúdo de carotenoides, que tendem a diminuir com o aumento da concentração desses íons nas plantas. O conteúdo de clorofila é afetado pela presença de sais em excesso nos tecidos vegetais que podem causar desequilíbrio homeostático, restringindo, dessa maneira, o ferro, que é um elemento essencial para a síntese da clorofila (SABIR *et al.*, 2012).

Estudos estão sendo realizados a fim de investigar se bactérias promotoras de crescimento de plantas podem aumentar o nível de tolerância ao sal, já que as bactérias se mostram capazes de melhorar a resposta fisiológica da planta e o seu potencial antioxidante (NUMAM *et al.*, 2018). Sendo assim, o objetivo do trabalho foi obter bactérias promotoras de crescimento de plantas que melhorem a síntese de pigmentos fotossintéticos em plantas de morangueiro submetidas ao ambiente salino.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Multiplicação e enraizamento do material vegetal

As fases de multiplicação e enraizamento *in vitro* do material vegetal foram realizadas no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG. No experimento foram utilizadas plantas de morangueiro da cultivar Pircinque.

Primeiramente, as plantas foram multiplicadas em frascos contendo 50 mL de meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) acrescido de 1 mg L<sup>-1</sup> de BAP (6-benzilaminopurina), e permaneceram por 30 dias em sala de crescimento com iluminação artificial fornecida por lâmpadas de LED branca e irradiância média de 49,4 μmol m<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>, com fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 25 ± 2 °C. Em seguida, as plantas foram transferidas para frascos contendo 50 mL do meio de cultura MS sem regulador de crescimento e mantidas em sala de crescimento com iluminação artificial fornecida por lâmpadas de LED branca e irradiância média de 49,4 μmol m<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>, com fotoperíodo de 16 h e temperatura de 25 ± 2 °C por 30 dias para o enraizamento.

### 2.2 Reativação e inoculação de isolados bacterianos

Nessa etapa foram utilizados quatro isolados bacterianos, sendo dois considerados tolerantes à salinidade (*Streptomyces* sp., *Pseudomonas fluorescens*), que vieram da Coleção de Cultura de Microbiologia Agrícola (CCMA) da UFLA, e dois isolados da folha do morangueiro (*Rhizobium* sp. e *Enterobacter* sp.). Para a reativação, os isolados foram transferidos de um Eppendorf para placas de Petri contendo o meio ágar nutriente (5 g L<sup>-1</sup> de peptona, 3 g L<sup>-1</sup> de extrato de levedura, 1 g L<sup>-1</sup> de extrato de carne e 15 g L<sup>-1</sup> de ágar), onde foram mantidos por 24 h em BOD à 30 °C. Após o crescimento das colônias, pequenas amostras dos isolados foram transferidas para 1000 mL do meio Caldo Nutriente (5 g L<sup>-1</sup> de peptona, 3 g L<sup>-1</sup> de extrato de levedura e 1 g L<sup>-1</sup> de extrato de carne) onde ficaram em agitação e em temperatura de 30 °C por 24 h. A inoculação foi realizada expondo as plantas em contato com a solução final durante 5 min. Para quantificar o conteúdo de microrganismos do caldo, foi realizada a medição da densidade óptica (OD), que contabilizou a OD de 0,319 correspondendo aproximadamente à viabilidade de 10<sup>-8</sup> segundo a tabela proposta por Madgan *et al.* (2016).

### **2.3 Exposição do material ao estresse salino**

Primeiramente, as plantas oriundas do cultivo *in vitro* passaram pelo processo de aclimatização, sendo transferidas para bandejas contendo substrato comercial Tropstrato HA Hortaliças (à base de casca de pinus, turfa, vermiculita, superfosfato simples enitrato de potássio) durante 30 dias em casa de vegetação. Posteriormente, as plantas oriundas da aclimatização foram inoculadas com os microrganismos e transferidas para vasos de 2 L contendo o mesmo substrato descrito anteriormente acrescido de 50  $\mu\text{M}$  de NaCl, onde permaneceram por 90 dias. A concentração salina foi determinada através de um pré-teste, onde, a melhor concentração encontrada para o objetivo desse estudo foi de 50  $\mu\text{M}$  de NaCl.

### **2.4 Análises fitotécnicas**

As análises fitotécnicas foram realizadas no Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Agricultura da ESAL/UFLA. Para tal, foram avaliados comprimento de parte aérea, comprimento de raiz, número de folhas, massa fresca e seca de plantas. Para tais análise foram utilizadas oito amostras biológicas. Para as mensurações de comprimento de parte aérea e comprimento de raízes foi utilizada régua, e para análise de massa fresca e seca, a balança analítica de precisão. Em seguida, as plantas foram levadas para a estufa de circulação forçada de ar à temperatura de 40 °C até peso constante.

### **2.5 Análises de pigmentos fotossintéticos**

Para a análise foram utilizados 0,05 g de material vegetal fresco, que, em seguida foram colocados em tubos de ensaio contendo 10 mL de acetona 80% para extração dos pigmentos. Os tubos foram envoltos por papel alumínio para evitar o contato da amostra com a luz, evitando a degradação da clorofila. Após 24 h em geladeira, foi mensurado a absorvidade das amostras em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 470, 645, 652 e 663 nm (SCOPEL; BARBOSA; VIEIRA, 2011). A análise foi realizada em triplicata com quatro repetições biológicas por tratamento, sendo três repetições técnicas para cada repetição biológica. As equações utilizadas no cálculo das clorofilas *a*, *b*, total e de carotenoides foram as propostas por Li, Tang e Xu (2013).

## 2.6 Delineamento experimental e análise estatística

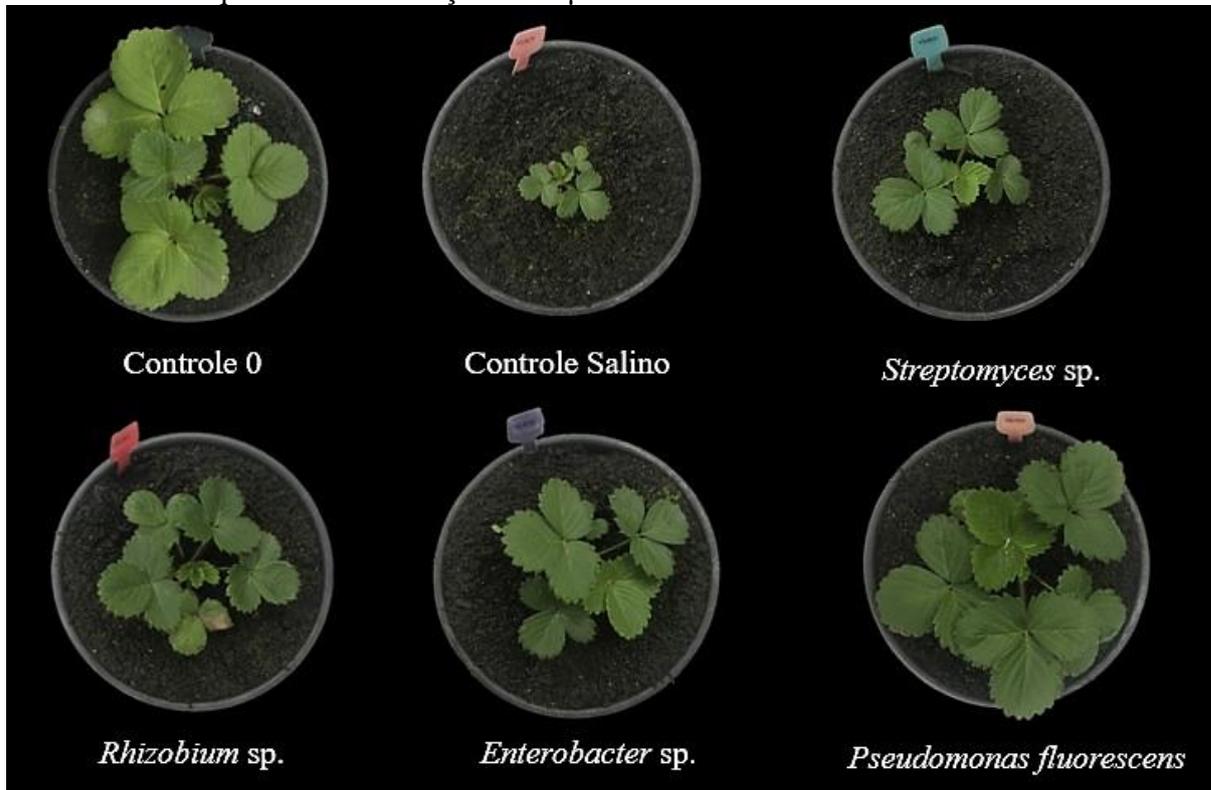
O delineamento foi inteiramente casualizado, constituído de seis tratamentos, sendo dois tratamentos controle (controle 0, controle salino) e quatro contendo bactérias (*Streptomyces* sp., *Pseudomonas fluorescens*, *Rhizobium* sp. e *Enterobacter* sp.) acrescidos de 50 µM de NaCl, com dez repetições contendo uma planta por repetição.

Os dados foram submetidos à análise de variância e, posteriormente, ao teste de Scott-Knott à 5% de probabilidade por meio do software SISVAR (FERREIRA, 2011).

## 3 RESULTADOS

A Figura 1 permite a avaliação visual sobre o efeito das bactérias promotoras de crescimento nas plantas de morangueiro da cultivar Pircinque submetidas às condições de estresse salino.

Figura 1 - Visualização do efeito de bactérias promotoras de crescimento em morangueiro cv. Pircinque sob concentração de 50µM de NaCl.

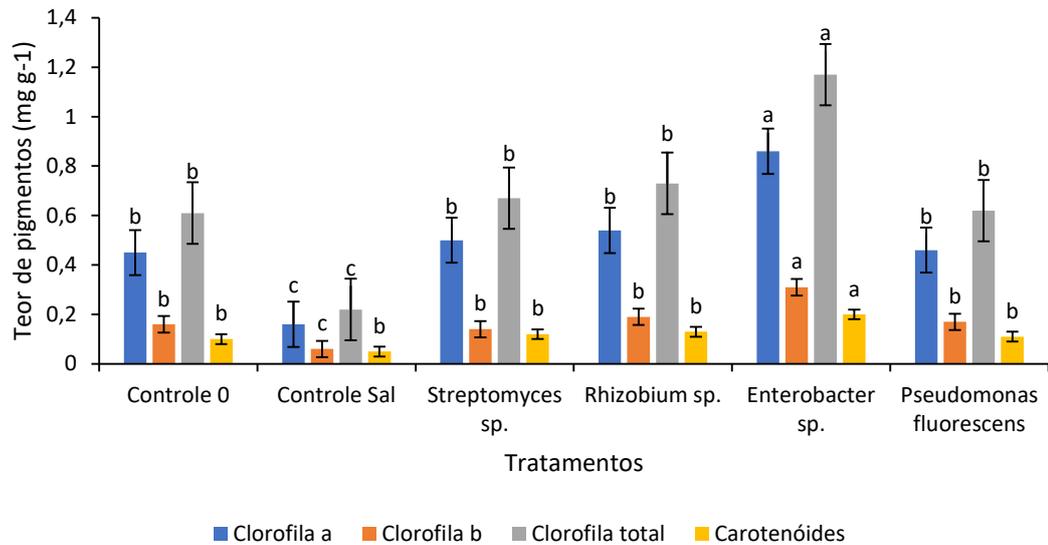


Fonte: Da autora (2021).

### 3.1 Efeito das bactérias promotoras de crescimento nos pigmentos fotossintéticos

Os teores de clorofila *a*, *b* e total foram influenciadas positivamente pela interação entre as plantas e as bactérias promotoras de crescimento no ambiente de estresse salino (FIGURA 2).

Figura 2 - Efeito das bactérias promotoras de crescimento no conteúdo de clorofila *a*, *b*, total e carotenoides de morangueiro da cultivar Pircinque sob concentração de 50 $\mu$ M de NaCl.



\*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott  
Fonte: Da autora (2021).

Com a utilização da *Enterobacter* sp. os níveis de clorofila *a*, *b* e total foram consideravelmente maiores do que as demais, inclusive maior do que o teor apresentado pelo controle 0. Isso demonstra que a mesma obteve maior eficiência na ajuda da manutenção da síntese desses pigmentos.

Com relação ao teor de carotenoides, houve interação benéfica entre as plantas e as bactérias quando comparadas ao controle salino, tendo também como destaque a *Enterobacter* sp., a qual apresentou níveis significativos de carotenoides.

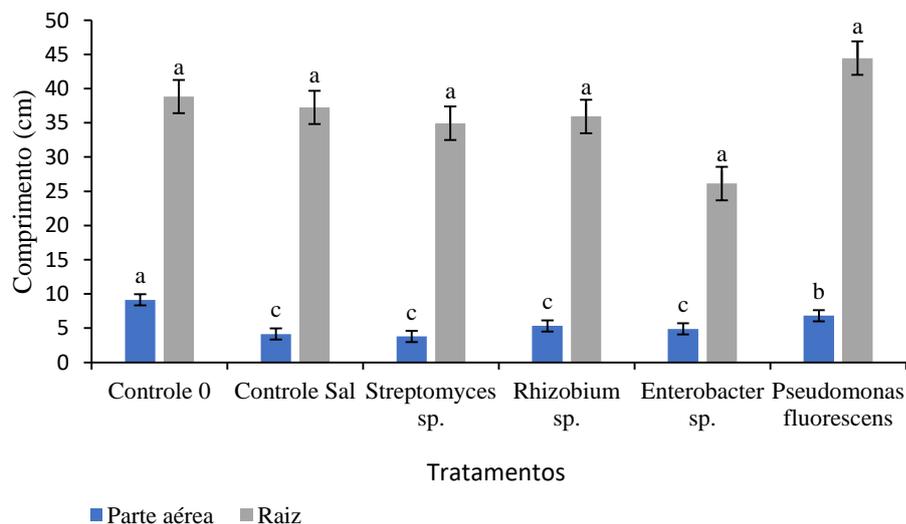
### 3.2 Efeito das bactérias promotoras de crescimentos nas características fitotécnicas

#### 3.2.1 Comprimento de parte aérea e raiz

O comprimento da parte aérea foi afetado negativamente pela quantidade de sal existente no solo e a maioria das bactérias não demonstrou a capacidade efetiva de ajudar as mudas de morangueiro a suportar a salinidade (FIGURA 3). Isso pode ser percebido pela diferença existente entre as plantas do controle 0 e as demais, uma vez que os resultados das plantas inoculadas com as bactérias foram semelhantes aos valores encontrados no controle salino. Com exceção das plantas tratadas com *Pseudomonas fluorescens* que apresentaram resultado mais próximo às plantas do controle 0. Esse fato pode ter ocorrido devido ao alto grau de estresse que as plantas foram submetidas tanto através do contato com o NaCl quanto pelo estresse provocado pela colonização do sistema radicular pelas bactérias, até as mesmas se estabelecerem e entrarem em sintonia com a planta.

Para o comprimento da raiz, não houve diferença significativa entre todos os tratamentos (FIGURA 3).

Figura 3 - Efeito das bactérias promotoras de crescimento no comprimento de raiz e parte aérea de morangueiro da cultivar Pircinque sob concentração de 50 $\mu$ M de NaCl.

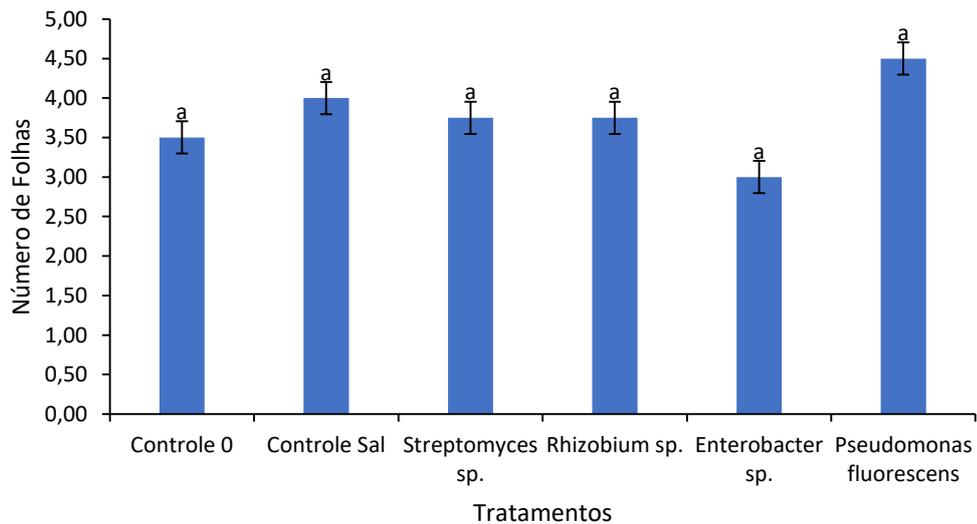


\*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott  
Fonte: Da autora (2021).

### 3.2.2 Número de folhas

A interação significativa não foi observada entre o teor de NaCl e as bactérias promotoras de crescimento (FIGURA 4). Isso demonstra que a utilização dos microrganismos não teve influência positiva no desenvolvimento de número maior de folhas.

Figura 4 - Efeito das bactérias promotoras de crescimento no número de folhas de morangueiro da cultivar Pircinque sob concentração de 50 $\mu$ M de NaCl.

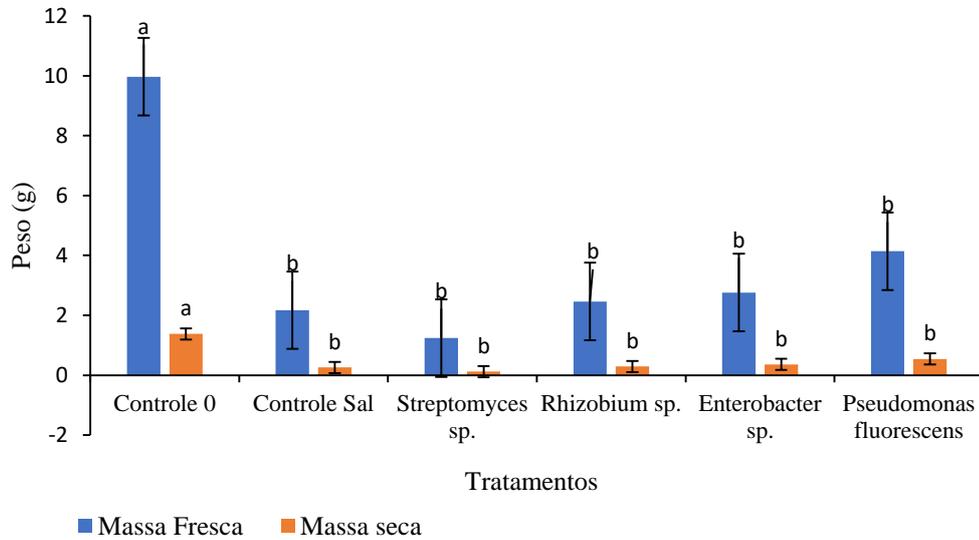


\*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott  
Fonte: Da autora (2021).

### 3.2.3 Massa fresca e seca

Para a massa fresca e seca foi possível observar que a interação entre as plantas inoculadas com as bactérias promotoras de crescimento e o substrato contendo sal não surtiram efeito positivo esperado (FIGURA 5). As plantas foram afetadas consideravelmente pela presença de sal e as bactérias e não demonstraram eficácia na diminuição dos efeitos do sal, tanto na massa seca quanto na fresca, já que os resultados obtidos não diferiram significativamente do controle salino.

Figura 5 - Efeito das bactérias promotoras de crescimento no conteúdo de massa fresca e seca de morangueiro da cultivar Pircinque sob concentração de 50 $\mu$ M de NaCl.



\*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott  
 Fonte: Da autora (2021).

#### 4 DISCUSSÃO

O efeito negativo do estresse salino no crescimento de plantas tem grande relação com a diminuição da atividade fotossintética (HAJLAOUI *et al.*, 2006). O estresse salino pode prejudicar diretamente a fotossíntese, uma vez que o acúmulo de íons salinos como Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> no cloroplasto pode comprometer a síntese de pigmentos fotossintéticos, e, inclusive, induzir a sua destruição (SABIR *et al.*, 2012). Além disso, para que haja síntese adequada desses pigmentos é necessário que exista balanço hídrico na planta. Esse balanço tende a ser prejudicado quando a planta se encontra em níveis consideráveis de sal, pois interfere na atuação de íons-chave na formação de pigmentos, como o ferro, que não consegue ser anexado à molécula de protoporfirina na formação da clorofila (SABIR *et al.*, 2012).

Em plantas superiores são sintetizados e se localizam geralmente nos cloroplastos (MANE *et al.*, 2010). Estes pigmentos possuem duas funções importantes, ajudam na proteção do cloroplasto contra o estresse oxidativo e na captação de luz de parte da radiação que não consegue ser absorvida pelas clorofilas (ARMSTRONG; HEARST, 1996). O estresse provocado pela salinidade faz com que haja redução no teor de carotenoides encontrado nas folhas das plantas (PARIDA; DAS, 2005).

No que diz respeito ao teor de pigmentos fotossintéticos, os resultados obtidos no presente trabalho foram muito significativos. O aumento provocado pela utilização da

*Enterobacter* demonstrou que é possível que a interação existente entre planta e microrganismo tenha favorecido a manutenção do balanço hídrico da planta, evitando, dessa forma, a diminuição da síntese ou a degradação dos pigmentos fotossintéticos. Isso pode ter conferido bom nível de tolerância à salinidade das plantas de morangueiro da cultivar Pircinque, e não permitindo que as mesmas tivessem seu crescimento prejudicado.

Mohamed e Gomma (2012) estudaram o efeito de duas bactérias promotoras de crescimento (*Bacillus subtilis* e *Pseudomonas fluorescens*) no crescimento e composição de pigmentos em plantas de rabanete, e também encontraram resultados positivos. Os quais corroboram com os dados encontrados no presente estudo a respeito dos microrganismos. Além disso, Mohamed e Gomma (2012) também observaram que a relação clorofila *a*, *b*, *a/b* e conteúdo de carotenoides nas folhas de plantas de rabanete diminuíram significativamente com o aumento da quantidade de sal (NaCl), porém, quando houve inoculação das bactérias, ocorreu aumento significativo da concentração de clorofila *a*, *b*, *a/b* e carotenoides.

Abd\_Allah *et al.* (2018) também encontraram resultados positivos em seus estudos envolvendo plantas de grão de bico submetidas ao estresse salino e a bactéria *Bacillus subtilis* (BERA 71), nos quais a inoculação do microrganismo resultou em aumento na síntese de pigmentos fotossintéticos (clorofila *a*, *b* e carotenoides) quando comparado às plantas não inoculadas expostas somente ao estresse, que obteve decréscimo nos níveis de pigmentos. Chegando à conclusão de que a utilização do microrganismo aliviou significativamente o declínio da síntese de pigmentos que foi induzida pelo NaCl.

Muito se sabe que diferentes tipos de bactérias promotoras de crescimento de plantas possuem a capacidade de ajudarem no combate de patógenos e promoverem o crescimento de plantas, isso pode ocorrer por meio de diferentes mecanismos, sendo eles diretos ou indiretos, por meio da produção de fitormônios, mineralização, melhorando a disponibilidade de nutrientes e a decomposição de matéria orgânica (VALENCIA-CANTERO *et al.*, 2007). Algumas pesquisas também apontam que os microrganismos possuem a capacidade de aumentar o nível de tolerância das plantas, pelo fato de melhorar sua resposta fisiológica e seu potencial antioxidante (NUMAN *et al.*, 2018).

Sendo assim, por meio das análises de crescimento realizadas nesse estudo, foi observado que as bactérias promotoras de crescimento não foram capazes de aumentar os parâmetros de crescimento das plantas de morangueiro submetidos ao ambiente salino, uma vez que as plantas inoculadas se assemelharam às plantas que estavam somente em contato com o sal e tiveram parâmetros inferiores ao das plantas utilizadas como testemunhas. Esse fato pode ter ocorrido porque as plantas passaram por dois tipos de estresse, o provocado pelo sal, e pela

própria tentativa da bactéria de colonizar a planta, o que poderia ter prejudicado ainda mais seu crescimento.

## 5 CONCLUSÃO

Os microrganismos não foram benéficos em promover a tolerância do morangueiro à salinidade. Porém, a bactéria selecionada *Enterobacter* sp. pode ser utilizada em plantas de morangueiro da cultivar Pircinque que venham a sofrer com salinidade, a fim de minimizar os impactos do efeito homeostático e, por consequência, dos íons salinos na síntese de pigmentos fotossintéticos.

## REFERÊNCIAS

- ABD-ALLAH, E. F. *et al.* Endophytic bacterium *Bacillus subtilis* (BERA 71) improves salt tolerance in chickpea plants by regulating the plant defense mechanisms, **Journal of Plant Interactions**, [S.l.], v. 13, n. 1, p. 37-44, 2018.
- ARMSTRONG, G. A.; HEARST, J. E. Genetics and molecular biology of carotenoid pigment biosynthesis. **The FASEB Journal**, [S.l.], v. 10, n. 2, p. 228-237, 1996.
- CAMARGO, S. S. *et al.* Cultivo In vitro do cultivar italiano de morangueiro Pircinque – In vitro cultivation of the Italian strawberry cultivar Pircinque. **Acta Biológica Catarinense**, [S.l.], v. 7, n. 1, p. 57-74, 2020.
- CERUTTI, P. H. *et al.* Desafios do cultivo de morangueiro no brasil. **Revista Científica Rural**, [S.l.], v. 20, n. 2, p. 236-252, 2018.
- FAGHERAZZI, A. F. *et al.* Strawberry production progress in Brazil. **Acta Horticulturae**, [S.l.], v. 1156, n.1, p. 937-940, 2017.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.
- GARRIGA, M.; MUÑOZ, C. A.; CALIGARI, P. D. S.; RETAMALES, J. B. Effect of salt stress on genotypes of commercial (*Fragaria x ananassa*) and Chilean strawberry (*F.chiloensis*). **Sci Hortic**, [S.l.], v. 195, p. 37–47, 2015.
- HAJLAOUI, H.; DENDEN, M.; BOUSLAMA, M.: Effet du chlorure de sodium sur les critères morpho-physiologiques et productifs du pois chiche (*Cicer arietinum* L.). **Ann. INRGREF**, [S.l.], v. 8, p. 171- 187, 2006.
- MADIGAN, M. T. *et al.* **Microbiologia de Brock**. 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.
- MANE, A. V. *et al.* Salinity induced changes in photosynthetic pigments and polyphenols of *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle. **J. Chem. Pharm. Res**, [S.l.], v. 2, n. 3, p. 338-347, 2010.
- MOHAMED, H. I.; GOMAA, E. Z. Effect of plant growth promoting *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens* on growth and pigment composition of radish plants (*Raphanus sativus*) under NaCl stress. **Photosynthetica**, [S.l.], v. 50, n .2, p. 263–272, 2012.
- NUMAN, M. *et al.* Plant growth promoting bacteria as an alternative strategy for salt tolerance in plants: a review. **Microbiological Research**, [S.l.], v. 209, p. 21-32, 2018.
- PARIDA, A. K.; DAS, A. B. Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. **Ecotoxicology and Environment Safety**, [S.l.], v. 60, n.3, p. 324-349, 2005.
- RHEIN, A. F. de L. *et al.* Crescimento radicular e pigmentos clorofilianos em duas forrageiras submetidas a níveis crescentes de NaCl. **Científica**, [S.l.], v. 43, n. 4, p. 330-335, 2015.

- SABIR, F. *et al.* Salt stress-induced responses in growth and metabolism in callus cultures and differentiating in vitro shoots of Indian ginseng (*Withania somnifera* Dunal). **Journal of Plant Growth Regulation**, [S.l.], v. 31, n. 4, p. 537-548, 2012.
- SULTANA, N. *et al.* Effect of NaCl salinity on photosynthesis and dry matter accumulation in developing rice grains. **Environmental and Experimental Botany**, [S.l.], v. 42, n. 3, p. 211-220, 1999.
- VALENCIA-CANTERO, E. *et al.* Role of dissimilatory fermentative iron-reducing bacteria in Fe uptake by common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants grown in alkaline soil. **Plant Soil**, [S.l.], v. 291, n. 1-2, p. 263–273, 2007.
- VIGNOLO, G. K. *et al.* Origem e botânica. In: ANTUNES, L. E. C.; REISSER JÚNIOR, C.; SCHWENGBER, J. E. *Morangueiro*. Brasília: Embrapa, 2016. p. 37–44.
- YAGHUB, I. K. H. *et al.* Potassium silicate alleviates deleterious effects of salinity on two strawberry cultivars grown under soilless pot culture. **Sci Hortic**, [S.l.], v. 213, p. 87–95, 2016.
- YILDIRIM, E. *et al.* Mitigation of salt stress in radish (*Raphanus sativus* L.) by plant growth promoting rhizobacteria. **Roumanian Biotechnol Lett**, [S.l.], v. 13, p. 3933-3943, 2008.
- ZHAO, X., LI, G., LI, L.J., HU, P.P.; ZHOU, H.C. Effects of NaCl and NaHCO<sub>3</sub> stress on the growth of in vitro culture seedlings of *Fragaria × ananassa* Duch. **Acta Hortic.**, [S.l.], 1156, 883-888, 2016.
- ZHU, Y.; GONG, H. Beneficial effects of silicon on salt and drought tolerance in plants. **Agronomy for Sustainable Development**, [S.l.], v. 34, n. 2, p. 455-472, 2014.

## ARTIGO 2 BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO INDUZEM TOLERANCIA AO ESTRESSE SALINO EM PLANTAS DE MORANGUEIRO

### RESUMO

O morango é um fruto de grande importância econômica, e a maior parte da sua produção é realizada no sistema convencional. Dentre os estresses abióticos que acometem as plantas, o estresse salino é um dos que causam maior nível de dano, prejudicando desde o crescimento até a produtividade da cultura. O objetivo do trabalho foi verificar se bactérias promotoras de crescimento seriam benéficas às plantas de morangueiro submetidas ao estresse salino. O estudo foi constituído de seis tratamentos, sendo dois controles (zero e salino) e quatro contendo as bactérias (*Pseudomonas fluorescens*, *Streptomyces sp.*, *Rhizobium sp.*, *Enterobacter sp.*) acrescido de 50 µM de NaCl. Plantas de morangueiro cultivar BRS Estiva foram inoculadas com as bactérias e transferidas para vasos de 2L contendo substrato comercial acrescido de 50 µM de NaCl, onde permaneceram por 90 dias. Foram realizadas duas aplicações do sal e inoculação das bactérias em intervalo de 45 dias. Posteriormente, foram avaliados comprimento de parte aérea e raiz, número de folhas, massa fresca e seca e clorofila *a*, *b*, total e carotenoides. As bactérias se destacaram positivamente em todos os parâmetros fitotécnicos analisados. Já com relação ao conteúdo de pigmentos, o microrganismo *Rhizobium sp.* apresentou destaque na clorofila *a* e total. Efeito positivo no teor de clorofila foi observado em todas as bactérias utilizadas. Maior teor de carotenoides ocorreu quando se utilizou o microrganismo *Rhizobium sp.* As bactérias promotoras de crescimento mitigaram os efeitos da salinidade nas plantas de morangueiro cultivar BRS Estiva, fazendo com que o seu crescimento e produção fotossintética não fossem comprometidas pela toxicidade do NaCl.

Palavras chaves: Bioestimulantes. Salinidade. Morango.

### ABSTRACT

Strawberry is a fruit of great economic importance, and most of its production is carried out in conventional system. Among the abiotic stresses that affect plants, salt stress is one of those that cause the highest level of damage, impairing from growth to crop productivity. The objective of this work was to verify if growth-promoting bacteria would be beneficial to strawberry plants subjected to salt stress. The study consisted of six treatments, two controls (zero and saline) and four containing the bacteria (*Pseudomonas fluorescens*, *Streptomyces sp.*, *Rhizobium sp.*, *Enterobacter sp.*) plus 50 µM of NaCl. Strawberry plants, cultivar BRS Estiva, were inoculated with the bacteria and transferred to 2L pots containing commercial substrate plus 50 µM of NaCl, where they remained for 90 days. Two applications of the salt and inoculation of bacteria were carried out within a 45-day interval. Afterwards, shoot and root length, number of leaves, fresh and dry mass and chlorophyll *a*, *b*, total and carotenoids were evaluated. Bacteria stood out positively in all phytotechnical parameters analyzed. Regarding the pigment content, the microorganism *Rhizobium sp.* featured prominently in chlorophyll *a* and total. Positive effect on chlorophyll content was observed in all bacteria used. Higher content of carotenoids occurred when the microorganism *Rhizobium sp.* The growth-promoting bacteria mitigated the effects of salinity in strawberry plants, cultivar BRS Estiva, making its growth and photosynthetic production not compromised by the toxicity of NaCl.

Keywords: Biostimulants. Salinity. Strawberry.

## 1 INTRODUÇÃO

O morangueiro (*Fragaria x ananassa Duch*) pertence à família Rosaceae e a subfamília Maloideae (DE ANDRADE *et al.*, 2019) e apresenta grande relevância econômica, manifestando a capacidade para fins ornamentais devido sua beleza botânica floral e foliar (TIMM *et al.*, 2009). Os países que possuem relevância na produção da cultura são os Estados Unidos, Polônia, Japão, Coreia do Sul e Espanha. No Brasil, a cultura começou a ser vista como importante em meados do século XX, que chegou no Rio Grande do Sul e depois foi disseminado por todo país, principalmente pelos estados de São Paulo, Minas Gerais, Santa Catarina, Paraná e Distrito Federal (CERUTTI *et al.*, 2018).

As bactérias promotoras de crescimento vegetal, que são geralmente microrganismos de solo que possuem a capacidade de promover o crescimento de plantas por meio de diferentes mecanismos, como produção direta e indireta de fitormônios, facilitar a assimilação e fixação de nutrientes como o nitrogênio, ferro e fósforo (VALENCIA-CANTERO *et al.*, 2007). Estes microrganismos, como já foi mencionado, podem ser utilizados como bioestimulante, assim como para o biocontrole e biofertilização. Acredita-se que tais bactérias possuem a capacidade de ajudar em diferentes estresses bióticos e abióticos como o estresse salino (KUMAR; VERMA, 2017).

O estresse salino é um dos estresses abióticos mais severos às plantas, pois quando o solo encontra-se com níveis elevados de sal, pode acarretar impacto negativo nas mesmas, como por exemplo induzir a escassez de água por meio do estresse osmótico provocado pela alta concentração de íons salinos, afetando, dessa forma, o crescimento, desenvolvimento e a produção das culturas (ZHAO *et al.*, 2017).

No morangueiro, assim como nas demais plantas, o estresse salino afeta negativamente a cadeia produtiva da planta, podendo causar necroses foliares, senescência precoce das folhas e diminuição da área foliar fotossintética (YAGHUBI *et al.*, 2016). Além disso, crescimento vegetativo, teor relativo de água nas folhas, quantidade de clorofila, produção e qualidade dos frutos também são afetados negativamente pela salinidade (GARRIGA *et al.*, 2015). Tendo esses fatores em vista, o objetivo foi obter bactérias promotoras de crescimento que possuam a capacidade de melhorar o crescimento de plantas de morangueiro submetidas ao estresse salino provocado pelo NaCl.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Obtenção do material vegetal**

Plantas de morangueiro cultivar BRS Estiva, oriundas da multiplicação *in vitro*, foram adquiridas da empresa Multiplanta Tecnologia Vegetal, localizada em Andradadas-MG. As plantas foram enviadas para o Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Departamento de Agricultura da ESAL/UFLA e, em seguida, transferidas para a casa de vegetação onde foi realizado o experimento.

### **2.2 Reativação e inoculação de isolados bacterianos**

Nessa etapa foram utilizados quatro isolados bacterianos, sendo dois considerados tolerantes à salinidade (*Streptomyces* sp. e *Pseudomonas fluorescens*), que vieram da Coleção de Cultura de Microbiologia Agrícola (CCMA) da UFLA e dois isolados da folha do morangueiro (*Rhizobium* sp. e *Enterobacter* sp.). Para a reativação os isolados foram transferidos de um Eppendorf para placas de Petri contendo o meio ágar nutriente (5 g L<sup>-1</sup> de peptona, 3 g L<sup>-1</sup> de extrato de levedura, 2 g L<sup>-1</sup> de extrato de carne e 15 g L<sup>-1</sup> de ágar), onde foram mantidos por 24 h em BOD à 30 °C. Após o crescimento das colônias, pequenas amostras dos isolados foram transferidas para 1000 mL do meio Caldo Nutriente (5 g L<sup>-1</sup> de peptona, 3 g L<sup>-1</sup> de extrato de levedura e 2 g L<sup>-1</sup> de extrato de carne) onde ficaram em agitação e em temperatura de 30 °C por 24 h. Para quantificar o conteúdo de microrganismos do caldo, foi realizada a medição da densidade óptica (OD), que contabilizou uma OD de 0,319 correspondendo aproximadamente à viabilidade de 10<sup>-8</sup> segundo a tabela proposta por Madgan *et al.* (2016). Posteriormente, foi realizada a inoculação, expondo as plantas em contato com a solução final durante 5 minutos.

### **2.3 Exposição do material ao estresse salino**

Primeiramente as plântulas oriundas do cultivo *in vitro* passaram pelo processo de aclimatização, onde foram transferidas para bandejas contendo substrato comercial por um período de 30 dias em casa de vegetação. Posteriormente, as plantas oriundas da aclimatização foram inoculadas com os microrganismos e transferidas para vasos de 2L contendo substrato

comercial Tropstrato HA Hortalças (a base de casca de pinus, turfa, vermiculita, superfosfato simples e nitrato de potássio) acrescido de 50  $\mu\text{M}$  de NaCl, onde permaneceram por 90 dias.

Após 45 dias, houve a segunda inoculação de microrganismos e a segunda aplicação de solução salina contendo 50  $\mu\text{M}$  de NaCl.

## **2.4 Análises fitotécnicas**

As análises fitotécnicas foram realizadas no Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Agricultura da ESAL/UFLA. Para tal, foram avaliados comprimento de parte aérea, comprimento de raiz, número de folhas, massa fresca e seca de plantas. Para a análise foram utilizadas oito amostras biológicas. Para as mensurações de comprimento de parte aérea e comprimento de raízes foi utilizada uma régua, e para análise de massa fresca e seca foi utilizada balança analítica de precisão, e em seguida, as plantas foram levadas para a estufa de circulação forçada de ar à temperatura de 40 °C até peso constante.

## **2.5 Análises de pigmentos fotossintéticos**

Para a análise foram utilizados 0,05 g de material vegetal fresco, que em seguida foram colocados em tubos de ensaio contendo 10 mL de acetona 80% para extração dos pigmentos. Os tubos foram envoltos por papel alumínio para evitar o contato da amostra com a luz, evitando a degradação da clorofila. Após 24 h em geladeira a  $\pm 4$  °C, foi mensurado a absorvidade das amostras em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 470, 645, 652 e 663 nm (SCOPEL; BARBOSA; VIEIRA, 2011). A análise foi realizada em triplicata com quatro repetições por tratamento. As equações utilizadas no cálculo das clorofilas *a*, *b*, total e de carotenoides foram as propostas por Li, Tang e Xu (2013).

## **2.6 Delineamento experimental e análise estatística**

O delineamento foi inteiramente casualizado, constituído de seis tratamentos com dez repetições, sendo dois tratamentos controle (controle 0, controle salino) e quatro contendo bactérias (*Streptomyces* sp., *Pseudomonas fluorescens*, *Rhizobium* sp. e *Enterobacter* sp.) acrescido de 50  $\mu\text{M}$  de NaCl.

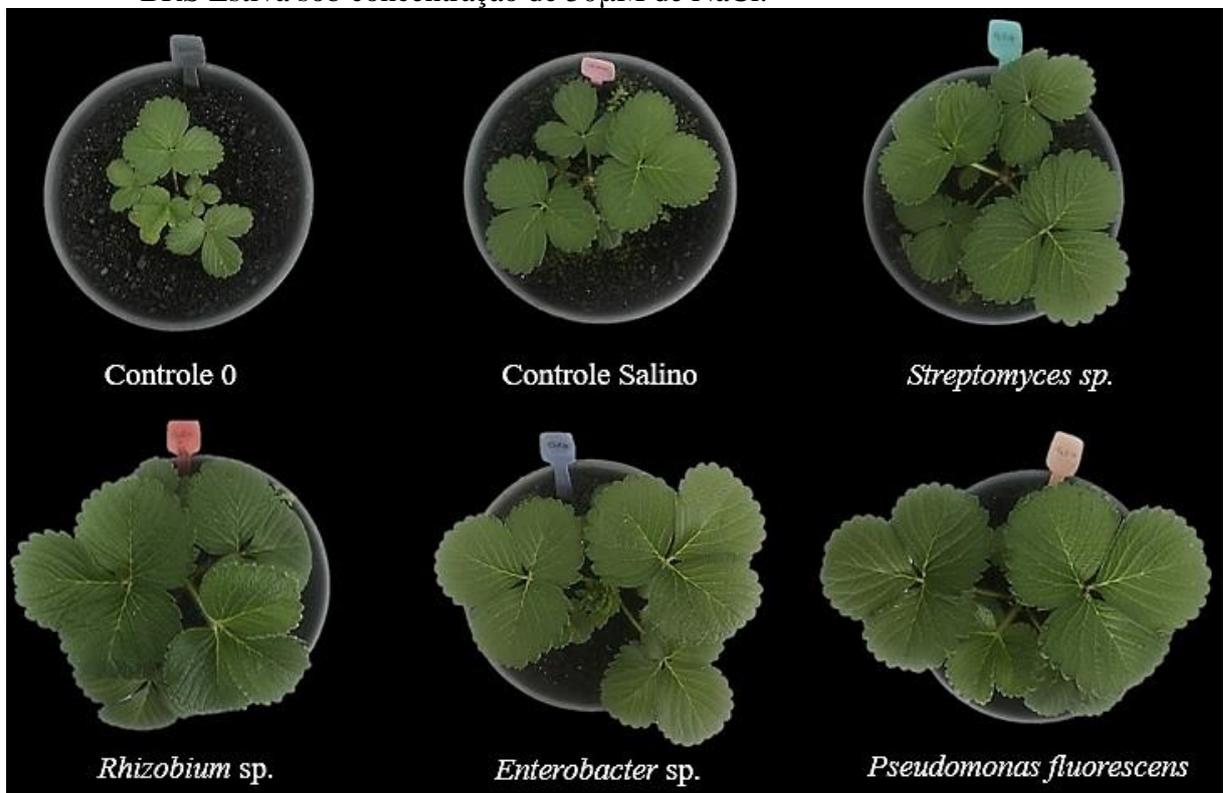
Os dados foram submetidos à análise de variância e, posteriormente, ao teste de Scott-Knott à 5% de probabilidade através do software SISVAR (FERREIRA, 2011).

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Efeito das bactérias promotoras de crescimentos nas características fitotécnicas

Abaixo, pode-se avaliar visualmente o efeito das bactérias promotoras de crescimento nas plantas de morangueiro da cultivar BRS Estiva, que foram submetidas à concentração de 50 $\mu$ M de NaCl (FIGURA 6).

Figura 6 - Visualização do efeito de bactérias promotoras de crescimento em morangueiro cv. BRS Estiva sob concentração de 50 $\mu$ M de NaCl.



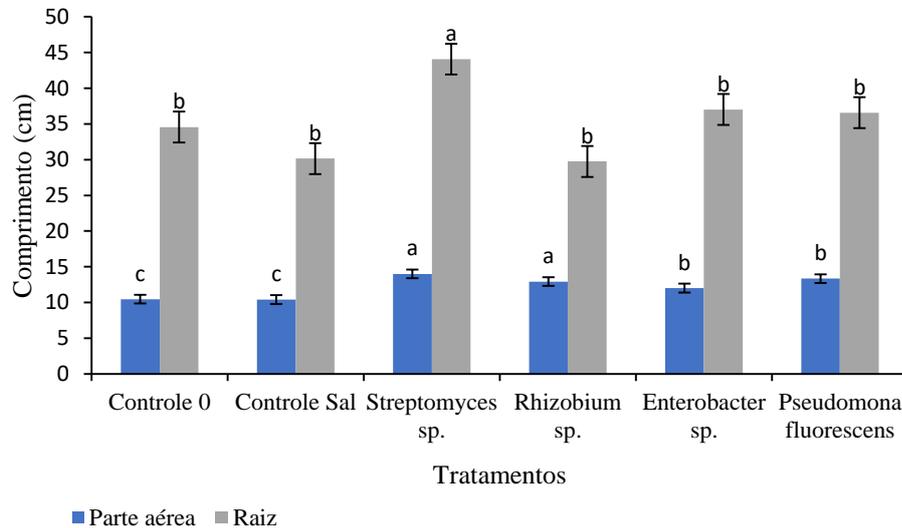
Fonte: Da autora (2021).

##### 3.1.1 Comprimento de parte aérea e raiz

A utilização dos microrganismos provocou resultados positivos no crescimento das plantas de morangueiro (FIGURA 7). Com relação ao comprimento da parte aérea, três tratamentos se destacaram, *Streptomyces sp.* e *Rizobium sp.* (14,00; 12,93 cm), que apresentaram comprimentos superiores aos apresentados tanto pelo controle zero e salino (10,47; 10,42 cm). Resultado positivo também foi encontrado para o tamanho da raiz,

destacando-se o microrganismo *Streptomyces* sp., que apresentou o melhor resultado (44,08 e cm).

Figura 7 - Efeito das bactérias promotoras de crescimento no comprimento da raiz e parte aérea de plantas de morangueiro cv. BRS Estiva submetidas ao estresse salino.

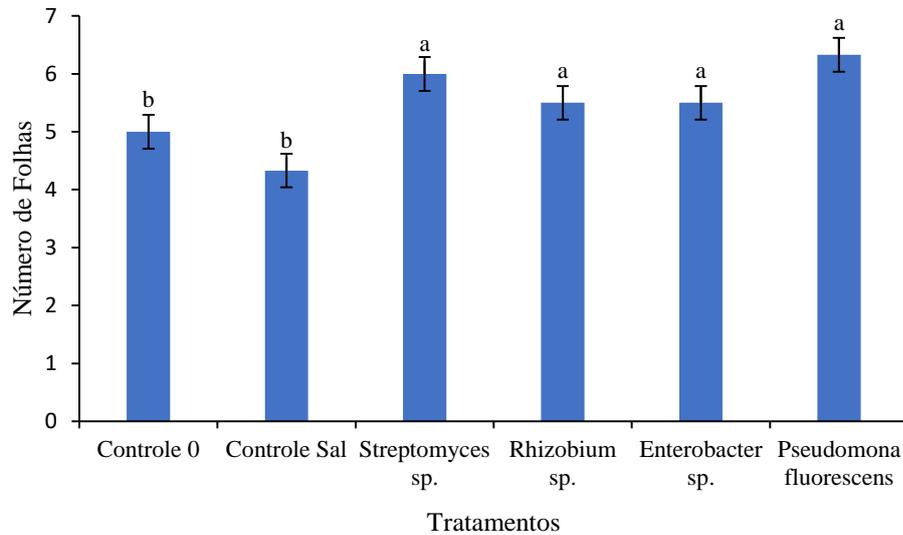


\*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott  
Fonte: Da autora (2021).

### 3.1.2 Número de folhas

Assim como para o comprimento da parte aérea das plantas de morangueiro, as bactérias promotoras de crescimento afetaram positivamente o número de folhas das plantas de morangueiro que foram submetidas ao estresse salino (FIGURA 8). As quatro bactérias utilizadas se destacaram, *Pseudomonas fluorescens*, *Streptomyces* sp., *Rhizobium* sp. e *Enterobacter* sp. (6,33; 6,00; 5,5; 5,5).

Figura 8 - Efeito das bactérias promotoras de crescimento no número de folhas de plantas de morangueiro cv. BRS Estiva submetidas ao estresse salino.

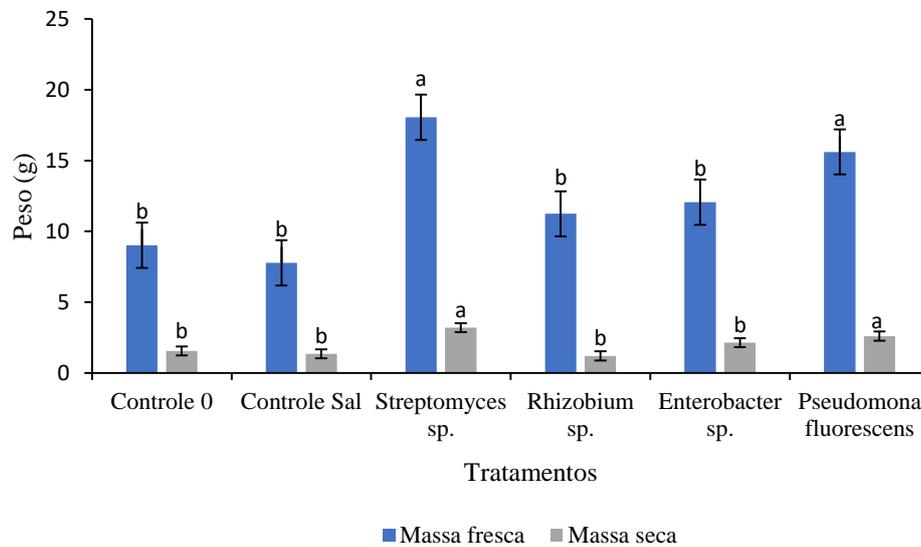


\*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott  
 Fonte: Da autora (2021).

### 3.1.3 Massa fresca e massa seca

De acordo com os dados apresentados para a quantificação de massa fresca e seca (FIGURA 9), foi observada diferença significativa entre os tratamentos avaliados. Foi evidente que as plantas tratadas com *Streptomyces sp.* e *Pseudomonas fluorescens* apresentaram resultados superiores aos demais, tanto na massa fresca (18,06 e 15,61g) quanto na massa seca (3,2 e 2,6g).

Figura 9 - Efeito das bactérias promotoras de crescimento na massa fresca e seca de plantas de morangueiro cv. BRS Estiva submetidas ao estresse salino.



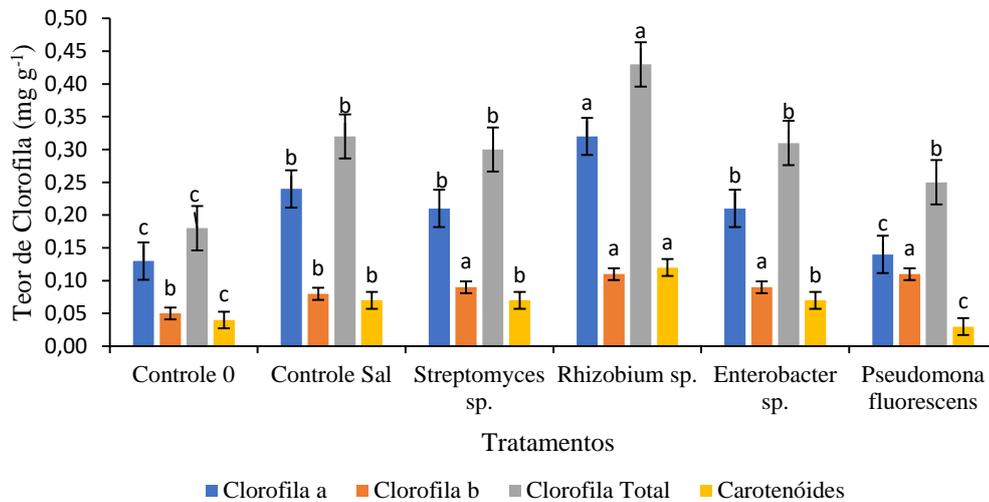
\*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott  
Fonte: Da autora (2021).

### 3.2 Efeito das bactérias promotoras de crescimento nos pigmentos fotossintéticos

Os teores de clorofila *a*, *b* e total foram influenciados pela interação das plantas de morangueiro submetidas ao estresse salino e alguns dos microrganismos inoculados (FIGURA 10). No que diz respeito ao teor de clorofila *a*, o microrganismo *Rhizobium* sp. se destacou ( $0,32 \text{ mg g}^{-1}$ ). Com relação ao teor de clorofila *b* todas as bactérias apresentaram efeito positivo, *Rhizobium* sp., *Pseudomonas fluorescens*, *Streptomyces* sp. e *Enterobacter* sp. ( $0,11$ ;  $0,11$  e  $0,09$  e  $0,09 \text{ mg g}^{-1}$ ). Já no teor de clorofila total destacou-se assim como na clorofila *a*, a bactéria *Rhizobium* sp. ( $0,43 \text{ mg g}^{-1}$ ).

Assim como para os teores de clorofila, a interação existente entre as plantas submetidas à presença do NaCl e a inoculação de bactérias promotoras de crescimento apresentaram resultado significativo para os teores de carotenoides. Também se destacou o microrganismo *Rhizobium* sp. ( $0,12 \text{ mg g}^{-1}$ ).

Figura 10 - Efeito das bactérias promotoras de crescimento na manutenção de pigmentos fotossintéticos em plantas de morangueiro cv. BRS Estiva submetidas ao estresse salino.



\*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott  
Fonte: Da autora (2021).

## 4 DISCUSSÃO

### 4.1 Efeito das bactérias promotoras de crescimento nas características fitotécnicas

Um dos principais órgãos das plantas que possuem contato com o solo salino são as raízes, por esse motivo é um dos primeiros a sofrer os efeitos da salinidade. Segundo Rewald *et al.* (2013), o crescimento e o processo de alongamento das raízes são devido à grande produção de células no meristema radicular. O estresse salino pode afetar esse crescimento pelo efeito tóxico do sal que fica localizado na zona de crescimento das raízes, assim como pela diminuição da quantidade de água disponível para que seja utilizada na expansão celular das raízes e por meio do efeito negativo da salinidade na fotossíntese e transpiração das plantas.

A salinidade é capaz de modificar a absorção de nutrientes, água e a capacidade permeabilizante das membranas, isso faz com que haja comprometimento da divisão celular, afetando negativamente o crescimento da planta e acarretando na diminuição da altura vegetal (PRISCO; GOMES FILHO, 2010).

Nesse estudo, foram observados que, assim como esperado, as plantas de morangueiro foram afetadas negativamente pela presença dos íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  no solo, o que afetou diretamente o crescimento de suas raízes. Porém, a utilização da bactéria *Streptomyces* sp. provocou resultados positivos, possibilitando maior crescimento do sistema radicular.

Resultado semelhante aconteceu com o crescimento da parte aérea, onde a maioria dos tratamentos que ocorreram a inoculação das bactérias (*Streptomyces* sp. e *Rhizobium* sp.) apresentaram maior comprimento.

A interação benéfica entre os microrganismos e as plantas de morangueiro existentes nesse estudo podem ser explicadas devido aos efeitos que as bactérias promotoras de crescimento podem induzir nas plantas. Alguns desses efeitos são justamente aumentar o crescimento tanto da raiz quanto da parte aérea, e isso pode ocorrer através de alguns mecanismos, como a produção de fitohormônios (LOPEZ-BUCIO *et al.*, 2007; YANG *et al.*, 2009).

Karlidag *et al.* (2013) relataram em seu estudo que o crescimento das plantas de morangueiro submetidas ao estresse salino foram aumentados significativamente pelas bactérias promotoras de crescimento, chegando à conclusão de que os microrganismos poderiam aliviar os efeitos danosos que poderiam ser provocados pelo excesso de íons salinos no solo.

Quanto ao número de folhas, estudos realizados anteriormente sugerem que condições de salinidade podem afetar negativamente o número de folhas de plantas de morangueiro (KARLIDAG *et al.*, 2009, 2011b). Isso pode ocorrer pelo acúmulo de Na<sup>+</sup>, principalmente nas folhas mais velhas, e causar toxicidade nessas folhas, o que corrobora para que haja redução no metabolismo dessas folhas, comprometendo a disponibilização de carboidratos para folhas mais jovens e afetando o aparecimento de novas folhas (CARILLO *et al.*, 2011; MUNNS; TESTER, 2008).

Com essas informações, e observando os resultados encontrados nesse estudo, é possível supor que as bactérias podem ter ajudado na contenção do efeito de toxicidade provocado pelo sal nas folhas mais velhas, o que proporcionou o surgimento de maior número de folhas nas plantas tratadas com os microrganismos, que inclusive foi superior aos encontrados nas plantas que não receberam nenhum tipo de tratamento e não passaram por estresse.

Para se ter uma produção adequada de biomassa, que seja o suficiente para o bom crescimento e desenvolvimento da planta, depende-se de alguns fatores como o acúmulo de carbono da fotossíntese. Esse acúmulo é determinado pelo aumento da área foliar e pela taxa líquida de assimilação (ARAGÃO *et al.*, 2009). A salinidade influencia negativamente nesse processo, uma vez que diminui o crescimento da planta e o número de folhas nelas existentes, como já explicado acima. Nesse estudo, houve diferença significativa no conteúdo de massa fresca e seca das plantas de morangueiro que foram submetidas ao estresse salino e inoculadas

com as bactérias, *Streptomyces* sp. e *Pseudomonas fluorescens*, e proporcionaram maior produção de massa fresca e seca.

Sem e Chandrasekhar (2014) observaram em seus estudos a respeito do efeito de bactérias promotoras de crescimento na promoção de crescimento de arroz sobre o estresse salino, que os tratamentos com *Pseudomonas* tiveram efeito significativo sobre a massa seca da parte aérea. Estes resultados corroboram com os obtidos por Mohamed e Goma (2012), que estudaram o efeito da inoculação de *Pseudomonas fluorescens* e *Bacillus subtilis* em plantas de rabanete submetidas ao estresse salino. Esses autores relataram que a massa fresca e seca de raízes e folhas das plantas de rabanete diminuíram significativamente com o aumento da concentração de sal e a inoculação das duas cepas bacterianas aumentaram significativamente as massas fresca e secas das plantas de rabanete.

#### **4.2 Efeito das bactérias promotoras de crescimento na síntese de pigmentos fotossintéticos**

Como já foi mencionado anteriormente, altos níveis de salinidade são prejudiciais às várias fases do ciclo de vida das plantas, dentre eles, a fotossíntese que é um dos processos fundamentais para o crescimento das mesmas (NUMAM *et al.*, 2018). A diminuição da produtividade que ocorre em muitas espécies de plantas submetidas ao estresse, geralmente é associada ao declínio da capacidade fotossintética provocada pelos íons salinos. Dessa forma, os componentes fotossintéticos como clorofilas e carotenoides são afetados negativamente (KWON *et al.*, 2019).

Santos (2004) verificaram a atividade da enzima clorofilase em tecidos foliares de girassol submetidos ao estresse salino. Além disso, observaram que a diminuição nos teores de pigmentos pode resultar da degradação e diminuição da síntese de clorofila, e que a enzima clorofilase possa estar envolvida nesse processo em folhas que estão passando pelo processo de senescência. Para Sabir *et al.* (2012), a presença dos íons salinos  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  dentro dos cloroplastos podem interferir na síntese dos pigmentos e até mesmo colaborar para que haja a sua destruição.

Assim como as clorofilas, os carotenoides são pigmentos fundamentais para o desenvolvimento vegetal, principalmente pelo fato de ajudar na fotoproteção da fotossíntese, podendo atuar também como sinalizador de estresses, seja de origem biótica ou abiótica, agindo como antioxidante de espécies reativas de oxigênio (TAIZ *et al.*, 2017; ASHRAF; HARRIS, 2013).

No presente estudo, foi possível observar diferença significativa entre alguns dos tratamentos. Dentre eles destacam-se as bactérias *Rhizobium* sp. em todos os parâmetros analisados e *Streptomyces* sp. na clorofila *b*.

Corroborando com os resultados encontrados nesse experimento a respeito da utilização das bactérias, Abber *et al.* (2015) estudaram o impacto da *Bacillus subtilis* no crescimento e parâmetros fisiológicos sobre o estresse salino em *Bassia indica*, e mostraram que houve diminuição do conteúdo de clorofila e carotenoides nas folhas quando comparadas ao ambiente não salino. Além disso, observaram que a *B. subtilis* proporcionou aumento no conteúdo de clorofila *a*, *b* e de carotenoides.

Assim como Yildirim *et al.* (2008), que estudaram a mitigação do estresse salino em rabanete por meio de rizobactérias promotoras de crescimento e observaram diminuição dos teores de clorofila das plantas em condições salinas em comparação com as que não se encontravam em no ambiente salino. Porém, os teores de clorofila foram elevados quando houve inoculação com os microrganismos, comparando-os com os tratamentos salinos e sem salinidade.

## 5 CONCLUSÃO

As bactérias promotoras de crescimento em plantas de morangueiro cultivar BRS Estiva submetidas ao estresse salino apresentaram efeito positivo em todos os parâmetros analisados. As bactérias *Rhizobium* sp., *Pseudomonas fluorescens*, *Streptomyces* sp. e *Enterobacter* sp. associaram benéficamente com as plantas, fazendo com que fossem capazes de mitigar o efeito da salinidade e proporcionar melhor crescimento das mesmas.

## REFERÊNCIAS

- ABEER, H. *et al.* Impact of plant growth promoting *Bacillus subtilis* on growth and physiological parameters of *Bassia indica* (Indian *Bassia*) grown under salt stress. **Pak J Bot**, [S.l.], v. 47, n. 5, p. 1735-1741, 2015.
- ARAGÃO, C. A. *et al.* Avaliação de cultivares de melão sob condições de estresse salino. **Revista Caatinga**, [S.l.], v. 22, n. 2, p. 161-169, 2009.
- ASHRAF, M. H. P. J. C.; HARRIS, P. J. C. Photosynthesis under stressful environments: an overview. **Photosynthetica**, [S.l.], v. 51, n. 2, p. 163-190, 2013.
- CARILLO, P. *et al.* Salinity Stress and Salt Tolerance. In: SHANKER, A. (Ed.). **Abiotic stress in plants-mechanisms and adaptations**. Edition Book 1 Publisher, 2011. p. 21–38.
- CERUTTI, P. H. *et al.* Desafios do cultivo de morangueiro no brasil. **Revista Científica Rural**, [S.l.], v. 20, n. 2, p. 236-252, 2018.
- DE ANDRADE, F. M. *et al.* Beneficial effects of inoculation of growth-promoting bacteria in strawberry. **Microbiological Research**, [S.l.], v. 223, p. 120-128, 2019.
- ESITKEN, A. *et al.* Effects of plant growth promoting bacteria (PGPB) on yield, growth and nutrient contents of organically grown strawberry. **Scientia Horticulturae**, [S.l.], v.124, n.1, p. 62-66, 2010.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.
- GARRIGA, M. *et al.* Effect of salt stress on genotypes of commercial (*Fragaria x ananassa*) and Chilean strawberry (*F. chiloensis*). **Scientia Horticulturae**, [S.l.], v. 195, p. 37–47, 2015.
- KARLIDAG, H. A. *et al.* Effects of plant growth promoting bacteria (PGPB) on yield, growth, leaf water content, membrane permeability and ionic composition of strawberry under saline conditions. **J. Plant Nutr**, [S.l.], v. 34, p. 34–45, 2011a.
- KARLIDAG, H. *et al.* Role of 24-epibrassinolide in mitigating the adverse effects of salt stress on stomatal conductance, membrane permeability, and leaf water content, ionic composition in salt stressed strawberry (*Fragaria x ananassa*). **Scientia Horticulturae**, [S.l.], v. 130, p. 133–140, 2011b.
- KARLIDAG, H.; YILDIRIM, E.; TURAN M.. Salicylic acid ameliorate the adverse effect of salt stress on strawberry. **Sci. Agr**, [S.l.], v. 66, p. 180–187, 2009.
- KARLIDAG, H. *et al.* Plant growth-promoting rhizobacteria mitigate deleterious effects of salt stress on strawberry plants (*Fragaria x ananassa*). **Hortscience**, [S.l.], v. 48, n. 5, p. 563-567, 2013.
- KUMAR, A.; VERMA, J. P. Does plant—microbe interaction confer stress tolerance in plants: a review? **Microbiological Research**, [S.l.], v. 207, p. 41–52, 2017.

- KWON, O. K. *et al.* Effect of salinity stress on photosynthesis and related physiological responses in carnation (*Dianthus caryophyllus*). **Hortic. Environ. Biotechnol**, [S.l.], v. 60, p. 831–839, 2019.
- LÓPEZ-BUCIO, J. *et al.* "Bacillus megaterium rhizobacteria promote growth and alter root-system architecture through an auxin-and ethylene-independent signaling mechanism in Arabidopsis thaliana." **Molecular Plant-Microbe Interactions**, [S.l.], v. 20. n. 2, p. 207-217, 2007.
- MADIGAN, M. T. *et al.* **Microbiologia de Brock**. 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.
- MOHAMED, H. I.; GOMA, A. E. Z. Effect of plant growth promoting *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens* on growth and pigment composition of radish plants (*Raphanus sativus*) under NaCl stress. **Photosynthetica**, [S.l.], v. 50, n. 2, p. 263–272, 2012.
- MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of Salinity Tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, [S.l.], v. 59, p. 651–681, 2008.
- NUMAN, M. *et al.* "Plant growth promoting bacteria as an alternative strategy for salt tolerance in plants: a review". **Microbiological Research**, [S.l.], v. 209, p. 21-32, 2018.
- PRISCO, J. T.; GOMES-FILHO, E. Fisiologia e bioquímica do estresse salino em plantas. *In*: GREYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. **In: Manejo da salinidade na agricultura: Estudos básicos e aplicados**. Fortaleza: Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Salinidade, 2010. p.143-159.
- REWALD, B. *et al.* Adaptive Plasticity of Salt-Stressed Root Systems. *In*: AHMAD, P.; AZOOZ, M. M.; PRASAD, M. N. V (Eds.). **Ecophysiology and Responses of Plants under Salt Stress**. New York, NY: Springer New York, 2013. p. 169–201.
- RHEIN, A. F. de L. *et al.* Crescimento radicular e pigmentos clorofilianos em duas forrageiras submetidas a níveis crescentes de NaCl. **Científica**, [S.l.], v. 43, n. 4, p. 330-335, 2015.
- SABIR, F. *et al.* Salt stress-induced responses in growth and metabolism in callus cultures and differentiating in vitro shoots of Indian ginseng (*Withania somnifera* Dunal). **Journal of Plant Growth Regulation**, [S.l.], v. 31, n. 4, p. 537-548, 2012.
- SANTOS, C. V. Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves. **Scientia Horticulturae**, [S.l.], v. 103, n. 1, p. 93-99, 2004.
- SEN, S.; CHANDRASEKHAR, C. N. Effect of PGPR on growth promotion of rice (*Oryza sativa* L.) under salt stress. **Asian J Plant Sci Res**, [S.l.], v. 4, n. 5, p. 62-67, 2014.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.
- TIMM, L. C. *et al.* Morangueiro irrigado. Aspectos técnicos e ambientais do cultivo. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 2009. p. 163.

TONIN, J. *et al.* Controle de plantas daninhas e aspectos produtivos de morangueiro sob diferentes coberturas do solo. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, [S.l.], v. 16, n.1, p. 48–53, 2017.

VALENCIA-CANTERO, E. *et al.* Role of dissimilatory fermentative iron-reducing bacteria in Fe uptake by common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants grown in alkaline soil. **Plant Soil**, [S.l.], v. 291, n. 1-2, p. 263–273, 2007.

YAGHUBI, K. H.; GHADERI, N.; VAFAEE, Y.; JAVADI, T. Potassium silicate alleviates deleterious effects of salinity on two strawberry cultivars grown under soilless pot culture **Scientia Horticulturae**, [S.l.], v. 213, p. 87–95, 2016.

YANG, J. *et al.* Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. **Trends Plant Sci**, [S.l.], v. 14, n. 1, p. 1–4, 2009.

YILDIRIM, E. *et al.* Mitigation of salt stress in radish (*Raphanus sativus* L.) by plant growth promoting rhizobacteria. **Roumanian Biotechnol Lett**, [S.l.], v. 13, p. 3933-3943, 2008.

ZHAO, X. *et al.* Effects of NaCl and NaHCO<sub>3</sub> stress on the growth of in vitro culture seedlings of *Fragaria* × *ananassa* Duch. **Acta Hortic.**, [S.l.], v. 1156, p. 883-888, 2017.