

Universidade Federal de São João del-Rei
Programa de Pós-Graduação em Bioengenharia

CAMILA CRISTINA VIEIRA VELLOSO

**CARACTERIZAÇÃO DE CEPAS DE *Bacillus* E AVALIAÇÃO DO SEU
POTENCIAL DE PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO EM GENÓTIPOS
DE MILHO**

SÃO JOÃO DEL-REI
MINAS GERAIS - BRASIL
JULHO DE 2019

CAMILA CRISTINA VIEIRA VELLOSO

**CARACTERIZAÇÃO DE CEPAS DE *Bacillus* E AVALIAÇÃO DO SEU
POTENCIAL DE PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO EM GENÓTIPOS
DE MILHO**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Bioengenharia da Universidade Federal de São João del-Rei como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de “Magister Scientiae” (MS).

SÃO JOÃO DEL-REI
MINAS GERAIS - BRASIL
JULHO DE 2019

Ficha catalográfica elaborada pela Divisão de Biblioteca (DIBIB)
e Núcleo de Tecnologia da Informação (NTINF) da UFSJ,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

V441c Velloso, Camila Cristina Vieira.
Caracterização de cepas de Bacillus e avaliação do
seu potencial de promoção de crescimento em genótipos
de milho / Camila Cristina Vieira Velloso ;
orientadora Sylvia Morais de Sousa Tinôco. -- São
João del-Rei, 2019.
127 p.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em
Bioengenharia) -- Universidade Federal de São João
del-Rei, 2019.

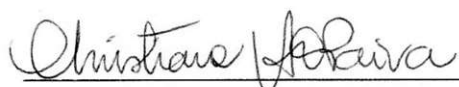
1. Bactéria. 2. Estresse Hídrico. 3. Genoma. 4.
Hidroponia. 5. Sistema Radicular. I. Tinôco, Sylvia
Morais de Sousa, orient. II. Título.

CAMILA CRISTINA VIEIRA VELLOSO

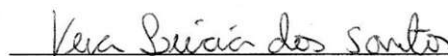
**CARACTERIZAÇÃO DE CEPAS DE *Bacillus* E AVALIAÇÃO DO SEU
POTENCIAL DE PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO EM GENÓTIPOS
DE MILHO**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Bioengenharia da Universidade Federal de São João del-Rei como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de “Magister Scientiae” (MS).

Aprovada em: 29 de julho de 2019



Dra. Christiane Abreu de Oliveira
Embrapa



Dra. Vera Lúcia dos Santos
UFMG



Dra. Eliane Aparecida Gomes
Embrapa



Dra. Sylvania Moraes de Sousa Tinoco
Orientadora – Embrapa/UFSJ

Dedico este trabalho aos meus pais, Sérgio e Ivonete, por serem meu porto seguro e amor incondicional. Vocês me inspiram e me dão forças para correr atrás de todos os meus (nossos) sonhos. Sem o apoio e torcida de vocês, nada seria possível. Vocês são tudo na minha vida e eu amo vocês com todo o meu coração!

AGRADECIMENTOS

À Deus, por dar-me tantas oportunidades e junto delas discernimento e força para conseguir realizá-las, sendo a luz que me guia em cada incerteza e dificuldade.

À minha família, principalmente aos meus pais, Sérgio e Ivonete, e ao meu irmão, Serginho, por todo amor, incentivo e por terem trilhado comigo este caminho fazendo com que a realização deste sonho, hoje, fosse possível.

Aos meus avôs e avós, paternos, Rita e Leonildo, e maternos, Maria Lúcia e Ivo, por sempre me apoiarem, acreditarem e torcerem por mim, pelas palavras de sabedoria, pelas orações e exemplo de fé e amor.

Ao meu companheiro, Leonardo Cerqueira Hott, pela paciência, parceria, amor, auxílio, apoio e por nunca me deixar desacreditar que no final tudo daria certo.

À minha orientadora, Dra. Sylvia Morais de Sousa, pela dedicação, paciência, profissionalismo e pelo amor em compartilhar seus conhecimentos, sendo inspiração pelo seu exemplo de trabalho e orientação, e nos instigando a correr atrás do que desejamos.

Aos pesquisadores Dra. Eliane Aparecida Gomes (Embrapa) e Dr. Artur Trancoso Lopo de Queiroz (FioCruz), por todo conhecimento compartilhado e pelos questionamentos feitos durante a qualificação, contribuindo de forma significativa para melhoria deste trabalho.

À banca examinadora, Dra. Christiane Abreu de Oliveira, Dra. Vera Lúcia dos Santos e Dra. Eliane Aparecida Gomes, por aceitarem meu convite e pela contribuição na escrita e avaliação crítica do projeto, tornando-o melhor e mais bem elaborado.

Às amigas e colegas de trabalho Chainheny (Chai) e Bárbara Godinho (Bah) por todo auxílio na realização dos experimentos e discussão pertinentes, através das quais ampliei meu senso crítico, pela parceria e amizade, por sempre estarem comigo em todos os momentos bons e ruins sendo meu equilíbrio, braço direito e esquerdo.

Aos amigos e colegas de trabalho dos Laboratórios de Bioinformática, Câmara de Crescimento, Microbiologia dos Solos, Controle Biológico, Biologia Molecular, Biologia Celular e Seleção Assistida por todo auxílio, amizade, parceria e risadas durante os dois anos.

Às irmãs de república que me receberam e se tornaram minha casa durante esses dois anos, contribuindo significativamente para meu crescimento e desenvolvimento pessoal.

Aos funcionários da Embrapa Milho e Sorgo, por todo apoio na condução do trabalho. Em especial aos pesquisadores Dra. Maria Marta por ter me apresentado um novo lado da estatística, pela paciência e todos ensinamentos, Dra. Christiane e Dr. Ivanildo, pelo auxílio na área de microbiologia e por me “adotarem” por um tempo no grupo de pesquisa; aos analistas Fabiane (Microbiologia dos Solos), Meire (Biologia Celular), Ubiraci e Beatriz (Biologia Molecular), pela disponibilidade em ajudar em qualquer dúvida que surgiu durante a realização dos experimentos, e aos técnicos Gislene (Câmara de Crescimento), Miguel (Biologia Celular) e Joaquim (Casa de Apoio II) pela paciência e disponibilidade em sempre auxiliar na realização dos experimentos.

À FioCruz, Universidade de São Paulo e Universidade Estadual de Campinas, pelos cursos e ensinamentos na área de Bioinformática.

À Universidade Federal de São João del-Rei, pela oportunidade de realizar o curso de Mestrado junto ao Programa de Pós-graduação em Bioengenharia.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa e amparo à pesquisa.

À Embrapa Milho e Sorgo, pela estrutura e recursos disponibilizados para a realização desse trabalho e pela formação profissional e pessoal.

E a todos que direta ou indiretamente possibilitaram que essa conquista se tornasse realidade, o meu muito obrigada.

“Sonhos determinam o que você quer. Ação determina o que você conquista.”

Aldo Novak

VELLOSO, Camila Cristina Vieira (MS). Universidade Federal de São João del-Rei, Julho de 2019. **CARACTERIZAÇÃO DE CEPAS DE *Bacillus* E AVALIAÇÃO DO SEU POTENCIAL DE PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO EM GENÓTIPOS DE MILHO**. Orientadora: Sylvania Morais de Sousa Tinôco.

RESUMO

Diversos fatores bióticos e abióticos contribuem para a queda da produtividade do milho no Brasil. O uso de bactérias promotoras de crescimento de plantas tem se mostrado uma alternativa eficiente e sustentável para mitigar estes problemas. O objetivo deste trabalho foi caracterizar duas cepas de *Bacillus* e avaliar o seu potencial de promoção de crescimento em genótipos de milho. O sequenciamento do genoma das duas cepas de *Bacillus* (B116 e B119) da Coleção de Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Milho e Sorgo usando Illumina HiSeq 4000 e a estratégia 150-paired end seguido da análise parcial do genoma mostrou a presença de genes envolvidos nos mecanismos de formação de endósporos, quimiotaxia, motilidade, competição na rizosfera e mecanismos de promoção de crescimento vegetal. Ambas as cepas de *Bacillus* produziram exopolissacarídeos (EPS) e fixaram nitrogênio. A cepa B119 de *B. megaterium* produziu maiores quantidades de AIA e sideróforos, ao passo que a cepa B116 de *B. thuringiensis* foi caracterizada como melhor formadora de biofilme, produziu mais fosfatases e solubilizou mais fosfato de cálcio. A cepa B116 atingiu a máxima produção de fosfatases em 48 h, enquanto a B119 precisou de 96 h para atingir o mesmo ponto de produção. Além disso, as plântulas de milho inoculadas com ambas as cepas e induzidas ao estresse hídrico tiveram uma maior redução da área superficial de raízes finas e aumento das raízes mais grossas, o que resultou em maior peso seco de raiz. Esse remodelamento radicular levou a uma menor perda do peso seco total quando comparado ao controle não inoculado, indicando sua capacidade de reduzir os danos causados pela seca. Vinte e um genótipos de milho foram inoculados com as duas cepas e cultivados em hidroponia. Dez dias após a inoculação, diferentes características de raiz e peso seco foram avaliadas nas plântulas de milho. A inoculação com as cepas de *Bacillus* aumentaram o peso seco e o sistema radicular de 16 dos 21 genótipos testados, sendo que não houve resposta significativa para um genótipo e quatro responderam negativamente, confirmando a interação genótipo-dependente entre plantas e bactérias. As características de promoção de crescimento avaliadas *in vitro* e os resultados dos cultivos em hidroponia

corroboraram a presença dos genes que compõem as diferentes vias metabólicas e demonstraram que a associação com essas bactérias pode beneficiar as plantas como resultado da modulação de raízes, aquisição de nutrientes e maior tolerância a estresses. As informações obtidas permitiram a caracterização genômica dos mecanismos de promoção de crescimento, maximizando o entendimento da interação planta-bactéria, que possibilitam o uso dessas cepas como inoculantes microbianos para aumentar a produtividade do milho em campo.

Palavras-Chave: Bactéria; Estresse Hídrico; Genoma; Hidroponia; Sistema Radicular; *Zea mays*.

VELLOSO, Camila Cristina Vieira (MS). Universidade Federal de São João del-Rei, Julho de 2019. **CHARACTERIZATION OF *Bacillus* STRAINS AND EVALUATION OF THEIR GROWTH PROMOTING POTENTIAL IN MAIZE GENOTYPES.**

Orientadora: Sylvia Morais de Sousa Tinôco.

ABSTRACT

Several biotic and abiotic factors contribute to lower maize productivity in Brazil. The use of plant growth promoting bacteria has been shown to be an efficient and sustainable alternative to mitigate these problems. The objective of this work was to characterize the genome of two *Bacillus* strains and to evaluate their potential for promoting growth in maize genotypes. Illumina HiSeq 4000 sequencing and genome analysis of the two *Bacillus* strains (B116 and B119) from Collection of Multifunctional Microorganisms of Embrapa Maize and Sorghum showed the presence of genes related to endospore formation, chemotaxis, motility, competition in the rhizosphere and several mechanisms of plant growth promotion in the two bacterial strains. Bacterial strain B116 was classified as *B. thuringiensis* and as B119 as *B. megaterium*. The two *Bacillus* were able to produce exopolysaccharides (EPS) and fix nitrogen. However, *B. megaterium* produced higher amounts of IAA and siderophores, whereas *B. thuringiensis* was characterized as the best biofilm producer and was capable to solubilize more phosphate. Strain B116 reached maximum phosphatase production in 48 h, while B119 required 96 h to reach the same point. In addition, maize seedlings inoculated and submitted to drought stress had a greater reduction of fine root surface area and an increase of thicker roots, which resulted in a higher root dry weight. The root remodeling led to a lower total dry weight loss when compared to the un-inoculated control. The inoculation with the *Bacillus* strains increased the dry weight and the root system of 16 from the 21 maize genotypes tested, while four genotypes showed negative responses and one was not affected, indicating that the interaction between plants and bacteria was genotype-dependent. The in vitro characterization and hydroponic results corroborated the presence of the genes that compose the different metabolic pathways related to growth promotion and showed that the association of these *Bacillus* strains can benefit plants, as a result of the root modulation, nutrient acquisition and greater resistance to stress. The information obtained in this work allowed the characterization of growth promotion mechanisms from two *Bacillus* strains, maximizing the understanding of plant-bacterial interaction.

Key-words: Bacteria; Genome; Hydroponics; Root System; Drought stress; *Zea mays*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Vias para produção de ácido indol-3-acético (AIA) pelas bactérias (Adaptado de Spaepen et al., 2007).....	15
Figura 2. Diagrama de Venn com o número total de genes sequenciados das cepas de <i>Bacillus</i> B116 e B119.	32
Figura 3. Categorização dos processos biológicos presentes nas duas cepas de <i>Bacillus</i> B116 e B119.	33
Figura 4. Classificação funcional de genes codificadores das proteínas das cepas B116 (A) e B119 (B).	34
Figura 5. Mapa Metabólico da via de metabolismo de triptofano, em que a presença do gene na cepa de <i>Bacillus</i> B116 está representada em verde e na cepa B119 está representada em rosa.	36
Figura 6. Mapa Metabólico da via de metabolismo do nitrogênio, em que a presença do gene na cepa de <i>Bacillus</i> B116 está representada em verde e a cepa B119 está representada em rosa.	39
Figura 7. Árvore filogenética baseada em sequências concatenadas de vinte e seis genes (<i>acsA</i> , <i>argS</i> , <i>ccpA</i> , <i>deoD</i> , <i>dnaJ</i> , <i>fumC</i> , <i>guaA</i> , <i>gyrA</i> , <i>gyrB</i> , <i>ilvD</i> , <i>leuS</i> , <i>lonA</i> , <i>lonB</i> , <i>metG</i> , <i>mutL</i> , <i>mutS</i> , <i>nth</i> , <i>pgi</i> , <i>polA</i> , <i>pura</i> , <i>pyc</i> , <i>pyrE</i> , <i>recA</i> , <i>rpoB</i> , <i>secA</i> e <i>trpB</i>), mostrando a relação filogenética entre membros do gênero <i>Bacillus</i>	40
Figura 8. Microscopia de contraste de fase (objetiva 100x) da suspensão de <i>Bacillus</i> cepa B116 contendo esporos (e) e cristais proteicos (c) e da cepa B119 apenas com esporos.	41
Figura 9. Avaliação da produção de fosfatases ácida (A) e alcalina (B) pelas cepas de <i>Bacillus</i> B116 e B119 durante 96 horas, utilizando como controle positivo a cepa BRM 046308 de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e controle negativo o meio sem inoculação..	42
Figura 10. Avaliação da resposta do genótipo de milho à inoculação de duas cepas de <i>Bacillus</i> (B116 e B119) sob estresse hídrico induzido com PEG 6000 10% (m/v) em comparação com o controle não inoculado.....	44
Figura 11. Avaliação da promoção de crescimento de duas cepas de <i>Bacillus</i> (B116 e B119) de 21 genótipos de milho crescidos em solução nutritiva por 17 dias.	46
Figura 12. Análise de componentes principais das características radiculares e peso seco de 21 genótipos de milho inoculados com as cepas de <i>Bacillus</i> B116 e B119 e controle não inoculado.	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Inoculantes microbianos comerciais disponíveis no mercado brasileiro em 2019.	6
Tabela 2. Lista de genes utilizados na análise filogenética.	22
Tabela 3. Genótipos de milho utilizados no experimento em Câmara de Crescimento.	29
Tabela 4. Características gerais dos genomas das cepas de <i>Bacillus</i> B116 e B119.	31
Tabela 5. Caracterização <i>in vitro</i> das cepas de <i>Bacillus</i> B116 e B119 quanto aos mecanismos de promoção de crescimento de plantas.....	41
Tabela 6. Resumo das análises de variância para características radiculares e peso seco de genótipos de milho inoculados com duas cepas de <i>Bacillus</i> (B116 e B119).	45
Tabela S1. Cepas de bactérias utilizadas para realizar a análise filogenética.....	92
Tabela S2. Identificação dos genes presentes nas cepas de <i>Bacillus</i> B116 e B119 relacionados a produção de fitormônios.....	93
Tabela S3. Identificação dos genes presentes nas cepas de <i>Bacillus</i> B116 e B119 relacionados à disponibilização de fósforo.....	94
Tabela S4. Identificação dos genes presentes nas cepas de <i>Bacillus</i> B116 e B119 relacionados à produção de ácidos orgânicos.	96
Tabela S5. Identificação dos genes presentes nas cepas de <i>Bacillus</i> B116 e B119 relacionados ao metabolismo de nitrogênio.	98
Tabela S6. Identificação dos genes presentes nas cepas de <i>Bacillus</i> B116 e B119 relacionados ao metabolismo e aquisição de ferro.	100
Tabela S7. Identificação dos genes presentes nas cepas de <i>Bacillus</i> B116 e B119 relacionados à produção de exopolissacarídeos e formação de biofilme.	103
Tabela S8. Identificação dos genes presentes nas cepas de <i>Bacillus</i> B116 e B119 relacionados à produção de compostos orgânicos voláteis e compostos inorgânicos voláteis.	105
Tabela S9. Identificação dos genes presentes nas cepas de <i>Bacillus</i> B116 e B119 relacionados à motilidade e quimiotaxia.....	106
Tabela S10. Identificação dos genes presentes nas cepas de <i>Bacillus</i> B116 e B119 relacionados ao estresse oxidativo.	109

Tabela S11. Identificação dos genes presentes nas cepas de <i>Bacillus</i> B116 e B119 relacionados ao estresse hídrico.....	111
Tabela S12. Identificação dos genes presentes nas cepas de <i>Bacillus</i> B116 e B119 relacionados a respostas ao estresse.....	113
Tabela S13. Identificação dos genes presentes nas cepas de <i>Bacillus</i> B116 e B119 relacionados a resistência à antibióticos.....	115
Tabela S14. Identificação dos genes presentes nas cepas de <i>Bacillus</i> B116 e B119 relacionados a produção de toxinas bacterianas.....	117
Tabela S15. Identificação dos genes presentes nas cepas de <i>Bacillus</i> B116 e B119 relacionados aos sistemas de secreção.....	118
Tabela S16. Análise de variância para as médias das características morfofisiológicas de plântulas de milho inoculadas com as cepas B116 e B119 com e sem o estresse com 10% PEG.....	120
Tabela S17. Quadro de análise de variância para as médias das características morfofisiológicas de plântulas de milho inoculadas com as cepas B116 e B119 com e sem o estresse com 10% PEG.....	121
Tabela S18. Características de morfologia radicular e peso seco de 21 genótipos de milho inoculados com duas cepas de <i>Bacillus</i> (B116 e B119).	122
Tabela S19. Componentes principais (PC) obtidos para todas as características radiculares e de peso seco avaliadas em 21 genótipos de milho não inoculados e inoculados com as cepas B116 e B119 de <i>Bacillus</i>	127

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO.....	3
2.1. MILHO E INOCULANTES MICROBIANOS.....	3
2.2. BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS (BPCPs)7	
2.3. INTERAÇÃO PLANTA-MICROORGANISMOS.....	8
2.4. MECANISMOS DE PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO PELAS BPCPs.....	9
2.4.1. <i>Fixação de nitrogênio</i>	10
2.4.2. <i>Solubilização de fosfato</i>	10
2.4.3. <i>Produção de sideróforos</i>	11
2.4.4. <i>Produção de exopolissacarídeos (EPS) e formação de biofilme</i>	12
2.4.5. <i>Fitormônios</i>	13
2.4.6. <i>ACC-deaminase</i>	16
2.4.7. <i>Mecanismos Indiretos</i>	17
2.5. MECANISMOS DE PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO DE PLANTAS VIA SEQUENCIAMENTO DOS GENOMAS DE BPCP.....	17
3. OBJETIVOS.....	19
3.1. OBJETIVO GERAL.....	19
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	20
4.1. CEPAS DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS.....	20
4.2. ANÁLISE DO GENOMA PARCIAL DAS CEPAS B116 E B119.....	20
4.2.1. <i>Sequenciamento parcial do genoma das cepas B116 e B119 por sequenciamento de nova geração</i>	20
4.2.2. <i>Anotação estrutural e funcional das cepas B116 e B119</i>	21
4.3. ANÁLISE FILOGENÉTICA DAS CEPAS B116 E B119.....	21
4.4. CARACTERIZAÇÃO DA CAPACIDADE DE PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE PLANTAS DAS CEPAS DE <i>BACILLUS</i>	22
4.4.1. <i>Avaliação da citotoxicidade</i>	22
4.4.2. <i>Avaliação qualitativa da produção de biofilme</i>	23
4.4.3. <i>Avaliação qualitativa da produção de exopolissacarídeos (EPS)</i>	24
4.4.4. <i>Avaliação qualitativa da produção de sideróforos</i>	24
4.4.5. <i>Avaliação quantitativa da produção de sideróforos</i>	24
4.4.6. <i>Avaliação do potencial de fixação de nitrogênio</i>	25

4.4.7. Solubilização de fosfato de cálcio.....	25
4.4.8. Avaliação da produção de fosfatases ácida e alcalina	26
4.4.9. Avaliação quantitativa da produção de ácido indol-acético (AIA)	26
4.4.10. Avaliação da tolerância ao estresse hídrico.....	27
4.5. AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DAS PLÂNTULAS DE MILHO INOCULADAS COM CEPAS BACTERIANAS SOB ESTRESSE HÍDRICO COM PEG 6000.....	27
4.6. AVALIAÇÃO DO EFEITO DOS INOCULANTES NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE 21 GENÓTIPOS DE MILHO EM SOLUÇÃO NUTRITIVA	28
4.6.1. Crescimento dos inóculos bacterianos.....	28
4.6.2. Crescimento das plântulas de milho inoculadas com cepas bacterianas em solução nutritiva.....	28
4.7. ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	29
5. RESULTADOS	31
5.1. ANÁLISE DO GENOMA PARCIAL DAS CEPAS B116 E B119.....	31
5.2. MECANISMOS DE PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DAS CEPAS DE <i>BACILLUS</i>	40
5.3. AVALIAÇÃO DA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE DIFERENTES GENÓTIPOS DE MILHO EM SOLUÇÃO NUTRITIVA.....	44
6. DISCUSSÃO.....	49
7. CONCLUSÃO.....	64
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65

1. INTRODUÇÃO

O milho está entre os cereais mais produzidos, consumidos e exportados no mundo devido à sua ampla aplicação na alimentação humana e animal, e em indústrias de alta tecnologia (FAO, 2019). No entanto, diversos fatores bióticos e abióticos têm ocasionado a redução da produtividade agrícola desta cultura. Devido ao crescimento populacional, e as variações climáticas, que resultam no aumento da intensidade da seca, se faz necessário investir em técnicas e tecnologias que sejam economicamente viáveis e elevem a produtividade agrícola de maneira sustentável para garantir a segurança alimentar. O uso de inoculantes microbianos na cultura do milho tem sido cada vez mais apreciado, uma vez que é uma alternativa promissora e de baixo impacto ambiental, para reduzir o uso de fertilizantes químicos, garantindo elevada produtividade com melhor custo-benefício.

Um inoculante microbiano é caracterizado como um material que contém uma ou mais cepas de microrganismos que atuam favoravelmente no desenvolvimento das plantas, como, por exemplo, as bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCPs). As BPCPs são capazes de estimular o crescimento e o desenvolvimento das plantas em diferentes estágios de seu ciclo de vida, de forma direta ou indireta, por meio de uma associação simbiótica, na qual a planta fornece proteção e nutrientes para estas bactérias. Dentre os mecanismos diretos utilizados pelas BPCP estão a produção de fitormônios, produção de enzimas e disponibilização de nutrientes, ao passo que os indiretos compreendem o controle biológico de fitopatógenos e a resistência sistêmica induzida (Saini et al., 2015; Varma et al., 2017; Nazir et al., 2018). Bactérias do gênero *Bacillus* são promissoras candidatas para serem usadas como inoculantes microbianos devido a sua capacidade em amenizar ou eliminar os efeitos nocivos do estresse salino, hídrico e oxidativo, regular as características morfofisiológicas e bioquímicas das plantas promovendo o seu crescimento e desenvolvimento (Ghyselinck et al., 2013; Pinter et al., 2017; Tiwari et al., 2019). Portanto, a associação de plantas, como o milho, com BPCP pode levar ao aumento de produtividade, reduzir os custos de produção, aumentar a segurança alimentar e reduzir o uso de agroquímicos, contribuindo para uma agricultura mais sustentável.

Além disso, avanços recentes em tecnologias de sequenciamento de DNA estão viabilizando, pela redução de custo, o sequenciamento de genomas completos de microrganismos como as BPCP, a caracterização do conteúdo total de genes,

estrutura do genoma e estudos *in silico* de fisiologia, ecologia e evolução (Khan et al., 2017; Ma et al., 2018). Por meio do uso de ferramentas de bioinformática, é possível realizar a anotação do genoma, a construção de vias metabólicas e análises comparativas do genoma para a elucidação dos mecanismos de promoção de crescimento de plantas (Berendsen et al., 2015).

A análise do genoma e a caracterização de BPCP propiciam uma melhor compreensão dos mecanismos relacionados à promoção do crescimento de plantas e da sua capacidade de se adaptar a diferentes condições. No entanto, o tipo e número de parâmetros alterados por BPCPs difere com base na espécie e genótipo, e tipo de interação entre a bactéria e a planta. Sendo fundamental a identificação de genótipos contrastantes em relação a resposta à inoculação em estudos sobre a interação planta-bactéria.

2. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

2.1. MILHO E INOCULANTES MICROBIANOS

O milho (*Zea mays* L.) é o cereal mais produzido no mundo, sendo que os Estados Unidos, China, Brasil e Argentina, seus maiores produtores, detêm 72% da produção mundial, de cerca de 1 bilhão de toneladas (FAO, 2019; García-lara e Serna-Saldivar, 2019). O milho também está entre os três cereais mais consumidos e exportados por se adaptar facilmente a diferentes condições ambientais, gerar renda por meio da produção de grãos, ser matéria-prima para uma grande quantidade de produtos industriais e biocombustíveis, além de ter elevada importância na alimentação humana e animal (Martinez e Fernandez, 2019; García-Lara e Serna-Saldivar, 2019). Este cereal juntamente ao trigo e ao arroz representam atualmente mais da metade do uso global de fertilizantes, o que tende a permanecer, pelo menos, até 2030 (Bruinsma, 2017).

Estudos climáticos globais propõem elevadas taxas de frequência e intensidade da seca nos próximos anos, como consequência do aumento de temperatura (Naumann et al., 2018; Wang et al., 2018). O estresse hídrico influencia negativamente os processos bioquímicos e fisiológicos das plantas limitando a produtividade agrícola (Vurukonda et al., 2016; Fahad et al., 2017; Sehgal et al., 2018) e deverá causar sérios problemas de crescimento de plantas em mais de 50% das terras aráveis até 2050 (Fita et al., 2015; Ngumbi e Kloepper, 2016). Além disso, estima-se que a população mundial alcance nove bilhões até 2050, necessitando de aumentos contínuos na produção agrícola para garantir a segurança alimentar (Ngumbi e Kloepper, 2016). Portanto, é necessário encontrar soluções para mitigar os efeitos relacionados à seca e seus impactos na segurança alimentar. Em particular, a melhoria da tolerância das plantas ao estresse hídrico e o melhor crescimento das culturas que satisfazem as demandas de alimentos sob disponibilidade limitada de recursos hídricos como o milho, é foco das pesquisas nos dias atuais (Mancosu et al., 2015; Ngumbi e Kloepper, 2016).

O Brasil é o terceiro maior produtor e consumidor de milho, além de ser o segundo maior exportador, fazendo com que a cadeia produtiva deste cereal tenha elevada importância no agronegócio nacional (FAO, 2019; García-Lara e Serna-Saldivar, 2019). Na maioria das regiões brasileiras produtoras de milho, o principal problema é sua baixa produtividade, devido às variações climáticas, problemas

fitossanitários e esgotamento progressivo da fertilidade do solo, já que essa cultura necessita de grande quantidade de nutrientes e água (Pessoa et al., 2000; Ray et al., 2015). Além disso, atualmente a importação de fertilizantes e matérias-primas destinadas à produção de fertilizantes é umas das principais fragilidades do agronegócio brasileiro, sendo que, em média, 77% desses insumos são importados (Vegro, 2018; ANDA, 2019). Uma alternativa economicamente benéfica e ambientalmente sustentável em comparação aos fertilizantes químicos, é o uso de inoculantes microbianos (Alori et al., 2017; Zaeim et al., 2017; Alori e Babalola, 2018).

Um inoculante microbiano é caracterizado como um produto que contém cepas de microrganismos que atuam favoravelmente no desenvolvimento das plantas. Esse produto pode desempenhar um papel importante na produção de culturas sustentáveis por reduzirem os danos ambientais e os riscos à saúde humana, serem eficazes em pequenas quantidades, possuírem características de promoção de crescimento vegetal, melhor adaptabilidade e sobrevivência a condições de estresses bióticos e abióticos, e outros usos que atenuam o emprego de pesticidas e fertilizantes na agricultura (Bashan et al., 2014; Singh et al., 2016; Alori et al., 2017; Alori e Babalola, 2018). A utilização de bactérias fixadoras de nitrogênio do gênero *Bradyrhizobium*, por exemplo, gera uma economia anual de bilhões de dólares devido à contribuição desses microrganismos para o aumento da produtividade na cultura da soja, dispensando a aplicação de fertilizantes nitrogenados (Melo, 2018).

Durante os últimos anos o uso de inoculantes no Brasil vem crescendo de forma significativa pelos agricultores brasileiros (ANPII, 2018). A Coleção de Referência da Embrapa Milho e Sorgo foi instituída em 2012, junto à Rede de Recursos Genéticos Microbianos da Embrapa, visando a prospecção da biodiversidade e a conservação dos recursos biológicos nacionais para aplicação direta e indireta no agronegócio (Oliveira et al., 2013). Em 2018, a coleção de microrganismos de interesse agrícola da Embrapa Soja, foi homologada como banco de Germoplasma pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Landgraf, 2018). Essas coleções permitem a prospecção da biodiversidade, com a manutenção de seu acervo e organização da informação, garantindo a conservação dos recursos biológicos nacionais, tendo potencial uso na pesquisa e produção de inoculantes microbianos.

A aplicação de inoculantes microbianos existe há mais de 100 anos, mas ganhou destaque nas últimas três décadas, com vários produtos comerciais de

inoculantes no mercado (Aiori et al., 2017) (Tabela 1). Projeções do mercado global de bioestimulantes indicam um aumento anual de 10% entre 2016 e 2021, atingindo 2,9 bilhões de dólares e 25 milhões de hectares (Stadnik et al., 2018). Na América Latina, o mercado de bioestimulantes girou em torno de 160 milhões de dólares em 2013, mas estima-se um crescimento anual de 14%, concentrado principalmente no Brasil e Argentina (Stadnik et al., 2018).

Tabela 1. Inoculantes microbianos comerciais disponíveis no mercado brasileiro em 2019.

Microrganismos	Nome do Produto	Empresa	Culturas	Função
<i>Bradyrhizobium japonicum</i> (estirpes SEMIA 5079 e SEMIA 5080)	Rizoplus Super Rizoliq Super	Rizoplus Super	Soja	Fixação de Nitrogênio
<i>Bradyrhizobium elkanii</i> (estirpes SEMIA 587 e SEMIA 5019)	Gelfix 5 Adhere® 60	BASF	Soja	Fixação de Nitrogênio
<i>Bradyrhizobium japonicum</i> (estirpe E109)	HiStick® Plus			
<i>Bradyrhizobium japonicum</i> <i>Bradyrhizobium japonicum</i> e <i>Penicillium bilaiae</i>	Cell-Tech® Technology TagTeam® Technology	Acceleron	Soja	Fixação de Nitrogênio Fixação de Nitrogênio e Solubilização de Fosfato
<i>Bradyrhizobium japonicum</i> (estirpes SEMIA 5079 e SEMIA 5080)	Nitrobacter Plus Nitrobacter TF	LABORAGRO Inoculantes Agrícolas	Soja	Fixação de Nitrogênio
<i>Micorriza</i> e <i>Bacillus Subtilis</i>	No-Estio®	Biogen	Milho e Soja	Tolerância à estresse hídrico
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> e <i>Trichoderma virens</i>	QuickRoots® Technology	Acceleron	Milho	Fixação de Nitrogênio e Solubilização de Fosfato e Potássio
<i>Azospirillum brasilense</i> (Ab-V5 e Ab-V6)	Rizospirillum	Rizobacter	Milho	Fixação de Nitrogênio
<i>Lactobacillus plantarum</i> e <i>Propionibacterium acidipropionici</i>	SiloMax Matsuda Milho	Matsuda	Milho, Sorgo e grão úmido	Atividade antifúngica
<i>Lactobacillus plantarum</i> e <i>Propionibacterium acidipropionici</i>	Lalsil Milho			Atividade antifúngica
<i>Lactobacillus plantarum</i> MA18/5U e <i>Pediococcus acidilactici</i> MA18/5M	Bactosilo Master Tropical	Lallemand S.A.S.	Milho, Sorgo e capim	Atividade antibacteriana
<i>Azospirillum</i> ssp.	Nitragin Maíz®	Monsanto BioAg	Milho	Fixação de Nitrogênio
<i>Azospirillum brasilense</i> (Ab-V5 e Ab-V6)	Azp, Azp TF	LABORAGRO Inoculantes Agrícolas	Milho e Trigo	Fixação de Nitrogênio
<i>Azospirillum brasilense</i>	Masterfix Gramínias	Stoller	Milho e Arroz	Fixação de Nitrogênio
<i>Penicillium bilaiae</i>	JumpStart® Technology	Acceleron	Trigo	Solubilização de Fosfato
<i>Azospirillum brasilense</i> cepa AZ 239	Nitragin Wave®	Monsanto BioAg	Trigo	Fixação de Nitrogênio
<i>Lactobacillus buchneri</i> NCIMB40788	SiloMax Matsuda Cana	Matsuda	Cana-de-açúcar	Atividade antifúngica
<i>Propionibacterium acidipropionici</i>	BioMax cana	Lallemand S.A.S.	Cana-de-açúcar	Atividade antifúngica

2.2. BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS (BPCPs)

As bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs) podem aumentar o crescimento das plantas e protegê-las contra estresses bióticos e abióticos por meio de uma ampla variedade de mecanismos, sendo utilizadas muitas vezes como inoculantes microbianos (Souza et al., 2015). Este grupo de bactérias é classificado como epifíticas, quando colonizam a superfície vegetal, rizobactérias, quando colonizam a região da rizosfera, e endofíticas, quando, em pelo menos uma parte de seu ciclo de vida, habitam o interior das plantas sem causar danos para o hospedeiro. Uma bactéria endofítica pode ser, portanto, epifítica ou rizosférica que colonizou o vegetal e instalou-se em algum de seus órgãos, como caule, folhas ou a própria raiz (Ryan et al., 2008; Santoyo et al., 2016).

Todas as superfícies acima do solo de uma planta que representam habitats microbianos são denominadas filosfera. Em particular, as superfícies foliares possuem uma densa população de bactérias epifíticas mesmo este sendo um ecossistema desafiador para colonizar e crescer devido a exposição constante à radiação ultravioleta, baixa disponibilidade de água e nutrientes e grandes flutuações de temperatura ao longo do dia (Bodenhausen et al., 2013; Schlechter et al., 2019). Essas bactérias são conhecidas por atuar no biocontrole e promover o crescimento de plantas, principalmente através da produção de exopolissacarídeos e formação de biofilme (Gnanamanickam e Immanuel, 2007).

A rizosfera, por sua vez, é o ambiente do solo que compreende a raiz da planta e é o local onde os macros e micronutrientes essenciais são absorvidos pela planta. Dessa forma, a rizosfera apresenta máxima atividade microbiana devido à alta disponibilidade de nutrientes. Neste ambiente, as rizobactérias são capazes de estabelecer associações simbióticas, por exemplo, com plantas leguminosas, beneficiando-as pela fixação do nitrogênio atmosférico em estruturas de raízes específicas conhecidas como nódulos (Vejan et al., 2016).

Por outro lado, as bactérias endofíticas possuem vantagens sobre os demais microrganismos por influenciar positivamente a planta hospedeira e sobreviverem em um ambiente mais uniforme, que são os tecidos internos das plantas, onde são menos afetadas por fatores abióticos como a temperatura, o potencial osmótico e a radiação ultravioleta (Saini et al., 2015; Santoyo et al., 2016; Jha et al., 2018; Afzal et al., 2019). Além disso, o habitat endofítico possui características mais propícias à expressão de

genes promotores do crescimento vegetal em comparação à rizosfera, em função da alta disponibilidade de recursos e baixa competitividade com outros organismos (Oliveira et al., 2003). A colonização bacteriana em plantas ocorre em locais de dano epidérmico, de raiz lateral ou emergência de radícula, através de aberturas naturais como estômatos e lenticelas (poros para trocas gasosas), hidátodos (poros de água) e sementes. A densidade populacional de endofíticos é altamente variável, dependendo principalmente das espécies bacterianas e das plantas envolvidas, mas também do estágio de desenvolvimento da planta, densidade do inóculo e condições ambientais (Hong e Park, 2016; Gadhavé et al., 2018).

O interesse em BPCP tem aumentado consideravelmente graças à busca por sistemas agrícolas mais sustentáveis devido ao seu potencial na substituição e/ou redução do uso de fertilizantes químicos, assim como para minimizar o efeito de estresses bióticos e abióticos em culturas de interesse agrícolas. Certamente essas bactérias irão desempenhar um papel importante na revolução agrícola nas próximas décadas, ganhando atenção de muitos agricultores e pesquisadores (Parnell et al., 2016; Alori et al., 2017). Pesquisas demonstrando a eficiência desses microrganismos em milho já foram relatadas na literatura, com destaque para os filos Proteobacteria e Firmicutes, e os gêneros *Bacillus*, *Paenibacillus* e *Staphylococcus* (Firmicutes); *Rhizobium*, *Agrobacterium* e *Sphingomonas* (Alphaproteobacteria); *Burkholderia* (Betaproteobacteria); e *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Pantoea* e *Pseudomonas* (Gammaproteobacteria) (Varma et al., 2017; Wallace e May, 2018), sendo o gênero *Bacillus*, o mais comumente estudado e encontrado em milho, seguido por *Burkholderia*, *Enterobacteria* e *Paenibacillus* (Bodhankar et al., 2017; Wallace e May, 2018).

2.3. INTERAÇÃO PLANTA-MICRORGANISMOS

A comunicação entre plantas e microrganismos é realizada por meio de trocas de sinais produzidos e liberados pelas plantas, como exsudatos radiculares, ou pelos organismos que residem na rizosfera, como produção de moléculas análogas aos fitormônios e compostos orgânicos voláteis (COV) (Chagas et al., 2018; Sasse et al., 2018). A produção de exsudatos radiculares representa um custo significativo de carbono para a planta, sendo uma substância altamente complexa cuja composição pode ser influenciada por diversos fatores, incluindo as espécies e genótipos vegetais,

o estágio de desenvolvimento da planta, zona radicular, fatores ambientais e a presença de microrganismos (Mommer et al., 2016; Chagas et al., 2018; Lemanceau et al., 2018; Sasse et al., 2018).

Essas matrizes de compostos solúveis que são liberadas no solo são substratos e/ou moléculas sinalizadoras para os microrganismos, atuando como atrativos químicos ou mesmo repelentes para patógenos (Chagas et al., 2018). O movimento em resposta aos atrativos químicos é iniciado pela detecção de estímulos extracelulares através de receptores específicos nas bactérias e é denominado quimiotaxia (Chagas et al., 2018; Lemanceau et al., 2018). Da mesma forma que os exsudatos radiculares tem influência na constituição do microbioma da rizosfera, este também influencia a exsudação das raízes das plantas ao induzir alteração no metaboloma vegetal e modular a produção de hormônios vegetais (Mommer et al., 2016; Chagas et al., 2018; Lemanceau et al., 2018).

Há diversos relatos na literatura que demonstram respostas distintas em diferentes genótipos de plantas inoculadas com BPCP (Araújo et al., 2013; de Araujo et al., 2013; Alves et al., 2015; Amaral et al., 2016). Vinte genótipos da gramínea modelo *Brachypodium distachyon* foram inoculados com duas BPCP, *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae*, e cultivados em solo com diferentes níveis de nitrogênio. Uma resposta positiva de crescimento foi observada em apenas quatro genótipos cultivados sem adição de nitrogênio e três genótipos testados sob baixo nitrogênio (Amaral et al., 2016). Já, em casa de vegetação, de 35 genótipos de milho inoculados com *H. seropedicae*, apenas nove híbridos apresentaram ganhos de crescimento e acúmulo de N com a inoculação, demonstrando divergência nas respostas entre cultivares dessa cultura (de Araujo et al., 2013).

2.4. MECANISMOS DE PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO PELAS BPCPs

As BPCPs promovem o crescimento das plantas diretamente facilitando a aquisição de nutrientes como nitrogênio, fósforo e minerais essenciais via fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fosfato e sequestro de ferro por sideróforos, ou modulando níveis de hormônios vegetais, através da produção, estímulo ou inibição de fitormônios, como auxinas, giberelinas, citocininas, ácido abscísico e etileno; ou indiretamente com competição ou antibiose (biocontrole), resistência sistêmica induzida (ISR) e biossíntese de fitormônios relacionados ao estresse biótico,

como o ácido jasmônico e ácido salicílico (Saini et al., 2015; Varma et al., 2017; Nazir et al., 2018; Wallace e May, 2018).

2.4.1. Fixação de nitrogênio

O nitrogênio (N) é um dos principais fatores limitantes para o crescimento e produtividade das plantas. Cerca de 78% do N está na atmosfera em forma de N_2 e indisponível para ser assimilado diretamente pelas plantas, sendo necessária sua conversão em amônia. No entanto, as plantas não são capazes de reduzi-lo diretamente e bactérias fixadoras de nitrogênio, denominadas diazotróficas, utilizando um sistema enzimático complexo realizam essa conversão (Mus et al., 2016). As bactérias diazotróficas fornecem N_2 às plantas por mecanismos simbióticos ou não-simbióticos (Dai et al., 2014; Remigi et al., 2016). Para fixação biológica de nitrogênio é necessária a expressão coordenada de vários genes do operon *nif* para a síntese da nitrogenase (Dai et al., 2014; Remigi et al., 2016; Xie et al., 2016), como os envolvidos na ativação da Fe-proteína, na biossíntese de cofator de ferro-molibdênio, na doação de elétrons, além dos genes ligados diretamente à síntese e atividade da nitrogenase (Glick, 2012; Bruto et al., 2014).

2.4.2. Solubilização de fosfato

O fósforo (P) é o segundo nutriente essencial que mais limita o crescimento vegetal. Ele desempenha um papel importante em praticamente todos os processos metabólicos da planta, incluindo a fotossíntese e a respiração. Apesar de estar disponível no solo nas formas orgânica e inorgânica, o P é encontrado predominantemente (95-99%) em formas imobilizadas e precipitadas, enquanto as plantas absorvem apenas duas formas solúveis, o íon monobásico ($H_2PO_4^-$) e diabásio (HPO_4^{2-}) (Bhattacharyya e Jha, 2012; Nazir et al., 2018).

Para suprir a deficiência de P nos solos, ocorrem aplicações frequentes de fertilizantes fosfatados nos campos agrícolas, porém as plantas absorvem baixas quantidades destes compostos e os demais são rapidamente convertidos em complexos insolúveis (Bruto et al., 2014). Neste contexto, as BPCP associadas à atividade de solubilização de fosfato são capazes de fornecer o P a partir de fontes insolúveis ou parcialmente solúveis por meio de diferentes mecanismos (Khan et al., 2007), tais como a libertação de compostos de dissolução mineral, como prótons, íons

de hidroxila, sideróforos, CO₂ e ácidos orgânicos, como o ácido glucônico, o qual requer glicose desidrogenase e seu cofator pirroloquinolina para ser expresso; além da liberação de enzimas extracelulares, como as fosfatases, para a mineralização do fosfato na forma bioquímica ou orgânica (Glick, 2012; Khan et al., 2017).

2.4.3. Produção de sideróforos

O ferro (Fe) é um micronutriente essencial para as plantas e microrganismos, pois está envolvido em vários processos biológicos fundamentais, como fotossíntese, respiração, biossíntese de clorofila, assim como desempenha um papel importante na formação de biofilme microbiano, uma vez que regula a motilidade do microrganismo (Ahmed e Holmström, 2014; Saha et al., 2015; Souza et al., 2015). Apesar de ser o quarto elemento mais abundante na crosta terrestre, o Fe é encontrado muitas vezes na forma insolúvel (Fe³⁺), o que restringe sua biodisponibilidade para as plantas. Em resposta a isso, os microrganismos presentes no solo produzem portadores especiais de ferro ou compostos ligantes de ferro chamados de sideróforos ou siderocromos (Ahmed e Holmström, 2014; Sah e Singh, 2015).

Sideróforos são agentes quelantes, compostos orgânicos de baixo peso molecular e sintetizados por BPCP sob condições limitantes de Fe. Com alta permeabilidade da membrana, estas moléculas atuam como veículos de transporte de íons férricos em células microbianas (Butler e Theisen, 2010; Saha et al., 2015; Pahari et al., 2017). Os sideróforos microbianos podem disponibilizar o Fe para as plantas, quando a biodisponibilidade de Fe é baixa, através de dois mecanismos: (i) sideróforos microbianos com alto potencial redox podem ser reduzidos para doar Fe²⁺ ao sistema de transporte da planta. Neste mecanismo, supõe-se que os sideróforos microbianos de Fe³⁺ são transportados para o apoplasto da raiz da planta, onde ocorre a redução desta molécula e o Fe²⁺ é aprisionado no apoplasto, o que leva a altas concentrações de Fe na raiz (Mengel, 1994), (ii) sideróforos microbianos podem quelar o Fe a partir dos solos e então fazer uma troca de ligantes com fitossideróforos (Masalha et al., 2000).

As substâncias comuns de ligação ao ferro nos sideróforos incluem o ácido hidroxâmico, o ácido hidrocarboxílico e os catecóis, bem como outras estruturas relacionadas (Butler e Theisen, 2010; Ahmed e Holmström, 2014). Como exemplos de sideróforos presentes nos microrganismos, tem-se a acromobactina, pirocatecol,

enterobactina, aerobactina, rizoferrina, ferricromo, pioverdina, bacilibactina e petrobactina (Gupta et al., 2014; Sah e Singh, 2015). A produção de sideróforos é benéfica para as plantas ao disponibilizar o íon Fe, auxiliando na nutrição (mecanismo direto) ou reduzindo a competitividade dos patógenos transmitidos pelo solo ao limitar este nutriente (mecanismo indireto), além de atuar também na biorremediação (Tank et al., 2012; Sah e Singh, 2015; Saha et al., 2015; Pahari et al., 2017).

2.4.4. Produção de exopolissacarídeos (EPS) e formação de biofilme

Os exopolissacarídeos (EPS) são polímeros de carboidratos que são secretados por uma ampla variedade de BPCPs. Eles podem permanecer associados à parede celular formando uma camada de cápsula ou podem ser liberados nas células circundantes como limo extracelular. EPS tem papel vital em uma variedade de processos, tais como proteção de células bacterianas da dessecação, privação de nutrientes ou outras condições de estresse, para manter funções celulares primárias e atividade antibacteriana, na biorremediação ao reforçar a tolerância a metais pesados, auxiliar na fixação de nitrogênio evitando altas concentrações de oxigênio, já que a nitrogenase é extremamente sensível à este elemento, além de ser o principal constituinte de biofilmes (Jha e Saraf, 2015; Raj et al., 2018).

Biofilmes bacterianos são formados por comunidades de bactérias fixadas a superfícies sólidas e circundadas por uma matriz autoproduzida, geralmente composta por EPS, proteínas, lipídios e DNA extracelular. Bactérias associadas a plantas unem-se e formam biofilmes em diferentes tecidos, incluindo folhas, caules, sementes e raízes. A formação de biofilme não apenas fortalece a interação entre plantas e bactérias ao formar poros e redes que facilitam tanto o fluxo de nutrientes e oxigênio, quanto a comunicação intercelular, mas também fornece ao sistema radicular da planta uma barreira protetora contra o ataque de organismos patogênicos (Vlamakis et al., 2013; Deng et al., 2015; Flemming et al. 2015).

As BPCP que formam biofilmes e produzem EPS que se ligam a cátions podem, por exemplo, reduzir o teor de Na^+ disponível para absorção de plantas e aliviar o estresse salino em plantas que crescem nesses ambientes. Além disso, melhoram a permeabilidade de nutrientes ao aumentar a agregação das partículas do solo e manter um potencial de água mais alto em torno das raízes. Sendo assim, esses

microrganismos são capazes de aumentar a disponibilidade de nutrientes para as plantas e protegê-las do estresse hídrico e salino (Kasim et al., 2016; Raj et al., 2018).

2.4.5. Fitormônios

Fitormônios são sinalizadores químicos que influenciam a capacidade da planta de responder ao seu ambiente. Eles são capazes de estimular ou inibir o crescimento das plantas, sendo que cada resposta pode ser o resultado de dois ou mais fitormônios atuando juntos. Existem cinco grupos principais de hormônios vegetais: auxinas, giberelinas, citocininas, etileno e ácido abscísico. Esses fitormônios podem ser sintetizados pela própria planta e também, de forma análoga, por microrganismos associados, como as BPCP. Além disso, essas bactérias são capazes de modular os níveis desses hormônios contribuindo positivamente para o desenvolvimento e crescimento da planta (Taiz e Zeiger, 2013; Nascimento et al., 2018).

A auxina é um dos fitormônios que apresenta produção mediada pelas BPCP mais relatada na literatura por influenciar o crescimento radicular, formação de raízes laterais, a dominância apical, alongação celular, diferenciação dos tecidos, abscisão foliar, promovendo o crescimento da planta e atuando na resposta das plantas à luz e à gravidade (Reinhold-Hurek e Hurek, 2011; Taiz e Zeiger, 2013). A auxina mais estudada em BPCP é o ácido indol-3-acético (AIA). Uma ampla gama de processos envolvidos no desenvolvimento e crescimento das plantas é controlada pelo AIA exógeno, no qual baixas concentrações podem estimular o alongamento da raiz primária, enquanto altos níveis diminuem o comprimento desta raiz, aumentam a formação de pelos radiculares e estimulam a formação de raízes laterais, permitindo que as plantas tenham maior acesso aos nutrientes do solo (Overvoorde et al., 2010; Khan et al., 2016). Em bactérias, o AIA pode ser sintetizado através de seis vias diferentes (Figura 1), sendo elas a indol-3-acetamida (IAM), ácido indol-3-pirúvico (IPA), triptamina (TAM), indol-3-acetonitrilo (IAN), oxidase de cadeia lateral de triptofano (TSO) e vias independentes de triptofano, tendo um alto grau de similaridade com as vias de produção em plantas. Na via IAM, presente apenas em microrganismos, a enzima triptofano monooxigenase (*laaM*) oxida o triptofano em indol-3-acetamida, e este é convertido em AIA por hidroxilação através da indol-3-acetamida hidrolase (*laaH*). Na IPA, a triptofano transaminase desamina triptofano

para produzir IPA, o qual é descarboxilado pela ação da IPA descarboxilase (*ipdC*) para produzir o indol-3-acetaldeído (IALd), que é oxidado em AIA pela IALd desidrogenase (*dhaS*). A via TAM é semelhante à IPA, sendo a única diferença a ordem das reações de desaminação e descarboxilação. Na via IAN, o triptofano é convertido em indol-3-acetaldoxima, que é então transformado em indol-3-acetonitrila, sendo a nitrilase a enzima responsável por converter essa molécula em AIA. Na via TSO, o triptofano é convertido diretamente em IALd, contornando IPA, que pode ser oxidado em IAA (Khan et al., 2016). Mais de uma via pode estar presente em uma mesma bactéria (Mohite, 2013).

Algumas bactérias são capazes de sintetizar substâncias semelhantes às giberelinas e citocininas (Glick, 2012; Taiz e Zeiger, 2013), hormônios diretamente ligados ao alongamento e a divisão celular em plantas. As giberelinas (GA) atuam induzindo a germinação de sementes, a alongação do caule, o florescimento e frutificação em plantas (Taiz e Zeiger, 2013). Na maioria dos casos elas são formadas a partir do geranylgeranyl difosfato (GGPP), sendo que, os passos iniciais da via biossintética das GAs em bactérias podem ser regulados por monooxigenases do citocromo P450 relacionadas com a membrana, e os últimos passos hidroxilativos por dioxigenases 2-oxoglutarato-dependentes (Khan et al., 2016). As giberelinas bioativas comumente encontradas em bactérias são GA₁, GA₃ e GA₄ (Salazar-Cerezo et al., 2018; Tudzynski et al., 2018). Já, as citocininas controlam diversos mecanismos como a divisão celular, diferenciação dos cloroplastos, senescência foliar e sinalização nutricional em plantas (Taiz e Zeiger, 2013; Arkhipova et al., 2007). A condensação de AMP e dimetilalil pirofosfato (DMAPP) na citocinina, catalisada pela AMP transferase, ativa isopenteniladenosina-5'-monofosfato (*iPMP*). Essa via é considerada a rota principal para a biossíntese desse fitormônio em bactérias. As principais citocininas, isopentenil adenina (*iP*), isopentenil adenosina (*iPA*) ou seus derivados fosforilados, são hidroxilados para formar os derivados de t-zeatina biologicamente ativos. Os genes *ipt* ou *tzs* codificam a enzima chave isopentenil transferase, responsável pela biossíntese de citocininas, e catalisam a transferência da fração isopentenila do DMAPP. Por outro lado, as citocininas podem também ser derivadas indiretamente da tRNA-transferase (*miaA*) em bactérias (Khan et al., 2016).

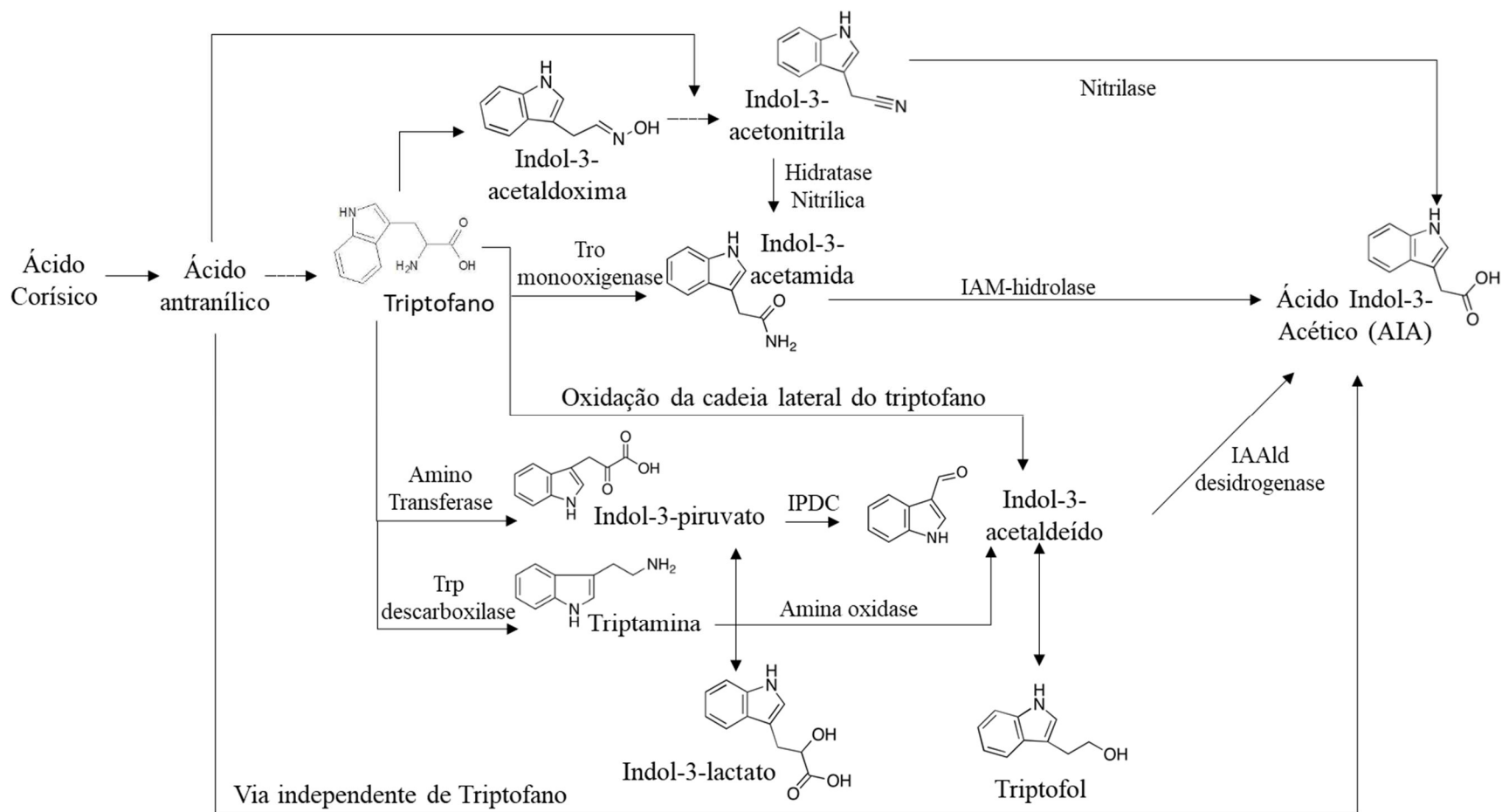


Figura 1. Vias para produção de ácido indol-3-acético (AIA) pelas bactérias (Adaptado de Spaepen et al., 2007).

O etileno, fitormônio gasoso, é um produto do metabolismo da planta requerido para a quebra da dormência de sementes, expansão celular, aumento no número de raízes, indução ao florescimento, abscisão de folhas e frutos e amadurecimento dos frutos, além de estar envolvido em respostas a estresses bióticos e abióticos (Babalola, 2010; Taiz e Zeiger, 2013). As vias biossintéticas bacterianas sugeridas são distintas das plantas. Na primeira via bacteriana, a metionina é o precursor, enquanto na segunda via, o etileno é produzido a partir do 2-oxoglutarato. A compreensão total dessas vias ainda não está clara na literatura (Spaepen, 2015).

O ácido abscísico (ABA) induz o fechamento estomático e o amadurecimento dos frutos e inibe a germinação das sementes. Além disso, está envolvido em respostas de dormência e proteção contra estresses abióticos, como seca, estresse salino e toxicidade a metais pesados. A redução dos níveis de ácido abscísico, gerado pela interação de BPCP com as plantas, permite aos vegetais elevar a atividade em diversos pontos do metabolismo primário (fotossíntese), já que este hormônio é responsável pela inibição da síntese e degradação de clorofila, DNA, proteínas, entre outros, acarretando em redução da expansão foliar e atividade fotossintética (Cassan et al., 2009; Taiz e Zeiger, 2013; Spaepen, 2015; Numan et al., 2018). A produção bacteriana de ABA alivia o estresse hídrico levando à diminuição da transpiração foliar em plantas, conferindo tolerância à seca, embora as vias biossintéticas desse fitormônio em bactérias ainda sejam desconhecidas (Spaepen, 2015; Dar et al., 2018; Numan et al., 2018).

2.4.6. ACC-deaminase

Os estresses abióticos e bióticos, incluindo danos causados por patógenos, encharcamento, seca e salinidade podem desencadear a síntese do etileno levando a mudanças fisiológicas nas plantas e inibindo seu crescimento e desenvolvimento. Esse processo pode ser reduzido pela ação da enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) deaminase produzida por bactérias, a qual cliva o ACC, precursor do etileno, em ácido α -cetobutírico e amônia, diminuindo o nível do fitormônio e facilitando o crescimento da planta (Nascimento et al., 2018; Raghuwanshi et al., 2018). O principal gene envolvido nesse processo é o *acdS* que é responsável pela expressão dessa enzima (Esmael et al., 2018).

As bactérias com baixa atividade da ACC deaminase, associam-se apenas a determinadas espécies de plantas ou estão presentes apenas em certos tecidos e, embora não diminuam o nível global de etileno produzido pela planta, podem impedir um aumento localizado nos níveis deste hormônio. Por outro lado, as bactérias com alta produção dessa enzima não apresentam especificidade quanto a seus hospedeiros (Souza et al., 2015).

2.4.7. Mecanismos Indiretos

O principal mecanismo indireto de promoção de crescimento presente em BPCP é a atuação como agentes de biocontrole (Glick, 2012). Em geral, a competição por nutrientes e a produção de metabólitos antimicrobianos são os principais modos de ação desse mecanismo. Além disso, a interação de algumas BPCP com as raízes ou tecidos das plantas pode resultar na resistência contra patógenos, fenômeno chamado de resistência sistêmica induzida (ISR). A ISR envolve a sinalização de jasmonato e etileno dentro da planta e esses hormônios estimulam as respostas de defesa da planta hospedeira contra uma variedade de patógenos (Glick, 2012). Muitos componentes bacterianos individuais induzem a ISR, tais como lipopolissacarídeos, flagelos, sideróforos, lipopeptídeos cíclicos, 2,4-diacetilfloroglucinol, homoserina, lactonas e compostos orgânicos voláteis como, acetoína e 2,3-butanodiol (Nazir et al., 2018). Alguns dos genes envolvidos em mecanismos indiretos são responsáveis pela produção de acetoína, *budAB*, e 2,3-butanodiol, *budC* (Shankar et al., 2012; Khan et al., 2017), os quais estão relacionados à ISR em plantas e alongamento das raízes. Além destes, a produção de quitinase (*chiA-chiO*), fenazina (*phzABCDEFGF*) e ácido cianídrico (*hcnABC*), também estão relacionados ao controle de fitopatógenos (Loper e Gross, 2007; Pathma et al., 2011).

2.5. MECANISMOS DE PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO DE PLANTAS VIA SEQUENCIAMENTO DOS GENOMAS DE BPCP

Avanços recentes em tecnologias de sequenciamento de DNA, como Illumina (Solexa), Ion Torrent, PacBio Biosciences e Oxford Nanopore estão viabilizando, pela redução do custo por base sequenciada, o sequenciamento de genomas completos de microrganismos benéficos como as BPCP e a caracterização do conteúdo total de genes, estrutura do genoma e estudos *in silico* de fisiologia, ecologia e evolução (Qin

et al., 2015; Chaudhry et al., 2017; Khan et al., 2017; Ma et al., 2018). Além disso, com a utilização de ferramentas de bioinformática, é possível realizar a anotação do genoma, a construção de vias metabólicas e análises comparativas do genoma para a elucidação dos mecanismos de promoção de crescimento de plantas (Ahmed, 2009; Berendsen et al., 2015).

A primeira BPCP gram-positiva a ter o genoma completamente sequenciado foi *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum*, FZB42T em 2007 (Chen et al., 2007). Posteriormente, diversos genomas do gênero *Bacillus* foram disponibilizados (Niazi et al., 2014; Ambrosini et al., 2015; Batista et al., 2016; Egidi et al., 2016; Kavamura et al., 2017; Kim et al., 2017; Wang et al., 2017; Ma et al., 2018; Vílchez et al., 2018; Zhang et al., 2018; Huang et al., 2019), além de genomas de bactérias de outros gêneros como *Azospirillum*, *Rhizobium*, *Agrobacterium* (Alphaproteobacteria), *Azoarcus*, *Burkholderia* (Betaproteobacteria), *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Pantoea*, *Pseudomonas* e *Serratia* (Bruto et al., 2014; Chen et al., 2015; Lim et al., 2015; Adam et al., 2016; See-Too et al., 2016; Khan et al., 2017; Zekic et al., 2017).

O sequenciamento do genoma da cepa JX285 de *B. megaterium*, isolada a partir de uma amostra de solo rizosférico, capaz de solubilizar fósforo inorgânico e promover o crescimento das plantas, mostrou a presença de genes associados à produção de ácidos orgânicos, além de genes que codificam a fosfatase alcalina e a frutose-1,6-bisfosfatase, indicando as possíveis rotas relacionadas a solubilização de fosfato (Huang et al., 2019). Da mesma forma, *B. flexus* KLBMP 4941, endófito halotolerante isolado do halófito *Limonium sinense*, é capaz de promover o crescimento de plântulas hospedeiras sob condições de estresse salino. Foram encontrados em seu genoma genes relacionados à promoção do crescimento de plantas, como aqueles associados à fixação de nitrogênio, sideróforo, síntese de espermidina e acetoína, e alguns genes responsáveis pela alta tolerância à salinidade, como genes associados ao antiporte Na^+/H^+ , transportador de glicina, betaína e betaína aldeído desidrogenase corroborando os dados obtidos *in vivo*. A análise deste genoma fornece uma melhor compreensão dos mecanismos subjacentes à promoção do crescimento de plantas inoculadas com a cepa KLBMP 4941 sob condições de estresse salino e sua capacidade de se adaptar a habitats com alto teor de sal (Zhang et al., 2018). Sendo assim, realizar a análise genômica de BPCP afim de elucidar os mecanismos associados à promoção de crescimento e tolerância à estresses é extremamente relevante.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Caracterizar duas cepas de *Bacillus* e avaliar seu potencial de promoção de crescimento em diferentes genótipos de milho.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- i. Caracterizar o genoma parcial de duas cepas de *Bacillus* (B116 e B119) da Coleção de Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Milho e Sorgo, anotar os genes e comparar os genomas *in silico* para predição de características de promoção de crescimento em plantas;
- ii. Avaliar as características de promoção de crescimento *in vitro* das duas cepas de *Bacillus*, tais como produção de biofilme, de exopolissacarídeos, de sideróforos, de ácido indol-acético, de fosfatases ácida e alcalina, fixação de nitrogênio atmosférico, solubilização de fosfato de cálcio, tolerância ao estresse hídrico e citotoxicidade;
- iii. Avaliar o efeito das duas cepas de *Bacillus* na promoção de crescimento de milho cultivados em hidroponia com indução de estresse hídrico com polietilenoglicol;
- iv. Avaliar o efeito das duas cepas de *Bacillus* na promoção de crescimento em 21 genótipos de milho cultivados em hidroponia.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. CEPAS DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS

As duas cepas de *Bacillus*, B116 e B119, foram isoladas de genótipos de milho tropical eficientes na utilização de fósforo (Oliveira et al., 2009) e estão conservadas na Coleção de Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Milho e Sorgo. Em estudos anteriores, essas cepas foram capazes de solubilizar fosfatos *in vitro* (Oliveira et al., 2009) produzir AIA e promover o crescimento em plantas de milho em experimentos desenvolvidos em câmara de crescimento e campo (de Sousa et al., 2019).

4.2. ANÁLISE DO GENOMA PARCIAL DAS CEPAS B116 E B119

4.2.1. Sequenciamento parcial do genoma das cepas B116 e B119 por sequenciamento de nova geração

Os isolados bacterianos foram inoculados em meio caldo triptona soja (TSB) e incubados a 28°C por 24 h. A extração de DNA genômico foi realizada utilizando o *Kit Wizard Genomic DNA Purification* (Promega, EUA) de acordo com as recomendações do fabricante e quantificado no Qubit® 2.0 fluorometer (Life Technologies). Os genomas das cepas de *Bacillus* B116 e B119 foram sequenciados na plataforma Illumina HiSeq 4000 (Illumina, San Diego, CA, EUA) no Beijing Genomics Institute - BGI (Shenzhen, China), usando a estratégia 150-*paired end*. O DNA genômico foi fragmentado aleatoriamente para construção de duas bibliotecas através de um ultrassonador Bioruptor (Diagenode, Denville, NJ, EUA) e métodos físico-químicos. As bibliotecas de fragmentos *paired end* foram sequenciadas de acordo com o protocolo do sistema Illumina HiSeq 4000. Leituras brutas de baixa qualidade foram descartadas. As *reads* sequenciadas foram montadas usando o software SOAPdenovo v1.05.

Com o software LASTZ (http://www.bx.psu.edu/miller_lab/dist/README.lastz-1.02.00/), a sequência de referência *Bacillus thuringiensis serovar kurstaki* str. HD-1 (GenBank: GCA_000717535.1) e a sequência de cada amostra foram alinhadas para obtenção dos fragmentos maiores. Através de uma série de tratamento com *axt_correction*, *axtSort*, *axtBest*, os melhores resultados de alinhamento foram

escolhidos e foram verificados com o BWA (<http://bio-bwa.sourceforge.net/>) e samtools (<http://samtools.sourceforge.net/>).

4.2.2. Anotação estrutural e funcional das cepas B116 e B119

As sequências genômicas pré-montadas foram anotadas usando o software para anotação rápida do genoma procariótico (PROKKA) versão 1.8 e o software RAST versão 2.0 (Rapid Annotation using Subsystem Technology) (Seemann, 2014; Aziz et al., 2008; Overbeek et al., 2014). A anotação funcional foi realizada utilizando os softwares Protein ANNotation with Z-score - PANNZER (Koskinen et al., 2015), Blast2GO (Conesa et al., 2005) e anotação manual via Blastp de genes de promoção de crescimento relatados na literatura. Anotações funcionais adicionais com as bases de dados biológicos COG (Cluster of Ortholog Groups) e KO (KEGG Orthology) foram realizadas agrupando os genes em grupos ortólogos e categorias funcionais, utilizando o programa eggNOG e BlastKOALA (Huerta-Cepas et al., 2017). Para todos os softwares, nenhum dos parâmetros padrão foram alterados.

4.3. ANÁLISE FILOGENÉTICA DAS CEPAS B116 E B119

A análise filogenética foi realizada com base em sequências concatenadas de vinte e seis genes (Liu et al., 2013; Liu et al., 2015; Fan et al., 2017; Bóka et al., 2019) (Tabela 2) recuperados de vinte e três sequências genômicas de *Bacillus* extraídas do banco de dados NCBI (Tabela S1) e das cepas das bactérias B116 e B119 utilizadas neste estudo. O alinhamento foi realizado utilizando o programa ClustalW e as árvores filogenéticas foram construídas usando o software MEGA X (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) (Kumar et al., 2018) com um método de máxima verossimilhança baseado na distância (ML) calculada pelo modelo GTR (General Time Reversible) com distribuição gama discreta (GD) e 500 *bootstraps*, conforme direcionado pelo software JModelTest (Posada, 2008). Utilizou-se *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 (GenBank: AE004091.2) como grupo externo.

Tabela 2. Lista de genes utilizados na análise filogenética.

Gene	Descrição
<i>acsA</i>	Acetyl-CoA synthetase (EC 6.2.1.1)
<i>argS</i>	Arginyl-tRNA synthetase (EC 6.1.1.19)
<i>ccpA</i>	Catabolite control protein A
<i>deoD</i>	Purine nucleoside phosphorylase (EC 2.4.2.1)
<i>dnaJ</i>	Chaperone protein DnaJ
<i>fumC</i>	Fumarate hydratase class II (EC 4.2.1.2)
<i>guaA</i>	GMP synthase [glutamine-hydrolyzing] (EC 6.3.5.2)
<i>gyrA</i>	DNA gyrase subunit A (EC 5.99.1.3)
<i>gyrB</i>	DNA gyrase subunit B (EC 5.99.1.3)
<i>ilvD</i>	Dihydroxy-acid dehydratase (EC 4.2.1.9)
<i>leuS</i>	Leucyl-tRNA synthetase (EC 6.1.1.4)
<i>lon/lona</i>	ATP-dependent protease La (EC 3.4.21.53) Type I
<i>lonB</i>	ATP-dependent protease La (EC 3.4.21.53) LonB Type I
<i>metG</i>	Methionyl-tRNA synthetase (EC 6.1.1.10)
<i>mutL</i>	DNA mismatch repair protein MutL
<i>mutS</i>	DNA mismatch repair protein MutS
<i>Nth</i>	Endonuclease III (EC 4.2.99.18)
<i>Pgi</i>	Glucose-6-phosphate isomerase (EC 5.3.1.9)
<i>polA</i>	DNA polymerase I (EC 2.7.7.7)
<i>pura</i>	Adenylosuccinate synthetase (EC 6.3.4.4)
<i>pyc/pycA</i>	Pyruvate carboxylase (EC 6.4.1.1)
<i>pyrE</i>	Orotate phosphoribosyltransferase (EC 2.4.2.10)
<i>recA</i>	RecA protein
<i>rpoB</i>	DNA-directed RNA polymerase beta subunit (EC 2.7.7.6)
<i>secA</i>	Protein translocase subunit SecA
<i>trpB</i>	Tryptophan synthase beta chain (EC 4.2.1.20)

4.4. CARACTERIZAÇÃO DA CAPACIDADE DE PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE PLANTAS DAS CEPAS DE *Bacillus*

4.4.1. Avaliação da citotoxicidade

As duas cepas de *Bacillus* foram crescidas em meio LB sólido e incubadas à 29 °C por 72 horas. Após este período, as células foram ressuspensas em tubos tipo Falcon contendo 10 mL de água deionizada autoclavada. As duas cepas de *Bacillus* foram verificadas quanto à presença do complexo esporo-cristal por microscopia de contraste de fase (MCF) em objetiva de 100x. Um bioensaio foi realizada para a cepa que apresentou o complexo esporo-cristal.

Lagartas *Spodoptera frugiperda*, fornecidas pelo Laboratório de Controle Biológico da Embrapa Milho e Sorgo, foram criados com dieta artificial modificada de Greene et al. (1976) e mantidas individualmente em placas de 128 células, cada um contendo 1 mL de dieta artificial. Foi aplicado superficialmente 50 µl de suspensão de *Bacillus* contendo esporos e cristais. Três repetições com 32 larvas/repetição foram utilizadas e a mortalidade avaliada após três dias de alimentação contínua. Como controle dos ensaios, utilizou-se água deionizada autoclavada e as placas foram acondicionadas a 26 ± 2 °C. É considerado como tóxica a bactéria que causa mortalidade acima de 70%.

4.4.2. Avaliação qualitativa da produção de biofilme

A capacidade de formação de biofilme foi avaliada pelo método proposto por Stepanović et al. (2007) com modificações. Inicialmente, 2 µL de cultura bacteriana (10^8 UFC mL⁻¹; OD_{540nm} = 1,0) foram inoculados em 200 µL de meio de cultivo TSB com 1% (m/v) de glicose em microplaca de poliestireno em triplicata, com inclusão de um controle (branco) contendo apenas o meio de cultura. As amostras foram incubadas a 30 °C por 48 h. Após o período de incubação, o líquido foi removido por inversão, cada poço foi lavado três vezes com 200 µL de água deionizada e, posteriormente, a placa foi vertida sobre papel absorvente. Em seguida, foram adicionados 200 µL de metanol em cada amostra para fixação do biofilme, seguido de incubação à temperatura ambiente por 20 min. Posteriormente, o metanol foi descartado e a placa seca à temperatura ambiente. Então, foram adicionados 200 µL de solução de cristal violeta 0,5% (m/v) e as amostras incubadas por 15 min. Após remoção da solução por inversão, a placa foi lavada com água deionizada corrente e incubada à temperatura ambiente até secagem. Por fim, foram adicionados 200 µL de etanol absoluto, as amostras incubadas por 30 min e realizada a leitura em espectrofotômetro UV/VIS (FLUOstar Omega, BMG LABTECH, Alemanha) a 570 nm. Foram consideradas produtoras de biofilme as bactérias capazes de reter a coloração violeta, sendo que o valor da densidade óptica de cada amostra (DO_a) foi obtido pela média aritmética da absorbância dos três poços e esse valor foi comparado com a média da absorbância dos controles (DO_c). Para determinar o grau de formação de biofilme, foi utilizada a seguinte classificação: não formadora de biofilme (DO_a ≤ DO_c),

fracamente formadora de biofilme ($DO_c \leq DO_a \leq 2.DO_c$), moderadamente formadora de biofilme ($2.DO_c < DO_a \leq 4.DO_c$) e fortemente formadora de biofilme ($4.DO_c < DO_a$).

4.4.3. Avaliação qualitativa da produção de exopolissacarídeos (EPS)

A avaliação da capacidade de produção de EPS pelas cepas bacterianas foi realizada de acordo com Paulo et al. (2012). Discos de 5 mm de diâmetro de papel filtro (Whatman 42) esterilizados foram transferidos para meio de cultura (Guimarães et al., 1999) e inoculados com 5 μ L da cultura de cada isolado bacteriano crescido em meio TSB. As placas foram incubadas a 30°C por 24 h e a produção de EPS foi avaliada pela ausência ou presença de colônia mucosa ao redor dos discos. A confirmação da produção de EPS foi realizada por meio da mistura de uma alça de platina impregnada com uma colônia em 2 mL de etanol absoluto, sendo considerada a formação de precipitado como resultado positivo e a presença de turbidez como resultado negativo.

4.4.4. Avaliação qualitativa da produção de sideróforos

Para avaliação da produção de sideróforos, as cepas bacterianas foram inoculadas, em triplicata, em placas de Petri contendo meio ágar nutriente e incubadas a 30 °C por 16 h. Em seguida, cada placa recebeu uma fina camada do meio Overlay-CAS (Schwyn e Neilands, 1987), seguido de incubação a 25 °C por 4 dias. Foram considerados produtores de sideróforos os microrganismos capazes de promover mudança de coloração no meio de cultura.

4.4.5. Avaliação quantitativa da produção de sideróforos

Os ensaios de quantificação de sideróforos foram realizados em microplaca estéril, em que 10 μ L de cada suspensão bacteriana padronizada ($OD_{540nm} = 1.0$) foram inoculados em triplicata em 1 mL de meio de cultura LB. As placas foram incubadas por 72 h à 28 °C, sob agitação de 200 rpm. Em seguida, as amostras foram tratadas de acordo com o protocolo descrito por Arora e Verma (2017). Posteriormente, foi realizada a leitura da absorbância do sobrenadante das amostras em espectrofotômetro LAMBDA Bio (Perkin Elmer, Foster City, CA, USA) a 630 nm e a quantidade de sideróforos foi estimada pela fórmula abaixo (Eq. 1).

$$\text{Produção de Sideróforo (\%)} = \frac{A_r - A_s \times 100}{A_s} \quad (1)$$

Onde A_r = absorvância de referência (solução CAS e meio não inoculado) e A_s = absorvância da amostra (solução CAS e sobrenadante de amostra livre de células).

4.4.6. Avaliação do potencial de fixação de nitrogênio

As cepas bacterianas foram avaliadas quanto à capacidade de fixação de nitrogênio atmosférico em meio de cultura semissólido livre de nitrogênio em triplicata (Döbereiner, 1989). Tubos contendo 3 mL de meio NFb semissólido foram inoculados em triplicata com 10 μ L de cultura bacteriana (10^8 UFC mL⁻¹; OD_{540nm} = 1,0). Após 5 dias de incubação a 30 °C, foram consideradas fixadoras de nitrogênio as bactérias que apresentaram uma película visível de crescimento abaixo da superfície do meio com mudança de coloração do meio de verde para azul. A bactéria *A. brasilense* cepa 1626 foi utilizada como controle positivo, enquanto o controle negativo constituiu-se do meio de cultivo sem inóculo.

4.4.7. Solubilização de fosfato de cálcio

As cepas bacterianas foram padronizadas (10^8 UFC mL⁻¹; OD_{540nm} = 1,0) e inoculadas em meio de cultivo NBRIP, descrito por Nautiyal (1999) com modificações (4 % de glicose; 0,5 % de Ca₃(PO₄)₂; 0,5 % de MgCl₂.6H₂O; 0,02 % de KCl; 0,025 % de MgSO₄.7H₂O; 0,015 % de (NH₄)₂SO₄). O pH foi ajustado para 7 antes da adição do fosfato tricálcio (Ca-P). O controle positivo utilizado foi *Pseudomonas aeruginosa* cepa BRM 046308 (Genbank MK461572.1), enquanto o controle negativo constituiu-se do meio de cultivo sem inóculo.

Para a dosagem do fósforo solúvel (P), a cultura foi centrifugada a 4000 rpm por 15 min, o sobrenadante foi filtrado (filtro Whatman 42) e 500 μ L foram transferidos para novo recipiente, com 5 mL de água deionizada e 1 mL da mistura de reagentes para dosar o P pelo método de azul de molibdênio (Murphy e Riley, 1962). Após 20 min de incubação, o P solúvel foi quantificado por colorimetria a 880 nm. A curva padrão foi construída a partir de diferentes concentrações de KH₂PO₄, de 0 mg L⁻¹ a 14 mg L⁻¹ de P.

4.4.8. Avaliação da produção de fosfatases ácida e alcalina

As cepas bacterianas foram cultivadas em meio TSB por 48 horas e uma alíquota de 150 μL na concentração de $10^8 \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($\text{OD}_{540\text{nm}} = 1,0$) foi inoculada, em triplicata, em 15 mL de meio de cultivo NIBRIP pH 7,0, conforme descrito acima, seguida da incubação a 30 °C e 150 rpm. O controle positivo utilizado foi *Pseudomonas aeruginosa* cepa BRM 046308 (Genbank MK461572.1), enquanto o controle negativo constituiu-se do meio de cultivo sem inóculo. Após 24, 48, 72 e 96 horas de incubação, os tubos foram centrifugados a 4000 rpm por 15 minutos e 150 μL do sobrenadante foram transferidos para tubos tipo Eppendorf de 2,0 mL. Em seguida, as amostras foram tratadas de acordo com o protocolo descrito por Tabatabai (1994). A curva padrão foi preparada a partir da solução de *p*-nitrofenol (pNP) na faixa de concentração de 0 a 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Posteriormente, foi realizada a leitura do sobrenadante em espectrofotômetro LAMBDA Bio (Perkin Elmer, Foster City, CA, USA) utilizando a absorvância a 400 nm.

4.4.9. Avaliação quantitativa da produção de ácido indol-acético (AIA)

A produção de AIA foi determinada pelo método colorimétrico descrito por Patten e Glick (1996) com modificações. Foi adicionado 1 mL de meio TSB suplementado com DL-triptofano na concentração de 1,0 g L⁻¹ na placa Deep Well estéril seguido de inoculação com 5 μL da cultura bacteriana ($10^8 \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$; $\text{OD}_{540\text{nm}} = 1,0$). A placa foi incubada a 30 °C no escuro, a 100 rpm por 120 horas. Decorrido o tempo, a placa foi centrifugada a 4000 rpm por 15 minutos e 100 μL do sobrenadante foram misturados com 100 μL do reagente Salkowski (49 mL de ácido perclórico a 35% (v/v) e 1 mL de FeCl_3 0,5 M), seguido de incubação por 20 minutos no escuro. A concentração de AIA foi estimada por meio da leitura da OD a 540 nm em espectrofotômetro UV/VIS (FLUOstar Omega, BMG LABTECH, Alemanha). Os experimentos foram realizados em triplicata e o resultado positivo foi evidenciado pela formação da coloração rósea. A concentração de AIA no meio de cultura foi determinada pela comparação com a curva padrão feita a partir de AIA comercial nas concentrações 0; 10; 20; 40; 80 e 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

4.4.10. Avaliação da tolerância ao estresse hídrico

As duas cepas de *Bacillus* foram inoculadas em meio de cultura ágar triptona soja (TSA) 10% (m/v) suplementado com sorbitol 405 g L⁻¹ a 30°C por 72 h, produzindo valor de atividade de água (Aw) equivalente a 0,919 afim de avaliar o crescimento das cepas em meio com atividade reduzida de água.

4.5. AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DAS PLÂNTULAS DE MILHO INOCULADAS COM CEPAS BACTERIANAS SOB ESTRESSE HÍDRICO COM PEG 6000

O experimento foi conduzido em Câmara de Crescimento da Embrapa Milho e Sorgo. Sementes da linhagem de milho L521236 fornecidas pelo Programa de Melhoramento da Embrapa Milho e Sorgo foram tratadas superficialmente com hipoclorito de sódio 0,5% (v/v) por cinco minutos sob agitação de 150 rpm, lavadas e embebidas durante quatro horas em água deionizada estéril e germinadas em rolos de papel de germinação. Após três dias, plântulas uniformes foram transplantadas para um sistema composto por bandejas com oito litros de solução nutritiva Hoagland meia força pH 5,65 (Liu et al., 1998) e mantidas em aclimação por sete dias. Após a aclimação, as raízes das plântulas foram imersas em suspensão bacteriana (10⁷ UFC.mL⁻¹ - conforme item 4.6.1) por 6 h à temperatura ambiente, com agitação manual a cada hora a fim de aumentar o contato das raízes com as bactérias. Após o período de incubação, o excesso de inóculo foi descartado e as plântulas foram colocadas em solução nutritiva Hoagland meia força pH 5,65 por mais sete dias, sendo a solução nutritiva trocada a cada três dias. As plantas controle sem inoculação foram incubadas em solução salina 0,85% e cultivadas como descrito para as plantas inoculadas (de Sousa et al., 2016). Após esse período, as plântulas foram transplantadas para solução nutritiva com 10% (m/v) de polietilenoglicol 6000 (PEG), com potencial osmótico de -0,15 MPa, onde permaneceram por três dias para a indução do estresse. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com três repetições com quatro plantas cada.

Posteriormente, o teor de clorofila foi mensurado pelo equipamento portátil SPAD-502 (KONICA MINOLTA, Japão), cuja leitura foi realizada do terço superior da folha em bom estado fitossanitário, em triplicata. O sistema radicular foi fotografado com uma câmera digital (Nikon D300S SRL) e analisado com os softwares Root

Reader 2D e WinRhizo v. 4.0 (Regent Systems, Quebec Canadá), sendo quantificadas: (AS) área de superfície radicular total (cm²); (AS1) área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 e 1 mm (raízes super finas); (AS2) 1 e 2 mm (raízes finas); (AS3) maior do que 2 mm (raízes grossas); (V) volume radicular total (cm³); (V1) volume de raízes superfinas; (V2) finas e (V3) grossas (de Sousa et al., 2012). As raízes e a parte aérea das plantas foram mantidas separadamente em estufa a 65 °C até atingirem peso constante, para determinação do (PSR) peso seco de raízes (g) e de (PSPA) parte aérea (g), que compuseram o (PST) peso seco total (g).

4.6. AVALIAÇÃO DO EFEITO DOS INOCULANTES NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE 21 GENÓTIPOS DE MILHO EM SOLUÇÃO NUTRITIVA

4.6.1. Crescimento dos inóculos bacterianos

As duas cepas de *Bacillus* (B119 e B116) da Coleção de Microrganismos Multifuncionais e Fitopatogênicos da Embrapa Milho e Sorgo foram inoculadas em TSB a 30 °C e 120 rpm por três dias. Após o período de incubação, as culturas foram centrifugadas por 10 minutos a 8000 rpm. A suspensão bacteriana foi ajustada à absorbância de aproximadamente 1,0 em comprimento de onda de 540 nm, com a finalidade de obter-se aproximadamente 10⁸ unidades formadoras de colônias (UFC) mL⁻¹. Posteriormente as células foram ressuspensas em 2,0 L de solução salina 0,85% (m/v) obtendo-se a concentração final de 10⁷ UFC mL⁻¹.

4.6.2. Crescimento das plântulas de milho inoculadas com cepas bacterianas em solução nutritiva

Sementes de milho (Tabela 3) fornecidas pelo programa de melhoramento da Embrapa Milho e Sorgo e uma testemunha (DKB390) foram tratadas conforme descrito no procedimento experimental 4.5. com modificações. Após o período de incubação, o excesso de inóculo foi descartado e as plântulas foram colocadas em solução nutritiva Hoagland meia força pH 5,65 por mais dez dias, sendo a solução nutritiva trocada a cada três dias. Dez dias após a inoculação, o sistema radicular foi separado da parte aérea, fotografado e analisado pelos mesmos softwares, sendo quantificadas as características de (C) comprimento radicular total (cm); (D) diâmetro

médio da raiz (mm); AS; AS1; AS2 e AS3 (de Sousa et al., 2012). Além disso, também foram obtidos o PSR, PSPA e PST. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com três repetições com cinco plantas cada.

Tabela 3. Genótipos de milho utilizados no experimento em Câmara de Crescimento.

Classificação	Genótipos	Tipo
Tolerantes à seca	DKB390	Híbrido Simples
	BRS1055	Híbrido Simples
Sensíveis à seca	BRS1010	Híbrido Simples
	BRS1030	Híbrido Simples
	BRS1040	Híbrido Simples
Híbridos comerciais	BRS3046	Híbrido Triplo
	BRS3042	Híbrido Triplo
	BRS2022	Híbrido Duplo
	BRS3035	Híbrido Triplo
	BRS1060	Híbrido Simples
Híbridos experimentais	1M1752	Híbrido Simples
	1N1958	Híbrido Simples
	1N1906	Híbrido Simples
	1O2112	Híbrido Simples
	1O2073	Híbrido Simples
	1O2008	Híbrido Simples
	1O2018	Híbrido Simples
	1P2224	Híbrido Simples
	1P2227	Híbrido Simples
1O2106	Híbrido Simples	
Linhagem	L521236	Linhagem

4.7. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os resultados obtidos em todos os testes de caracterização *in vitro* das duas cepas de *Bacillus* e o experimento de avaliação do crescimento das plântulas de milho inoculadas com estas cepas sob estresse hídrico com PEG 6000 foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo programa computacional SISVAR versão 5.4 (Ferreira, 2011). A comparação das médias dos tratamentos foi realizada pelo teste F de Tukey a 5% de significância.

No experimento de avaliação da promoção de crescimento em 21 genótipos de milho, para ajustar o modelo fixo (Eq. 2) foi utilizado a função lm do pacote básico do software estatístico R (<https://www.r-project.org/>) e para obter as médias e

comparações de médias marginais estimadas (EMMs), utilizou-se o pacote emmeans (Lenth, 2019) do mesmo software.

$$y_{ijkl} = \mu + E_j + T_t + G_i + GT_{it} + \varepsilon_{ijkl} \quad (2)$$

Onde, y_{ijkl} é o fenótipo do indivíduo i ($i = 1 \dots 21$), no experimento j ($j = 1, 2, 3, 4$), de k repetições ($k = 1, 2, 3$) e t tratamentos ($t = 1, 2, 3$); μ é a média geral; E_j é o efeito fixo do experimento j ; T_t é o efeito fixo do tratamento t ; G_i é o efeito fixo do genótipo i ; GT_{it} é o efeito fixo da interação entre genótipos e tratamentos; e ε_{ijkl} é o erro experimental, para o qual assumiu-se distribuição normal com média zero e variância σ_e^2 . Todas as diferenças entre as médias ajustadas dos tratamentos foram comparadas para cada característica utilizando o teste de Tukey com nível de significância 10% do pacote emmeans (Lenth, 2019). Além disso, foi realizada uma análise de componentes principais (PCA) relacionando a classificação dos genótipos de milho (linhagem, híbridos simples, duplos e triplos) com as diferentes inoculações utilizando o pacote pcaMethods (Stacklies et al., 2007) do software R.

5. RESULTADOS

5.1. ANÁLISE DO GENOMA PARCIAL DAS CEPAS B116 E B119

Os genomas das cepas de *Bacillus* B116 e B119 sequenciados na plataforma Illumina HiSeq 4000 (Illumina, San Diego, CA, EUA) geraram um total de 8.468.690 e 8.468.550 reads, respectivamente, com um comprimento médio de 150 pb. Todas as reads foram montadas para um genoma inicial de 5.589.230pb com cobertura de 205 vezes para a B116 e um genoma inicial de 6.163.453pb com cobertura de 186 vezes para a B119, usando o SOAPdenovo v1.05. As características dos genomas sequenciados neste estudo estão resumidas na Tabela 4.

Tabela 4. Características gerais dos genomas das cepas de *Bacillus* B116 e B119.

Características Gerais	B116	B119
Contigs	50 (5587976 pb)	104 (6160258 pb)
Contigs N50 (pb)	304560	418902
Scaffolds	32 (5589230 pb)	60 (6163453 pb)
Scaffolds N50 (pb)	687735	708612
Tamanho do genoma (Mpb)	5,03	6,52
Conteúdo GC (%)	35,14	37,27
CDS	5662	6327
Genes com função atribuída	4153	4855
Genes sem função atribuída	1509	1472
RNA	74	61

O conteúdo de G + C foi de 35,14% para B116 e 37,27% para a B119. Após a previsão e anotação de CDS (coding sequence) utilizando os softwares PROKKA, BLAST2GO, PANNZER e RAST, foram obtidos 5662 e 6327 CDS para B116 e B119, respectivamente. Destes, 4153 e 4855 genes putativos com funções atribuídas foram detectados, respectivamente, sendo que os 20 termos GO (Gene Ontology) mais representativos no nível quatro para as três classes (função molecular, componente celular e processo biológico) estão representadas na Figura 3.

Os termos GO relacionados à categoria de componentes celulares mais representativos foram citoplasma, parte citoplasmática, componente integral da membrana e organela delimitada por membrana intracelular, sendo observado maiores quantidade de sequências relacionados a esses termos no genoma da cepa B119. Verificou-se diferença entre os 20 termos mais representados, em que para a

cepa B116 aparece o termo relacionado à vesícula intracelular e para a cepa B119 o termo relacionado ao retículo endoplasmático. Por outro lado, constatou-se que não há nenhuma diferença significativa nos termos GO relacionados à categoria de funções moleculares. Já, na categoria de processos biológicos, observou-se que para a cepa B116 o termo processo catabólico de substância orgânica esteve entre os 20 termos mais bem representados, enquanto que para a B119 foi o termo processo metabólico de proteínas. Nesta categoria, notou-se a presença de alguns termos GO referentes à mecanismos de promoção de crescimento, tais como os relacionados à processos metabólicos e de biossíntese de nitrogênio, de fósforo e de substâncias orgânicas.

Além disso, notou-se maior quantidade de sequências relacionadas ao metabolismo de fósforo no genoma da cepa B116 e maior quantidade de sequências relacionadas ao metabolismo de nitrogênio no genoma da cepa B119. A categorização funcional realizada no eggNOG, mostrou um número semelhante de CDS nos dois genomas, considerando as diferentes categorias funcionais (Figura 4). As categorias funcionais de metabolismo apresentaram maior número de CDS, como as relacionadas ao transporte e metabolismo de carboidratos, aminoácidos, íons inorgânicos e derivados. Embora os genomas dessas duas bactérias tenham um perfil funcional muito semelhante, existem algumas características únicas em cada um deles, sendo 2016 proteínas únicas para a B116 e 2681 para a B119 (Figura 2).



Figura 2. Diagrama de Venn com o número total de genes sequenciados das cepas de *Bacillus* B116 e B119.

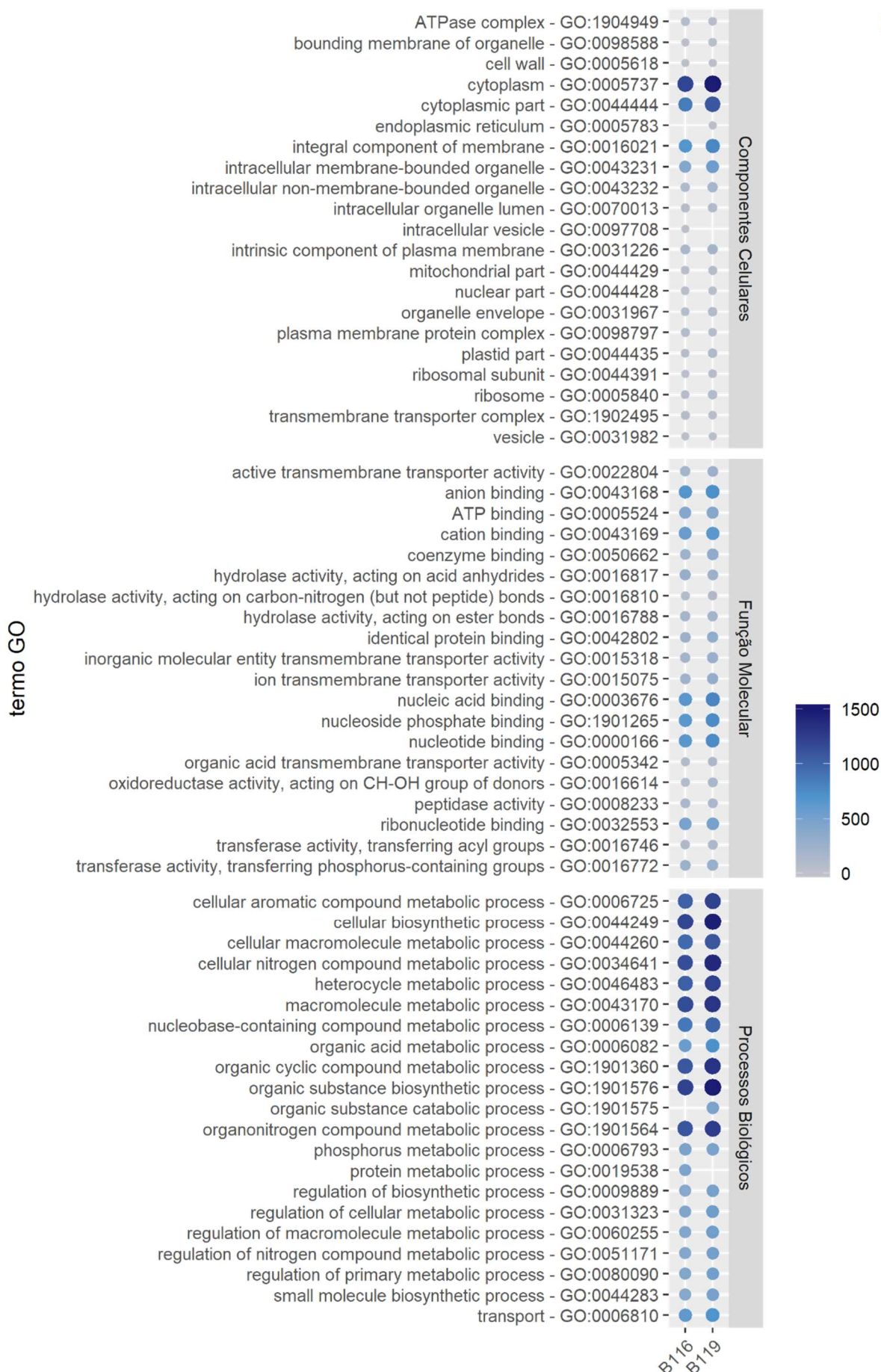
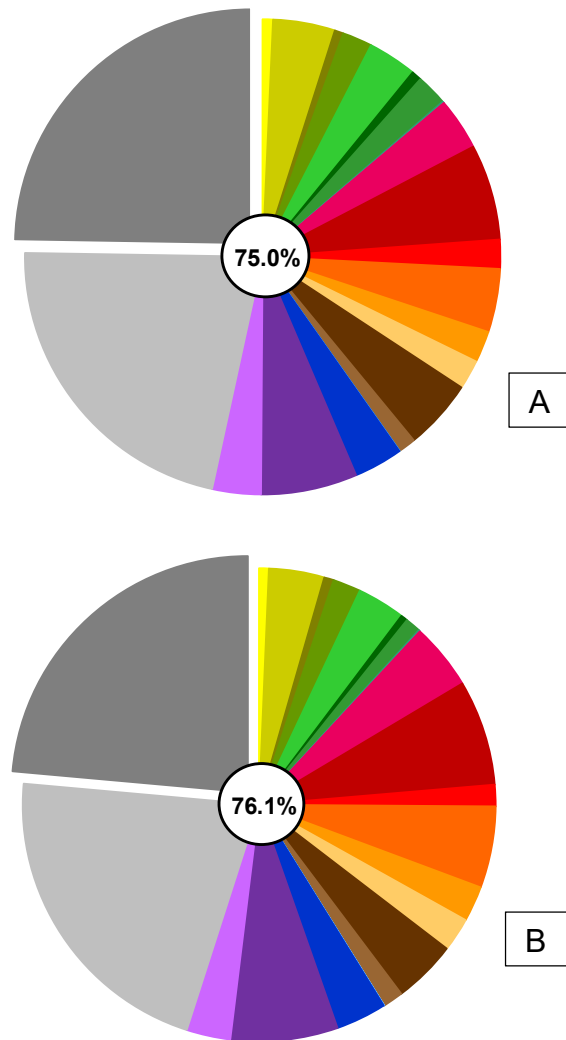


Figura 3. Categorização dos processos biológicos presentes nas duas cepas de *Bacillus* B116 e B119. Quanto maior e mais escuro o círculo, maior a quantidade de seqüências encontradas representando determinado termo GO (Gene Ontology).



PROCESSOS CELULARES E SINALIZAÇÃO

D Controle do ciclo celular, divisão celular, partição de cromossomos	U Tráfego intracelular, secreção e transporte vesicular
M Parede celular/membrana/ biogênese envelope	V Mecanismos de defesa
N Motilidade celular	W Estruturas extracelulares
O Modificação pós-traducional, turnover de proteínas e chaperonas	Z Citoesqueleto
T Mecanismos de transdução de sinal	

METABOLISMO

C Produção e conversão de energia	H Transporte e metabolismo de coenzima
E Transporte e metabolismo de aminoácidos	I Transporte e metabolismo lipídico
F Transporte e metabolismo de nucleotídeos	P Transporte e metabolismo de íons inorgânicos
G Transporte e metabolismo de carboidratos	Q Biossíntese, transporte e catabolismo de metabólitos secundários

PROCESSOS CELULARES E SINALIZAÇÃO

A Processamento e modificação de RNA	K Transcrição
B Estrutura e dinâmica da cromatina	L Mecanismos de defesa
J Replicação, recombinação e reparo	

POUCO CARACTERIZADOS

S Função desconhecida	X Não possui COGs
------------------------------	--------------------------

Figura 4. Classificação funcional de genes codificadores das proteínas das cepas B116 (A) e B119 (B). Distribuição das sequências de codificação (75,0% e 76,1%) nas classes funcionais COG. Os genes que não possuíam nenhuma anotação de COG inferida foram atribuídos à categoria X.

Foram identificados genes relacionados as vias metabólicas de AIA (Tabela S2), solubilização de fosfato (Tabela S3), produção de ácidos orgânicos (Tabela S4), fixação de nitrogênio (Tabela S5), síntese de sideróforos (Tabela S6), produção de exopolissacarídeos e formação de biofilme (Tabela S7), síntese de acetoina, 2,3-butanodiol, cianeto de hidrogênio (Tabela S8), motilidade e quimiotaxia (Tabela S9), tolerância ao estresse oxidativo (Tabela S10) e osmótico (Tabela S11, Tabela S12) e a capacidade de degradar compostos tóxicos (Tabela S13, Tabela S14) no genoma de ambas bactérias.

Genes presentes em três vias propostas para a biossíntese do AIA, sendo elas triptamina (TAM), indole-3-acetamida (IAM) e ácido indol-3-pirúvico (IPA), foram encontrados na cepa B116. Para a cepa B119, foram encontrados os genes que codificam a aldeído desidrogenase, amidase e a AIA acetiltransferase, os quais pertencem às vias indole-3-acetamida (IAM) e a oxidase da cadeia lateral do triptofano (TSO) (Figura 5). Em ambos os genomas, o cluster para biossíntese do triptofano (*trpA-G*), o qual é precursor para produção dessa auxina, está presente.

Além disso, em ambos os genomas, foram encontradas características relacionadas à absorção de ferro como receptores, sistema de transporte e produção de sideróforos. Genes relacionados aos sideróforos do tipo petrobactina, rizobactina e bacilibactina foram encontrados em ambos genomas, enquanto genes relacionados à produção de sideróforo enterobactina e antraquelina foi encontrado apenas na cepa B116.

Outra função importante encontrada em ambos os genomas foram os mecanismos de defesa contra patógenos, entre eles, genes relacionados à resistência e transporte de antibióticos, tais como tetraciclina, rifampicina, eritromicina, virginiamicina, cloranfenicol, beta-lactamase, lincosamida e estreptogramina A para ambas estirpes, além de vancomicina para a B116 e estreptomicina para a B119, bomba de efluxo e expressão de hemolisina e enterotoxina (virulência), sendo esta última presente apenas na cepa B116. Genes relacionados a compostos metabólicos com atividade antifúngica como o cluster de genes *hcnABC* e à atividade da quitinase, a qual degrada a parede fúngica e os exoesqueletos de insetos, também foram encontrados apenas no genoma da cepa B116.

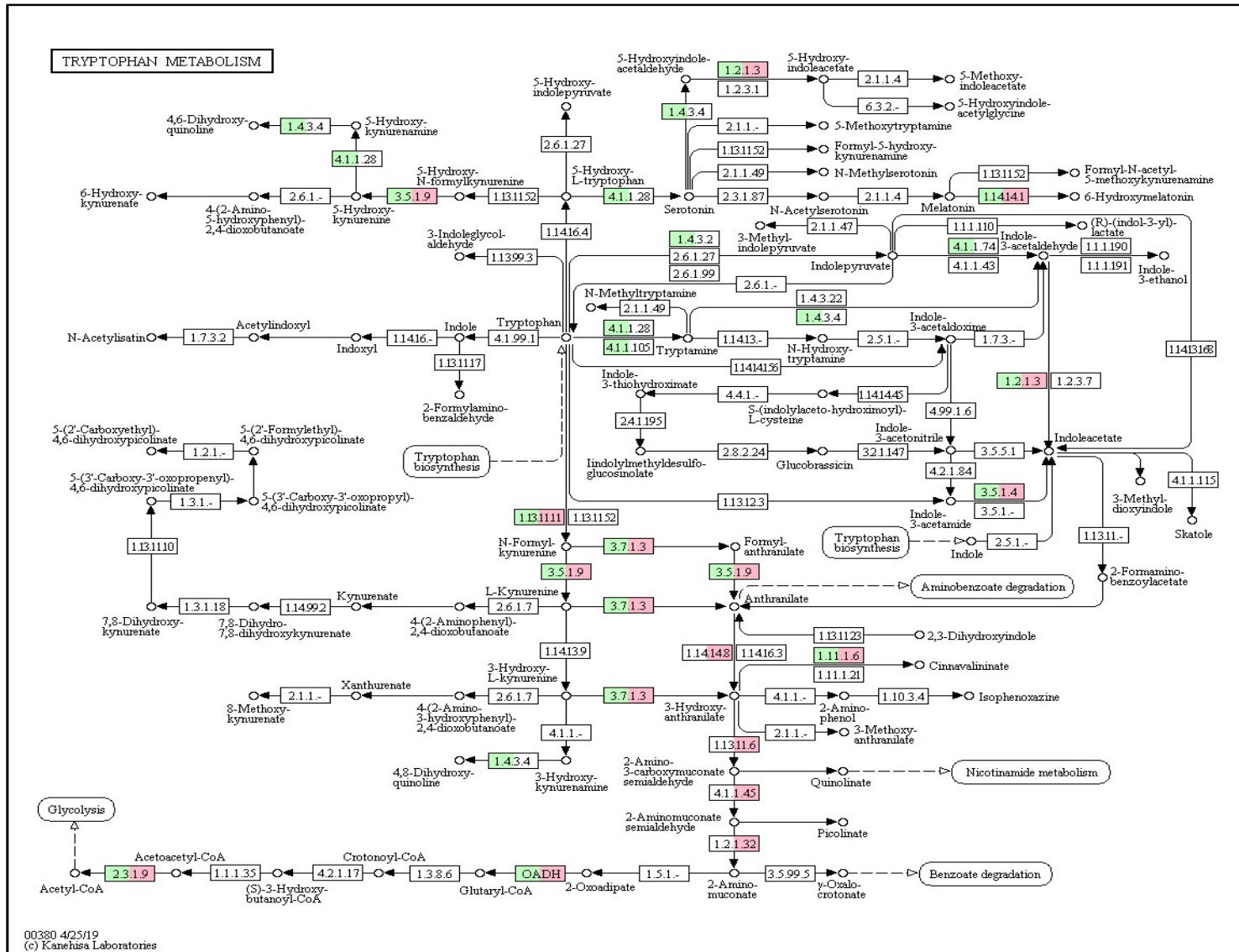


Figura 5. Mapa Metabólico da via de metabolismo de triptofano, em que a presença do gene na cepa de *Bacillus* B116 está representada em verde e na cepa B119 está representada em rosa.

No genoma de ambas as cepas de *Bacillus* sequenciadas, também estão presentes genes que estão provavelmente envolvidos na resistência/mobilização de cobre (Cu), cádmio (Cd), zinco (Zn), cobalto (Co), Chumbo (Pb) e arsênio (As). Um operon de resistência ao cobre incluindo uma proteína de transporte do tipo P (CopA) (EC 7.2.2.8), proteínas de resistência ao cobre PcoCD e um transportador de proteínas de cobre *ycnJ* envolvido na homeostase desse metal está presente em ambos genomas. Observou-se também que esses genomas codificam um operon de resistência ao arsênio/arsenato e reguladores transcricionais de absorção de ferro e zinco. Além disso, os genomas das cepas também apresentaram genes de resistência ao herbicida glufosinato de amônio, o qual codifica a enzima fosfotricina acetiltransferase (PAT).

Também estão presentes no genoma das duas cepas de *Bacillus*, os sistemas de secreção tipo II, tipo III e tipo IVa (Tabela S15); genes de síntese de compostos orgânicos voláteis (COV) que auxiliam na promoção de crescimento vegetal, como acetoína e 2,3-butanodiol; genes de resistência aos estresses oxidativo, como superóxidos dismutase, catalases, glutaredoxina, peroxidases; e osmótico, como genes associados ao antiporte Na^+/H^+ , transportadores de betaina, trealose, prolina e glicina, além de sistemas de transporte osmoprotetor de proteína de ligação ao ATP. Além disso, um provável gene referente à aquaporina Z, diretamente envolvida em respostas a estresses osmóticos, está presente no genoma da cepa B116. Por outro lado, apenas a cepa B119 possui em seu genoma os genes do operon de exopolissacarídeo *epsA-P*, enquanto que na B116 foram identificadas apenas as proteínas de biossíntese de polissacarídeos EpsC (*epsC*, *wecB*), EpsD (*wecC*) e EpsP (*epsP*). Todavia, em ambos genomas foram encontrados genes relacionados à formação de biofilmes, tais como o N-acetilglucosaminil difosfoundecaprenol N-acetil-beta-D-manosamina transferase [EC: 2.4.1.187] e o serina O-acetiltransferase [EC: 2.3.1.30].

Em relação ao metabolismo de nitrogênio, foram identificados os genes *nif*UF relacionados à fixação de N_2 , genes ligados à redução assimilatória do nitrato/nitrito e amonificação do nitrato/nitrito no genoma de ambas bactérias. Genes presentes na via de nitrificação e desnitrificação foram encontrados apenas no genoma da B116 (Figura 6).

O principal mecanismo para a solubilização de fosfato (P) em bactérias é a síntese e a secreção do ácido glucônico, a qual requer a enzima glicose

desidrogenase e seu cofator pirroloquinolina (PQQ) (Vessey, 2003). Os genes que codificam a desidrogenase dependente de PQQ e o *pqqE* foram identificados em ambos genomas, apesar dos demais genes do operon *pqqA-F* não terem sido encontrados. Adicionalmente, outros genes relevantes para a solubilização de P, tais como aqueles que codificam a lactato desidrogenase (EC 1.1.1.28), 6-fosfogluconato desidrogenase (EC:1.1.1.44), 2-dehidro-3-desoxi-D-gluconato 5-desidrogenase (EC:1.1.1.127), citrato sintase (EC 2.3.3.1), pirofosfatase inorgânica (EC3.6.1.1), fosfatase alcalina (EC 3.1.3.1), genes envolvidos no transporte e assimilação de fosfato e fosfonato como o operon *pstSCAB*, *pitA* e cluster *phnABCDEFXW*, foram encontrados do genoma das duas cepas.

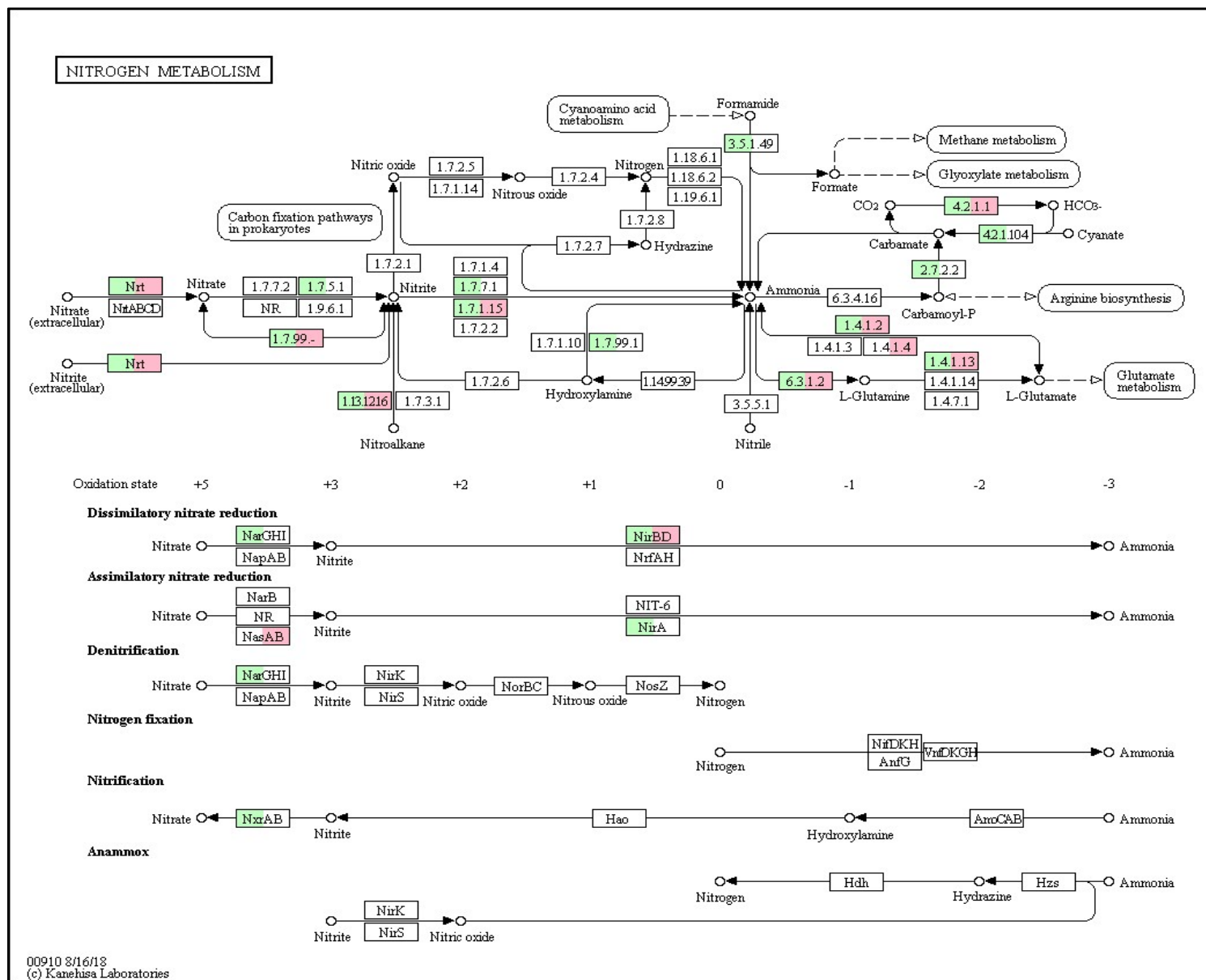


Figura 6. Mapa Metabólico da via de metabolismo do nitrogênio, em que a presença do gene na cepa de *Bacillus* B116 está representada em verde e a cepa B119 está representada em rosa.

A árvore filogenética molecular baseada nos vinte e seis genes concatenados conservados revelou que a cepa B116 agrupou com as espécies de *Bacillus thuringiensis*, enquanto a cepa B119 com *Bacillus megaterium* (Figura 7).

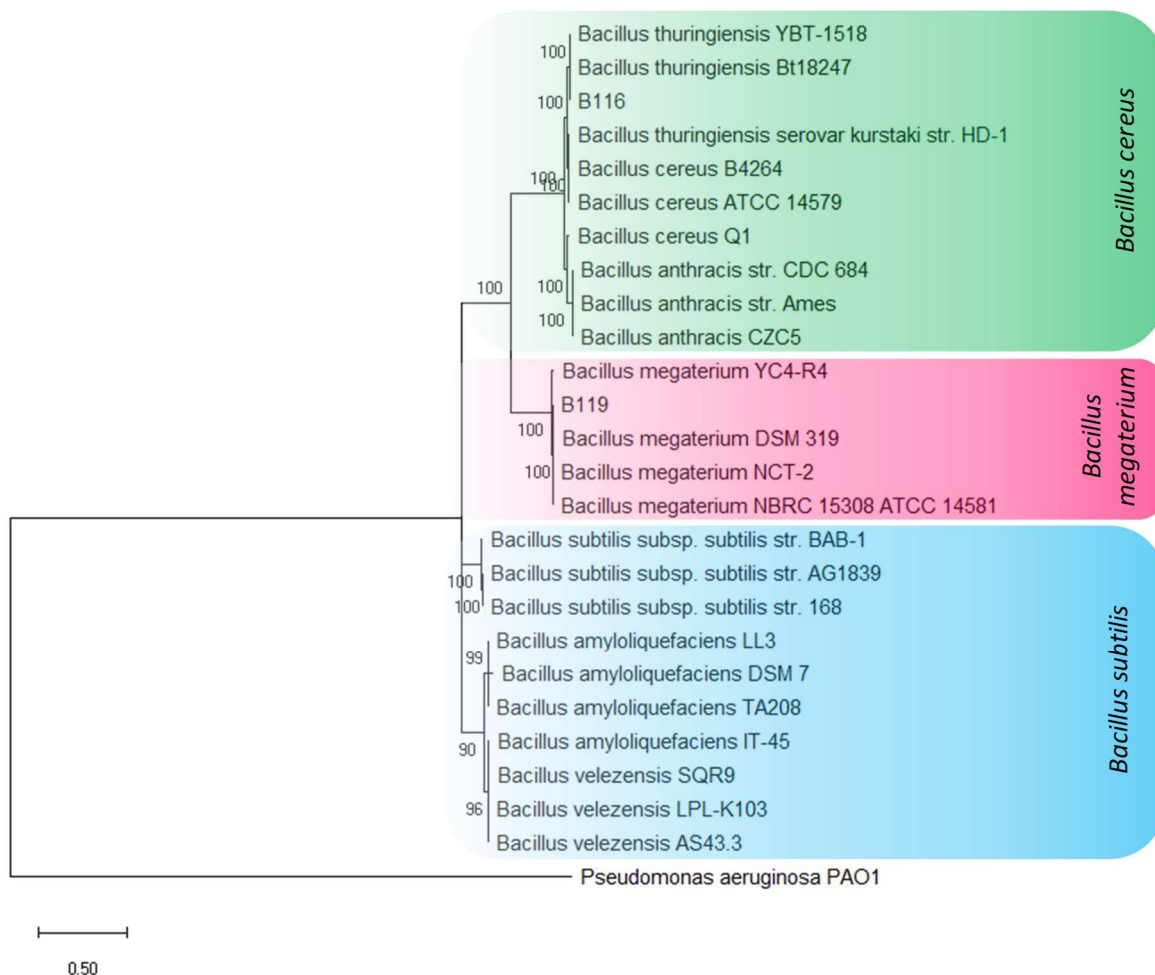


Figura 7. Árvore filogenética baseada em sequências concatenadas de vinte e seis genes (*acsA*, *argS*, *ccpA*, *deoD*, *dnaJ*, *fumC*, *guaA*, *gyrA*, *gyrB*, *ilvD*, *leuS*, *lonA*, *lonB*, *metG*, *mutL*, *mutS*, *nth*, *pgi*, *polA*, *pura*, *pyc*, *pyrE*, *recA*, *rpoB*, *secA* e *trpB*), mostrando a relação filogenética entre membros do gênero *Bacillus*. Esta árvore foi gerada com o software MEGA (1000 bootstraps) sob o modelo GTR selecionado por jModelTest e com distribuição GD.

5.2. MECANISMOS DE PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DAS CEPAS DE *Bacillus*

Foi identificado que apenas a cepa B116 de *Bacillus* possui o complexo esporo-cristal característico de cepas de *B. thuringiensis* (Figura 8), porém ao realizar o bioensaio com lagartas *Spodoptera frugiperda*, observou-se que essa cepa não possui toxicidade para este inseto.

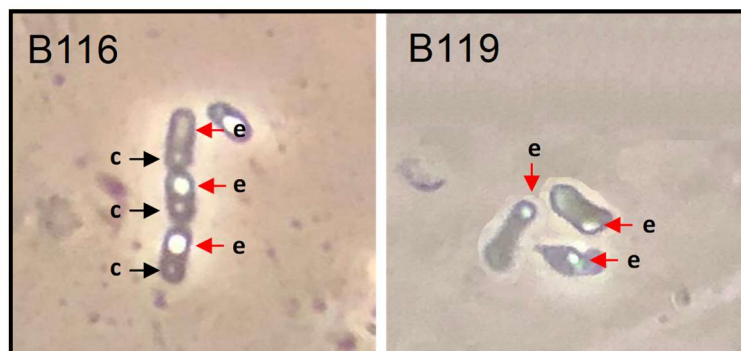


Figura 8. Microscopia de contraste de fase (objetiva 100x) da suspensão de *Bacillus* cepa B116 contendo esporos (e) e cristais proteicos (c) e da cepa B119 apenas com esporos.

Ao realizar a caracterização *in vitro* dos mecanismos de promoção de crescimento de plantas das cepas B116 e B119, observou-se que ambas bactérias fixam nitrogênio em meio semissólido, são eficientes na produção de EPS e na formação de biofilme, produzem sideróforos, AIA e fosfatases, além de solubilizar fosfato inorgânico (Tabela 5). Além disso, observou-se que ambas bactérias foram capazes de crescer em meio de cultura com baixa atividade de água e minimizar os efeitos causados pelo estresse hídrico com PEG (Tabela S16).

Tabela 5. Caracterização *in vitro* das cepas de *Bacillus* B116 e B119 quanto aos mecanismos de promoção de crescimento de plantas.

Característica*	B116	B119
Presença do complexo esporo-cristal	+	-
Citotoxicidade	-	-
Estresse Hídrico	+	+
Produção de EPS	+	++
Produção de Biofilme ¹	+++	++
Fixação Biológica de Nitrogênio	+	+
Produção de Sideróforo ²	+	+
Produção de Sideróforo (%)	49,3 ^A	53,3 ^A
Produção de AIA ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	49,54 ^B	61,67 ^A
Produção de Fosfatase Ácida ($\mu\text{g pNP mL}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	69,67 ^A	45,54 ^B
Produção de Fosfatase Alcalina ($\mu\text{g pNP mL}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	64,91 ^A	57,99 ^A
Solubilização de Fosfato Tricálcio (mg L^{-1})	931,22 ^A	925,53 ^A

* Os sinais positivo (+) e negativo (-) significam resultado positivo e negativo para cada característica de promoção de crescimento da planta avaliada.

¹ +++ - Fortemente formadora de biofilme, ++ Moderadamente formadora de biofilme.

² Sideróforo do tipo Carboxilato em meio sólido.

As médias seguidas pelas mesmas letras entre colunas indicam que os tratamentos não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A cepa de *Bacillus* B119 produziu significativamente maiores quantidades de AIA do que a cepa B116, enquanto que a B116 produziu de forma significativa mais fosfatases ácidas em comparação com a cepa B119 ($p < 0,05$). Apesar de não apresentar diferença estatística, a cepa B116 foi caracterizada como melhor formadora de biofilme, produziu maior quantidade de fosfatases e solubilizou mais fosfato quando comparada à B119. Por outro lado, a cepa B119, produziu maior quantidade de sideróforos. Foi observado comportamento diferente entre as bactérias estudadas em relação à velocidade na produção de fosfatases, uma vez que a bactéria B116 atingiu a máxima produção em 48 hrs, a B119 precisou de 96 horas para atingir o mesmo ponto de produção (Figura 9).

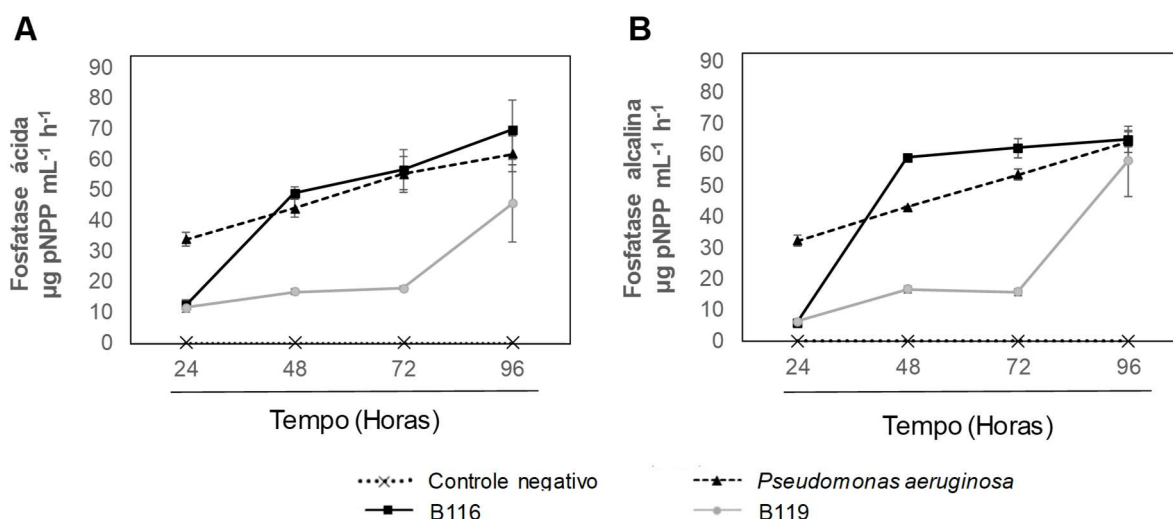


Figura 9. Avaliação da produção de fosfatases ácida (A) e alcalina (B) pelas cepas de *Bacillus* B116 e B119 durante 96 horas, utilizando como controle positivo a cepa BRM 046308 de *Pseudomonas aeruginosa* e controle negativo o meio sem inoculação.

Em relação ao experimento realizado com indução de estresse hídrico, a análise de variância mostrou que o fator cepa foi significativo para área de superfície de raízes grossas, volume de raízes superfinais e grossas, além de peso seco da raiz. Já o fator PEG foi significativo para volume de raízes superfinais, peso seco total e índice SPAD. A interação entre cepa e PEG foi significativa apenas para o volume de raízes superfinais (Tabela S17).

Na ausência de PEG, as plântulas de milho inoculadas com a cepa de *Bacillus* B119 apresentaram volume de raízes superfinais significativamente maior do que aquelas inoculadas com a cepa B116 e o controle negativo sem inoculação ($p < 0,05$).

Contudo, para o mesmo tratamento com a cepa B116 houve redução no peso seco da parte aérea em comparação ao controle não inoculado. Apesar de não ser de forma significativa, nota-se maior valor de AS1, AS3, V1, V3, PSR e no índice SPAD em comparação com o controle não inoculado para ambas cepas bacterianas nessas condições (Tabela S16, Tabela 6).

Por outro lado, as plântulas de milho inoculadas com as cepas B116 e B119 na presença de PEG apresentaram, de forma significativa, maior área de superfície de raízes grossas e maior peso seco da raiz quando comparados com o controle não inoculado. Entretanto, para inoculação com a cepa B116 houve redução significativa de AS1 e V1 e para a cepa B119 houve aumento significativo do V3 (Tabela S16).

Ao comparar os tratamentos na presença de PEG com os tratamentos na ausência de PEG, notou-se que, para os tratamentos com a inoculação dos *Bacillus*, houve redução significativa da área de superfície de raízes superfinais e para a B119 redução do volume de raízes finas e peso seco da parte aérea. Apesar disso, ao contrário ao que ocorreu para o tratamento controle não inoculado e para a B116, para a cepa B119 não houve redução significativa do índice SPAD. Assim como a medida que o controle não inoculado e a cepa B119 tiveram redução significativa no peso seco da parte aérea quando submetidas ao estresse, para cepa B116 não houve diferença significativa. Por outro lado, enquanto que para o controle houve redução significativa do peso seco total, para a inoculação com ambas cepas não houve diferença significativa para esta característica quando comparado ao tratamento na ausência de PEG.

Foi observado também que, apesar de não significativo, a cepa B116 aumentou em 9% a área de superfície de raízes finas enquanto a B119 aumentou a área de superfície de raízes grossas na mesma proporção em comparação aos tratamentos sem PEG. Além de que ambas as cepas aumentaram em mais do que 13% o PSR nessa mesma condição (Tabela S16). De forma geral, quando as plântulas de milho são inoculadas e submetidas ao estresse com PEG, notou-se perda apenas da área de superfície e volume de raízes superfinais, enquanto que para as demais características avaliadas houve menor perda ou não houve diferença significativa em relação ao controle não inoculado (Figura 10).

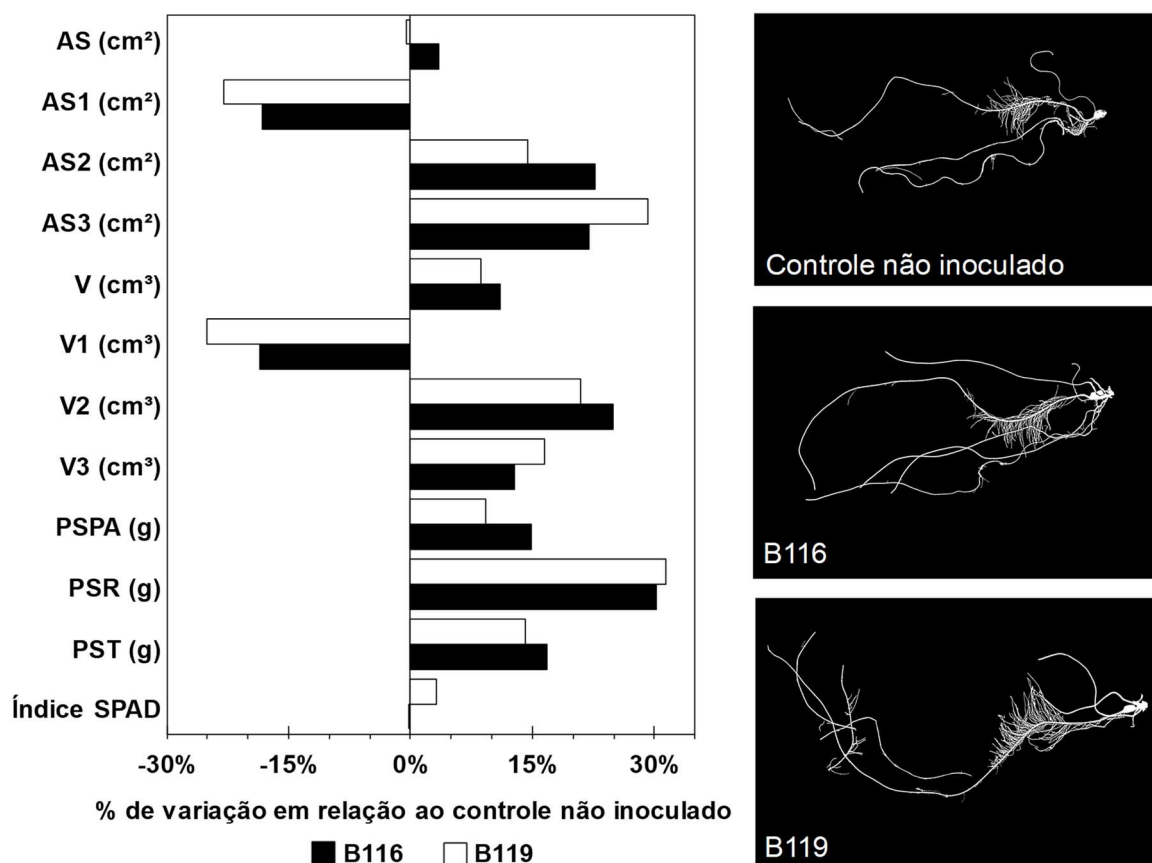


Figura 10. Avaliação da resposta do genótipo de milho à inoculação de duas cepas de *Bacillus* (B116 e B119) sob estresse hídrico induzido com PEG 6000 10% (m/v) em comparação com o controle não inoculado. (AS) área de superfície radicular total; (AS1) área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 e 1 mm; (AS2) 1 e 2 mm e (AS3) maior do que 2 mm (cm²), (V) volume total de raízes, (V1) volume total de raízes com diâmetro entre 0 e 1 mm; (V2) 1 e 2 mm e (V3) maior do que 2 mm (cm³), peso seco da parte aérea (PSPA), da raiz (PSR) e total (PST) (g).

5.3. AVALIAÇÃO DA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE DIFERENTES GENÓTIPOS DE MILHO EM SOLUÇÃO NUTRITIVA

Foram avaliados 21 genótipos de milho inoculados com duas cepas de *Bacillus* seguido do cultivo em hidroponia. A análise do efeito isolado das variáveis indicou que o genótipo apresentou diferença significativa a 5% de probabilidade para todas as características avaliadas, enquanto o efeito de cepa não apresentou diferença significativa para as características de diâmetro médio e raízes grossas. A interação genótipo x cepa foi significativo para todas as características a pelo menos 1% de significância (Tabela 6).

Tabela 6. Resumo das análises de variância para características radiculares e peso seco de genótipos de milho inoculados com duas cepas de *Bacillus* (B116 e B119).

FV	GL	Quadrado Médio								
		C	AS	D	AS1	AS2	AS3	PSPA	PSR	PST
Experimento	3	1717415***	158060***	0,0405***	39243***	11240***	3985***	0,320***	0,0166***	0,472***
Cepa	2	85143***	9875***	0,0002	981*	2420***	197	0,021***	0,0004*	0,027***
Genótipo	20	751283***	67913***	0,0475***	13986***	4444***	3795***	0,086***	0,0037***	0,123***
CepaxGenótipo	40	40113***	3280***	0,0048**	883***	559***	328***	0,006***	0,0005***	0,010***
Resíduo	150	11731	1143	0,0026	221	215	120	0,002**	0,0001	0,003
Total	215									
Média		1024	329	1,04	124	108	63	0,39	0,09	0,48
CV (%)		11	10	5	12	14	17	12	12	12

*significativo a 5%, ** 1% e *** 0,01% de probabilidade pelo teste F. (FV) Fator de variação, (GL) grau de liberdade, (CV) coeficiente de variação, (C) comprimento radicular total (cm); (AS) área de superfície radicular total (cm²); (D) diâmetro médio da raiz (mm); (AS1) área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 e 1 mm; (AS2) 1 e 2 mm e (AS3) maior do que 2 mm, (PSPA) peso seco da parte aérea, (PSR) peso seco da raiz e (PST) peso total.

Quando comparados os efeitos das cepas de *Bacillus* B116 e B119 nos 21 genótipos de milho (Tabela S18, Figura 11), apenas o genótipo BRS1060 não apresentou diferença estatística significativa para nenhuma variável analisada na resposta às bactérias utilizadas, apesar de aumentar em 17% a biomassa da parte aérea e em 10% a biomassa da raiz quando inoculado com a cepa B119 em comparação com o controle não inoculado. Os genótipos 1O2008, 1O2018, 1P2227 e DKB390 responderam de forma negativa ou não responderam à inoculação, considerando a maioria das características avaliadas.

Houve aumento significativo do comprimento e da área superficial total das raízes em nove genótipos de milho, enquanto em apenas três genótipos houve redução dessas características quando inoculados com os *Bacillus*. Por outro lado, em apenas três genótipos verificou-se aumento significativo do diâmetro médio das raízes, já que houve predominância na formação de raízes superfina e finas em relação às raízes grossas. Além disso, em relação à biomassa do milho, nota-se o aumento significativo no peso seco da parte aérea e total de seis genótipos, e no peso seco da raiz de sete genótipos de milho. Contudo verificou-se redução significativa do peso seco da parte aérea e total em apenas três genótipos, e em apenas quatro genótipos quando a característica avaliada foi peso seco da raiz.

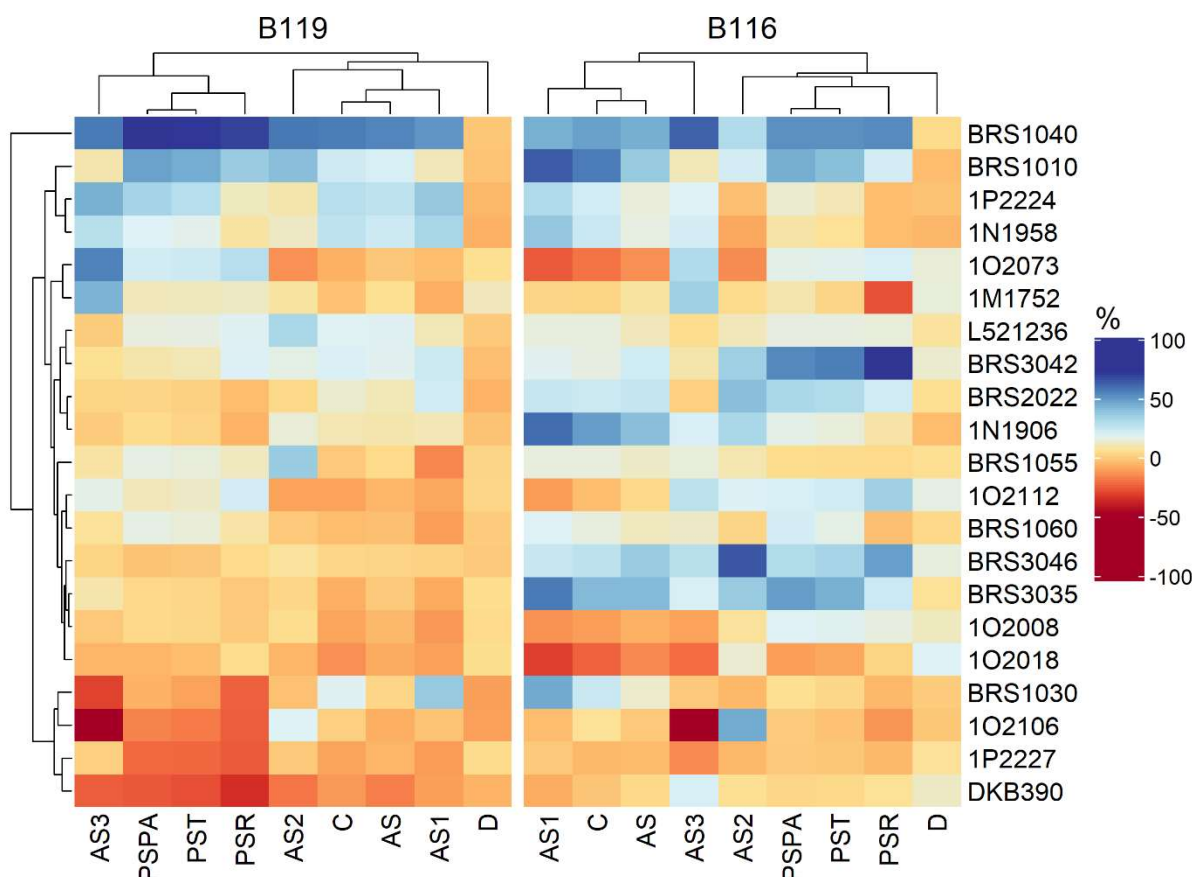


Figura 11. Avaliação da promoção de crescimento de duas cepas de *Bacillus* (B116 e B119) de 21 genótipos de milho crescidos em solução nutritiva por 17 dias. (C) comprimento radicular total (cm); (AS) área de superfície radicular total (cm²); (D) diâmetro médio radicular (mm); (AS1) área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 e 1 mm (cm²); (AS2) 1 e 2 mm (cm²) e (AS3) maior do que 2 mm (cm²), (PSPA) peso seco da parte aérea (g), (PSR) peso seco da raiz (g) e (PST) peso total (g).

Os genótipos comerciais BRS1040 e BRS1010, classificados como sensíveis à seca, foram os mais responsivos à inoculação com ambas bactérias, sendo que o BRS1040, quando inoculado com a cepa B119, aumentou em mais de 55% o comprimento, área superficial total das raízes e área superficial das raízes superfinas, finas e grossas. Além disso, o mesmo genótipo inoculado com a B119 apresentou aumento superior a 70% da biomassa da parte aérea, da raiz e total, quando comparado com o controle não inoculado. Esse mesmo genótipo, quando inoculado com a cepa B116, aumentou em cerca de 30% seu comprimento total, área de superfície total e raízes superfinas, em 18,2% as raízes finas e em 43,8% as raízes grossas. Em relação à biomassa total, de raízes e da parte aérea, houve um aumento em torno de 35% para esse tratamento em comparação com o tratamento sem inoculação. Por outro lado, quando o genótipo de milho BRS3042 foi inoculado com a

cepa B116, aumentou-se em 36,8% o peso seco da parte aérea e em 52,8% o peso seco da raiz desse genótipo. Entretanto, quando esse mesmo genótipo foi inoculado com a cepa B119, não houve diferença significativa para essas características quando comparado com o controle não inoculado.

Ao analisar os genótipos responsivos às duas bactérias, verificou-se que no tratamento com a cepa de *Bacillus* B116 há um aumento predominante das raízes superfinas, enquanto para a cepa B119 observa-se um aumento das raízes finas. Além disso, notou-se que os genótipos classificados como híbridos duplos e triplos responderam melhor à inoculação com a B116 em relação à B119 (Figura 11 e Figura 12). A análise de componentes principais (PCA) explicou 86,34%, 83,87% e 88,15% da variação total pelos dois primeiros componentes para o tratamento sem inoculação, com inoculação da B116 e B119, respectivamente (Figura 12 e Tabela S19). Observou-se a formação de três grupos distintos e bem definidos no tratamento sem inoculação, sendo eles: híbridos simples em rosa, híbridos duplos e triplos em verde e a linhagem em azul. Híbridos simples apresentaram maiores valores de C, AS, AS1, AS2, AS3, PSPA, PSR e PST em relação aos híbridos duplos, triplos e à linhagem. De forma geral, verifica-se alteração da morfologia radicular e do peso seco com a inoculação de ambas cepas de *Bacillus*.

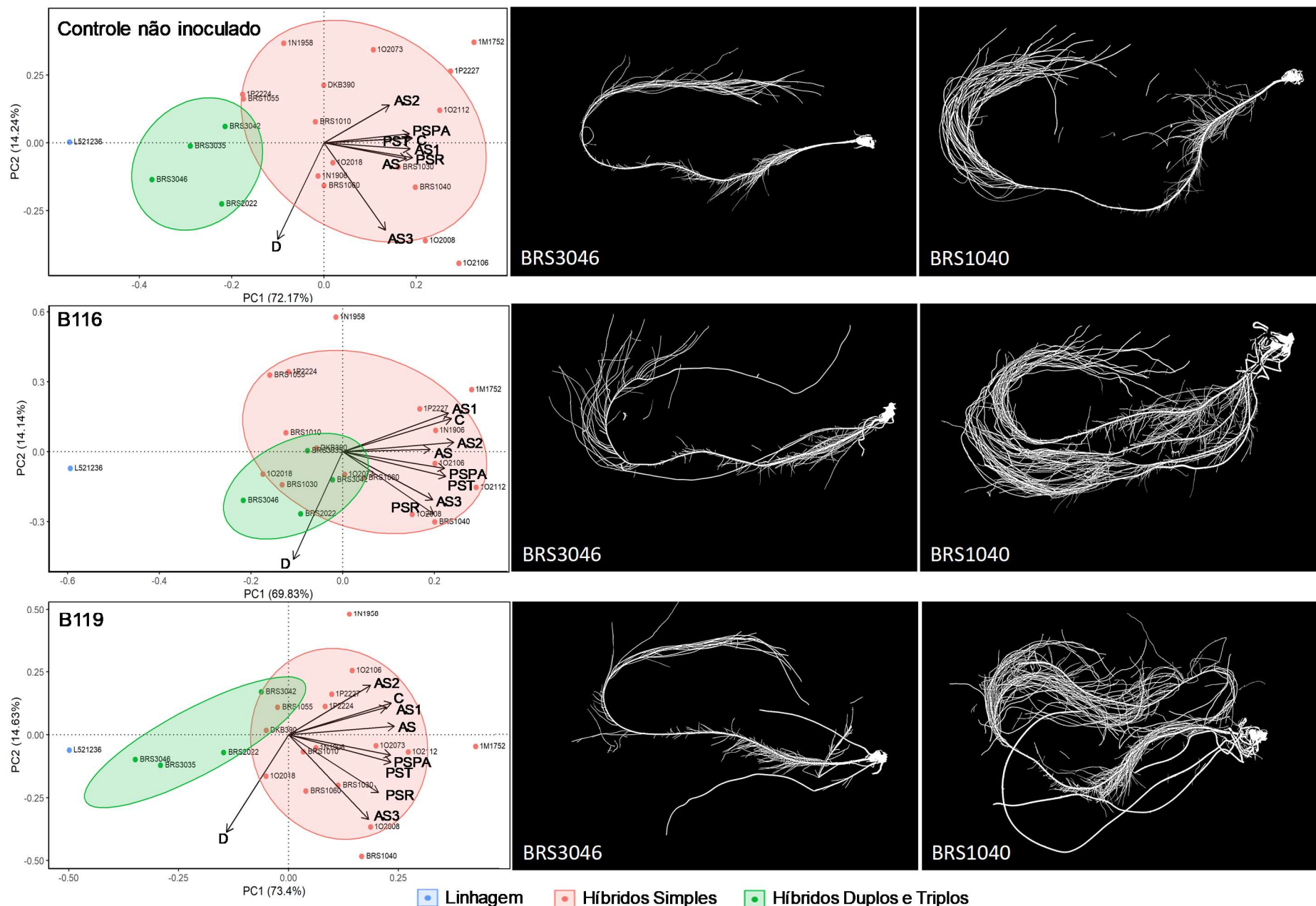


Figura 12. Análise de componentes principais das características radiculares e peso seco de 21 genótipos de milho inoculados com as cepas de *Bacillus* B16 e B19 e controle não inoculado. Nas imagens das raízes estão representados o híbrido triplo BRS3046 e o híbrido simples BRS1040.

6. DISCUSSÃO

Os *Bacillus* representam uma fração significativa da comunidade microbiana no solo. A esporulação desse gênero bacteriano promove sua sobrevivência em muitos ambientes e em diferentes condições ambientais, facilitando assim a adaptação de cepas de *Bacillus* à formulação comercial e à aplicação em campo. Além disso, os *Bacillus* apresentam diversas características que aumentam sua sobrevivência na rizosfera e, portanto, sua eficácia como BPCP. Essas características conferem uma vantagem relevante a este gênero e proporciona diversidade aos mecanismos de ação relacionados ao controle biológico, bioestimulação e biofertilização (Cherif-Silini et al., 2016).

A identificação molecular das duas cepas possibilitou a sua classificação em dois grandes grupos do gênero *Bacillus*. A cepa B116 foi classificada no grupo *Bacillus cereus*, alinhando no clado de *B. thuringiensis* e a B119 no grupo *Bacillus megaterium*, alinhando com as outras cepas de *B. megaterium* (Figura 7). Enquanto *B. cereus* e *B. anthracis* são importantes patógenos de mamíferos, incluindo humanos, *B. thuringiensis* é amplamente utilizado no controle biológico de diferentes espécies de pragas, devido as suas propriedades inseticidas (Ehling-Schulz et al., 2019). Apesar de produzir cristais, a cepa B116 não foi tóxica para a lagarta *Spodoptera frugiperda*. A presença de cristais protéicos por cepas não-inseticidas de *B. thuringiensis* é relatado na literatura, e pode estar relacionado a um grupo heterogêneo de proteínas Cry denominadas parasporinas (Palma et al., 2014; Periyasamy et al., 2016). Além disso, cepas de *B. thuringiensis* têm sido relatadas como promotoras de crescimento de plantas por produzirem AIA, sideróforos e solubilizarem fosfato (Babu et al., 2013; Cherif-Silini et al., 2016). Do mesmo modo, *B. megaterium* é conhecido pela promoção de crescimento vegetal e capacidade de biocontrole de patógenos de plantas. A promoção do crescimento é, em grande parte, devido à produção de compostos orgânicos voláteis, produção de AIA e sideróforos (Munjal et al., 2016). Além disso muitos trabalhos citam a utilização de cepas desta espécie para aliviar os efeitos causados por estresses osmóticos (Habib et al., 2016; Zhou et al., 2016; Chinnaswamy et al., 2018).

Uma vez que as BPCP são reconhecidas por promover o crescimento e desenvolvimento de plântulas, aumentar a biomassa vegetal e modular o sistema radicular positivamente para aquisição de nutrientes e tolerância à estresses, esforços

tem sido direcionados para identificar essas bactérias presentes em ecossistemas naturais e desenvolver cepas para uso comercial (Barnawal, 2019). As BPCP precisam apresentar algumas características distintas para este uso: (1) devem ser capazes de sobreviver na rizosfera e colonizar a superfície da raiz da planta, (2) devem competir, multiplicar e sobreviver com outra microbiota, e (3) devem promover o crescimento das plantas (Maheshwari et al., 2015; Barnawal, 2019).

Para sobreviver na rizosfera, os organismos empregam diversos mecanismos defensivos que operam de maneira orquestrada. Por exemplo, as plantas usam uma variedade de mecanismos de defesa contra patógenos bacterianos, virais e fúngicos, incluindo a produção de espécies reativas de oxigênio na forma de peróxido de hidrogênio, radicais hidroperoxila, hidroxila, superóxido, óxido nítrico e fitoalexinas (Apel e Hirt, 2004; Taiz e Zeiger, 2013; Camejo et al., 2016). Portanto, um pré-requisito para a colonização bacteriana de superfícies radiculares dentro de um ambiente rizosférico oxidativo é a presença de respostas de defesa específicas, rápidas e intensas (Doornbos et al., 2012). Os genes que codificam enzimas antioxidantes, tais como a superóxido dismutase, peroxidase, catalase e hidroperoxido redutase foram encontrados em ambas as cepas estudadas (Tabela S10) indicando que estas conseguem sobreviver em ambientes sob condições de estresse oxidativo.

Além da interação cruzada com as respostas de defesa das plantas, uma bactéria precisa competir com os demais microrganismos presentes na rizosfera vegetal. Ao colonizar a raiz da planta, as bactérias precisam de estratégias para inibir o crescimento de bactérias ou fungos fitopatogênicos, privando-os do ferro essencial ou protegendo-se da ação de antibióticos/bacteriocinas secretados por esses microrganismos (Hassani et al., 2018; Ab Rahman et al., 2018). Nas duas cepas estudadas foi identificada a via completa para aquisição de ferro e biossíntese de sideróforos (Tabela S6), além de ter sido observada a produção de sideróforos *in vitro* de 49,3% e 53,3%, para B116 e B119 respectivamente. Esses valores de produção são comparáveis àqueles apresentados em outros relatos, em que a produção de sideróforos para bactérias do gênero *Bacillus* varia de 18,00% a 87,94% (Zhang et al., 2016; Pahari e Mishra 2017; Yu et al., 2017; Sinha et al., 2019). Além disso, a produção de sideróforos pode ser considerada um mecanismo direto de promoção de crescimento de plantas. Por exemplo, a inoculação de rizobactérias produtoras de sideróforos resultou em aumento do peso seco e conteúdo de ferro nas raízes e parte aérea de milho e canola em comparação com o controle não inoculado (Ghavami et

al., 2017). Quanto a resistência aos antibióticos, o genoma das duas bactérias estudadas também revelou a presença de uma série de genes relacionados à resistência e transporte de antibióticos, genes envolvidos na resistência/mobilização de metais, e, para a B116, foram encontrados também genes relacionados a compostos metabólicos com atividade antifúngica, como o operon *hcnABC* e relacionados à produção de quitinase (Tabela S8, Tabela S13).

Para estabelecer uma interação sinérgica com a planta hospedeira, a bactéria precisa do potencial metabólico para utilizar os nutrientes disponíveis dentro do ambiente rizosférico. As raízes das plantas liberam uma ampla gama de compostos contendo carbono, incluindo carboidratos, aminoácidos, ácidos orgânicos, compostos fenólicos, ácidos graxos, esterol, vitaminas, enzimas, purinas/nucleotídeos, bem como moléculas inorgânicas, que são coletivamente conhecidos como exsudatos radiculares (Chagas et al., 2018; Ray et al., 2018). O genoma de ambas bactérias codifica as vias do metabolismo dos hidratos de carbono centrais, incluindo o ciclo do ácido tricarbóxico, o Entner-Doudoroff, o Embden-Meyerhof-Parnas e a via das pentoses fosfato. Além disso, foi detectada a presença de proteínas envolvidas no processo de fermentação anaeróbia e fotorrespiração, e a capacidade de utilizar uma grande variedade de compostos derivados de plantas, tais como D-manitol, sacarose, salicina, trealose, celobiose, D-manose, L- arabinose, maltose, xilose, glucose, entre outros.

Uma vez que as BPCPs foram capazes de sobreviver às condições adversas na rizosfera, o primeiro passo para a colonização de plantas é a capacidade de atingir a superfície das raízes, seja por movimento passivo em fluxos de água ou por movimentos ativos com propulsão flagelar (Harshey et al., 2003). Ambas as cepas de *Bacillus* isoladas da rizosfera de milho possuem em seu genoma operons de biossíntese de flagelos e o elemento estator *motAB* (Tabela S9). Este sistema é semelhante ao encontrado na maioria das espécies de *Bacillus*, por exemplo nas cepas FZB42 de *B. amyloliquefaciens* (Chen et al., 2007), XF-1 de *B. subtilis* (Guo et al., 2015), CC09 de *B. velezensis* (Cai et al., 2016), AR156 de *B. cereus* (Jiang et al., 2017) e AB211 de *B. aryabhatai* (Bhattacharyya et al., 2017). A ativação e expressão dos genes necessários para o movimento flagelar são necessárias para garantir a motilidade celular e quimiotaxia em resposta a exsudatos radiculares (Allard-Massicotte et al., 2016; Chagas et al., 2018; Lemanceau et al., 2018).

Para estabelecer a colonização bacteriana ocorre a interação planta-microrganismo, seja por ligação não específica (fixação superficial) ou por uma ancoragem firme. A aderência bacteriana (fixação) à raiz depende de uma série de fatores da superfície celular, tais como pili, flagelo e polissacarídeos extracelulares (EPS), seguido pela formação de biofilme (Bogino et al., 2013). O biofilme não apenas fortalece a interação entre plantas e BPCP ao formar poros e redes que facilitam tanto o fluxo de nutrientes e oxigênio, quanto a comunicação intercelular (quorum sensing), mas também fornece ao sistema radicular da planta uma barreira protetora contra o ataque de organismos patogênicos (Vlamakis et al., 2013; Deng et al., 2015). Os EPS são carboidratos de alto peso molecular ligados à superfície externa das bactérias, relacionados à formação de biofilmes e à fixação das células bacterianas em superfícies, incluindo raízes de plantas e partículas do solo. Como os EPS são compostos hidratados, incluindo 97% de água em uma matriz polimérica, são capazes de aumentar o crescimento e garantir a sobrevivência das plantas sob estresse hídrico (Vu et al., 2009; Nocker et al., 2012). Além disso, podem proteger a planta contra a dessecação devido à formação de biofilmes hidrofílicos na superfície da raiz (Rossi et al., 2012). As duas bactérias estudadas foram capazes de formar biofilme e produzir EPS *in vitro*, corroborando a presença de genes relacionados à biossíntese de pili (*comC*), flagelos e biofilme. Apesar de ambas as cepas serem capazes de produzir EPS *in vitro*, apenas a cepa B119 possui em seu genoma o operon de exopolissacarídeo *epsA-O* completo, enquanto que na B116 foram identificadas apenas as proteínas de biossíntese de polissacarídeos EpsC (*epsC*, *wecB*), EpsD (*wecC*) e EpsP (*epsP*). Todavia, em ambos genomas foram encontrados genes relacionados à formação de biofilmes (Tabela S7). A cepa mutante de *B. velezensis* FZB42 é incapaz de produzir EPS e, por esse motivo, não forma biofilme independente do substrato presente no meio de cultura, impedindo a colonização eficaz da rizosfera de tomate e indicando a importância dessa substância para esse processo (Al-Ali et al., 2018).

Após a colonização da célula vegetal pela bactéria, é estabelecida uma associação simbiótica na qual a planta fornece proteção e nutrientes, enquanto as bactérias auxiliam no desenvolvimento e crescimento vegetal por mecanismos diretos e indiretos. Dentre os mecanismos diretos estão a produção de fitormônios, produção de enzimas e disponibilização de nutrientes, ao passo que os indiretos compreendem

o controle biológico de fitopatógenos e a indução de resistência sistêmica (Saini et al., 2015; Varma et al., 2017; Nazir et al., 2018; Wallace e May, 2018).

A produção de fitormônio é a característica mais comum compartilhada por bactérias promotoras de crescimento de plantas (Bulgarelli et al., 2013; Duca et al., 2014; Hardoim et al., 2008; Sukumar et al., 2013). As bactérias associadas às plantas utilizam o triptofano presente no exsudato da planta como um precursor para a biossíntese do AIA (Hardoim et al., 2008). O AIA liberado por essas bactérias pode agir conjuntamente com esta mesma molécula liberada pela planta. Dessa forma, o impacto das bactérias nas plantas pode ser positivo ou negativo dependendo da quantidade de auxina produzida e liberada, além da sensibilidade do tecido vegetal à esta molécula (Ali e Hasnain, 2010; Duca et al., 2014). As raízes das plantas, por exemplo, são sensíveis às diferentes concentrações de AIA, e as respostas variam do alongamento das raízes primárias, formação de raízes laterais e adventícias à inibição do crescimento (Davies, 1995; Dimkpa, et al., 2008). Tanto a cepa B116 quanto a B119 foram capazes de produzir AIA *in vitro*, 49,54 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 61,67 $\mu\text{g mL}^{-1}$ respectivamente, e possuem em seu genoma diferentes vias para produção desse fitormônio. Enquanto a B116 possui genes presentes nas vias triptamina, indole-3-acetamida e ácido indol-3-pirúvico, a cepa B119, apresentou os genes que pertencem as vias indole-3-acetamida e a oxidase da cadeia lateral do triptofano. Baixas concentrações de AIA exógeno podem estimular o alongamento da raiz primária, enquanto altos níveis diminuem o comprimento desta raiz, aumentando a formação de pelos radiculares e estimulando a formação de raízes laterais (Overvoorde et al., 2010; Khan et al., 2016). Diversas cepas de *Bacillus* já foram relatadas na literatura como produtoras de AIA, com valores de produção variando de 0,80 a 73,60 $\mu\text{g mL}^{-1}$, e foram capazes de promover o crescimento de diferentes culturas (Batista et al., 2016; Bhattacharyya et al., 2017; Kavamura et al., 2017; Kim et al., 2017; Bahadir et al., 2018; Montoya et al., 2019). Além disso, a cepa B116 possui uma proteína relacionada à produção da enzima ACC desaminase, a qual é responsável pela conversão de ACC, precursor do hormônio etileno nas plantas, em α -cetobutirato e amônio, o qual pode ser utilizado como fonte de nitrogênio pelas plantas. Essa enzima é importante por diminuir o nível do etileno em condições estressantes e auxiliar no crescimento vegetal (Singh et al., 2016). É relatado na literatura que a cepa BAC03 de *B. velezensis* promove o crescimento de diferentes culturas devido à sua

capacidade de produzir AIA, compostos orgânicos voláteis (COV), bem como apresentar atividade da ACC desaminase (Meng et al., 2016).

Outro mecanismo de promoção do crescimento das plantas que as bactérias podem apresentar é a produção de COV, tais como acetoína e butanodiol que podem aumentar a resistência das plantas contra patógenos (Kai et al., 2009; Johnston-Monje e Raizada 2011; D'Alessandro et al., 2014; Taghavi et al., 2015). Além disso, o aumento da produção desses compostos benéficos resulta em crescimento e desenvolvimento das raízes através da modulação hormonal, melhorando assim o acesso a nutrientes e água e conseqüentemente aumentando o estabelecimento de plantas hospedeiras em condições extremas, tais como condições de estresse abiótico (Zhang et al., 2007; Kai et al., 2009; Taghavi et al., 2015; Tahir et al., 2017). Os genes que codificam a via de produção de COV estão presentes no genoma das cepas B116 e B119 indicando que essas bactérias podem promover o crescimento de plantas através desse mecanismo. Linhagens mutantes de *Bacillus* sem o gene responsável pela produção de 2,3-butanodiol não apresentam proteção contra doenças causadas por patógenos de plantas, confirmando a atividade destes compostos em induzir resistência contra doenças (Ryu et al., 2003). Além disso, a cepa GB03 de *B. subtilis* inoculada em *Arabidopsis* aumenta o crescimento das plantas pela produção de compostos orgânicos voláteis com ação moduladora na expressão de genes associados a expansão e relaxamento da parede celular (Zhang et al., 2007).

Outra característica importante compartilhada pelas BPCPs é a capacidade de fixar nitrogênio (Dai et al., 2014; Alves et al., 2015; Mus et al., 2016). A associação de plantas com bactérias fixadoras de nitrogênio, também conhecidas como diazotróficas, é uma importante estratégia utilizada pelas plantas para adquirir este nutriente. Estas bactérias podem colonizar a rizosfera e/ou rizoplano de leguminosas ou não-leguminosas (Aryantha e Hidiyah, 2018), ou serem endofíticas, colonizando o interior das plantas ou outras estruturas como os nódulos nas raízes (Deng et al., 2015) disponibilizando o amônio reduzido. No genoma de ambas cepas de *Bacillus* foram encontrados diversos genes envolvidos no metabolismo de nitrogênio (Tabela S5), apesar de não ser encontrado o gene *nifH* muito relatado na literatura para diversos organismos, foram identificados os genes *nifF* e *nifU*, caracterizando essas cepas como fixadoras de nitrogênio. Essa característica foi confirmada por teste qualitativo *in vitro*. Diversas bactérias diazotróficas já foram identificadas e relatadas

na literatura como fixadoras de nitrogênio e promotoras de crescimento de milho como, por exemplo, as cepas *B. megaterium* NCT-2 e *B. pumilus* S1r1 (Kuan et al., 2016; Chu et al., 2018). Além disso, cepas de *Bacillus* que foram capazes de fixar nitrogênio *in vitro* em meio semi-sólido NFb e apresentaram a película típica, não possuíam o gene *nifH* corroborando os resultados encontrados no presente estudo (Szilagyi-Zecchin et al. 2014).

Outro nutriente necessário para o crescimento das plantas e com disponibilidade mínima para a absorção por estas é o fósforo, sendo que a capacidade de solubilização de fosfato pelos microrganismos possui extensas aplicações agrícolas (Arcand e Schneider, 2006; Behera et al., 2014; Hussein e Joo, 2015). Os mecanismos utilizados pelas bactérias solubilizadoras de fosfato, que convertem formas insolúveis de fosfato em formas disponíveis, são complexos e envolvem reações de acidificação, oxidação e redução, secreção de ácidos e ligantes orgânicos, e a produção de substâncias poliméricas extracelulares pelos microrganismos (Delvasto et al., 2006; Young et al., 2013; Zhu e Whelan, 2018), assim como a síntese de enzimas fosfatases (Richardson, 2001; Zhu e Whelan, 2018). As cepas B116 e B119 foram isoladas da rizosfera de genótipos de milho eficientes na utilização de fósforo e selecionadas quanto à capacidade de solubilizar fosfato (Oliveira et al., 2009). Além de solubilizar o fosfato, ambas cepas produzem fosfatases *in vitro*. Genes envolvidos na produção de ácidos de baixo peso molecular, no transporte e assimilação do fosfato inorgânico e na produção de fosfatases também foram identificados no genoma de ambos *Bacillus* (Tabela S3). As cepas B116 e B119 solubilizam 931,22 mg L⁻¹ e 925,53 mg L⁻¹ de fosfato respectivamente. Espécies de *Bacillus* sp. incluindo *B. amyloliquefaciens*, *B. megaterium* e *B. subtilis*, isolados de plantas de milho, arroz e soja, são conhecidos por solubilizar fosfatos insolúveis (Babu et al., 2017; Borah et al., 2017; Kim et al., 2017). Cepas de *Bacillus* são capazes de solubilizar de 72 mg L⁻¹ a 957,3 mg L⁻¹ de fosfato em testes *in vitro* (Chen et al., 2006; Mehta et al., 2010; Kavamura et al., 2013; Bhattacharyya et al., 2017; Ibarra-Galeana et al., 2017; Prakash e Arora, 2019; Yu et al., 2019). A elevada solubilização de fosfato pelas cepas do presente trabalho pode ser explicada pela variação do metabolismo entre microrganismos da mesma espécie e por depender das condições de cultivo empregadas. A enzima fosfatase cliva o fosfato orgânico insolúvel em íons fosfato e, assim, ajuda na absorção destes íons pelas plantas. Os maiores valores de produção de fosfatase ácida e alcalina tanto para a B116, quanto para a B119 se apresentaram

com 96 h de cultivo. Da mesma forma, o isolado *Bacillus* sp. STJP produziu 8,64 $\mu\text{g pNP mL}^{-1} \text{ min}^{-1}$ de fosfatase após 24 h, o que aumentou com o período de incubação até 96 h (81,45 $\mu\text{g pNP mL}^{-1} \text{ min}^{-1}$) (Prakash e Arora, 2019). Bactérias isoladas da rizosfera de milho foram caracterizadas com produção de fosfatase variando de 0,59 $\mu\text{g pNP mL}^{-1} \text{ h}^{-1}$ a 70,98 $\mu\text{g pNP mL}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Oliveira et al., 2009), corroborando os resultados encontrados no presente trabalho. Além disso, o comportamento foi diferente entre as bactérias estudadas em relação à produção de fosfatases. Enquanto a B116 atingiu a máxima produção em 48 h, a B119 precisou de 96 h para atingir o mesmo ponto de produção, pode ser atribuído à diferença no metabolismo de cada cepa bacteriana e à diferentes tipos de fosfatase produzidas. Comportamentos distintos na produção máxima de fosfatases também estão relatados na literatura para bactérias de diferentes espécies (Ibarra-Galeana et al., 2017).

Microrganismos, especialmente os xerotolerantes, ou seja, que são capazes de sobreviver em condições de baixa atividade de água, apresentam potencial como inoculantes microbianos, constituindo alternativas para mitigar os efeitos da seca em plantas por produzir substâncias como EPS e biofilmes que protegem as plantas contra a perda de água (Lebre et al., 2017). Ao realizar a caracterização das cepas estudadas, observou-se que as duas bactérias foram capazes de crescer em meio de cultura com atividade de água de 0,919, assim como amenizaram os efeitos do estresse hídrico induzido por PEG 6000 10% do genótipo de milho L521236 em hidroponia. De forma geral, as cepas de *Bacillus* foram capazes de remodelar as raízes das plântulas de milho, reduzindo as raízes superfinais e aumentando as finas e grossas, levando a uma menor perda do peso seco total, quando comparado ao controle não inoculado. Raízes de maior diâmetro podem apresentar maior condutividade hidráulica, o que facilitaria o transporte da água (Passioura, 1988; Doussan et al., 1998; Wan et al., 2000; Ho et al., 2005). Em um estudo em casa de vegetação envolvendo dois híbridos tolerantes (TAES176 e P3223) e um suscetível à seca (P3225) foi investigado a condutividade hidráulica durante o florescimento. Os genótipos de milho tolerantes à seca apresentam raízes com maiores diâmetros e volume de raiz no solo superior em relação ao suscetível, o que contribuiu para maior condutância hidráulica da raiz e maior efluxo de água a partir das raízes (Wan et al., 2000). Plantas de *Arabidopsis* inoculadas com a cepa *B. megaterium* BOFC15 na presença de déficit hídrico induzido por PEG apresentam um maior número de raízes

laterais e biomassa radicular em relação ao controle não inoculado sob a mesma condição (Zhou et al., 2016). Da mesma forma, a cepa FD48 de *B. altitudinis* modificou a arquitetura radicular de arroz, aumentando a espessura da raiz e o número de raízes laterais emergentes, enquanto diminuiu o comprimento da raiz, em comparação com o controle não inoculado (Ambreetha et al., 2018). Esses resultados demonstram que bactérias do gênero *Bacillus* podem reduzir o crescimento da raiz primária e induzir o desenvolvimento radicular lateral, o que é crucial para a aquisição de água e minerais (Ambreetha et al., 2018). Além disso, para a cepa B119, não houve perda significativa no índice SPAD, que é um parâmetro fisiológico utilizado para a análise dos pigmentos fotossintéticos, quando submetido ao estresse com PEG. Este parâmetro é eficaz na identificação de plantas tolerantes ao estresse hídrico uma vez que o aumento da eficiência na fotossíntese relaciona-se ao melhor aproveitamento da radiação disponível pelas clorofilas que estimula uma maior produtividade (Jabeen et al., 2008; Silva et al., 2014). Dessa forma, a inoculação com as bactérias evitou uma maior perda desse índice nos estágios iniciais de desenvolvimento podendo gerar ganhos futuros em relação à produtividade. A produção de sideróforos pelas bactérias pode estar associada indiretamente ao aumento do teor de clorofilas, já que a biossíntese de clorofila é fortemente dependente da disponibilidade de ferro (Jurkevitch et al., 1986; Kobayashi e Nishizawa, 2012; Hermenau et al., 2018). Esse resultado pode estar relacionado a capacidade das bactérias de produzir enzimas antioxidantes (Armada et al., 2014) e a enzima ACC deaminase (Tittabutr et al., 2013; Tahir et al., 2019), produzir EPS (Kavamura et al., 2013), AIA (Defez et al., 2017), substâncias osmorreguladoras e termoprotetoras (Rodríguez-Salazar et al. 2009; Li e Jiang, 2017), COV (Tittabutr et al., 2014), além de formar biofilmes (Chen et al., 2013). Portanto a inoculação das plântulas de milho com as cepas B116 e B119 sob déficit hídrico possibilitou maior tolerância aos efeitos negativos do estresse, como foi observado na Figura 10.

Corroborando os resultados encontrados *in vitro* e *in vivo*, foram identificados no genoma de ambas bactérias estudadas genes envolvidos em respostas ao choque térmico, osmorregulação, formação de endósporos e outras respostas aos estresses osmótico e oxidativo (Tabela S10, Tabela S11, Tabela S12). No genoma da cepa de *Bacillus* B116 foi identificado o gene referente à aquaporina Z a qual é uma proteína de canal que está envolvida na osmorregulação e na manutenção do turgor celular durante a expansão celular. O genoma de *Bacillus halotolerans* ZB201702 apresenta

proteínas envolvidas na resposta ao estresse salino, tais como um transportador de prolina osmo-regulado, proteína reguladora transcricional DegU, transdução de sinal histidina-proteína quinase/fosfatase DegS, e a proteína de choque frio CspB. A análise *in vitro* da atividade dessa cepa sob estresse salino e hídrico mostra que a tolerância está relacionada à presença desses genes no seu genoma (Zhang et al., 2018). Além disso, *B. amyloliquefaciens* SQR9 promove o crescimento de plântulas de milho e aumenta o teor de clorofila em comparação com o controle negativo após a exposição ao estresse salino por 20 dias em solução hidropônica. Análises adicionais mostram que os mecanismos envolvidos nessa resposta podem estar relacionados ao aumento do teor de açúcar solúvel total, da atividade de peroxidase/catalase e o conteúdo de glutathiona para eliminar espécies reativas de oxigênio, e na redução dos níveis de Na⁺ tóxicos na planta (Chen et al., 2016). A seca é um dos principais estresses abióticos que limitam a produtividade agrícola, afetando a segurança alimentar. *Bacillus* spp. isolados de cactos da região semi-árida brasileira com múltiplas características para promoção de crescimento são indicados para promoção de crescimento do milho sob estresse hídrico corroborando os resultados encontrados (Kavamura et al., 2013). Portanto, bactérias promotoras do crescimento de plantas, como as cepas de *Bacillus* B116 e B119, são alternativas factíveis e viáveis para mitigar os efeitos do estresse hídrico, pois facilitam o crescimento e desenvolvimento das plantas por diferentes mecanismos morfofisiológicos e bioquímicos.

Bactérias do gênero do *Bacillus* são promissoras candidatas para serem usadas como inoculantes microbianos devido a sua capacidade em amenizar ou eliminar os efeitos nocivos do estresse salino, hídrico e oxidativo, regular as características morfofisiológicas e promover o crescimento das plantas (Ghyselinck et al., 2013; Pinter et al., 2017; Tiwari et al., 2019). A análise destes genomas e a caracterização *in vitro* propiciam uma melhor compreensão dos mecanismos relacionados à promoção do crescimento de plantas nas cepas B116 e B119, das características intrínsecas e exclusivas de cada cepa, além da capacidade de se adaptarem a diferentes condições, proporcionando assim, uma base para futuras aplicações biotecnológicas na agricultura. No entanto, o tipo e número de parâmetros alterados por BPCPs difere com base na espécie e genótipo da planta, e tipo de interação entre a bactéria e a planta. Portanto a identificação de genótipos contrastantes em relação a resposta à inoculação é fundamental em estudos sobre a

interação planta-bactéria. Sendo assim, analisou-se a resposta de diferentes genótipos de milho à inoculação com ambas cepas de *Bacillus* em hidroponia.

Para todas as características radiculares e de peso seco avaliadas no experimento houve interação significativa entre genótipos de milho e inoculação das plântulas com *Bacillus*, sendo que 16 das 21 cultivares responderam positivamente à inoculação, quatro negativamente e para o genótipo BRS1060 não houve diferença estatística significativa. Ainda assim, este genótipo aumentou em 17% a biomassa da parte aérea e em 10% a biomassa da raiz quando inoculado com a cepa B119 em comparação com o controle não inoculado. Além disso, para os genótipos responsivos à inoculação, houve respostas distintas às duas cepas (Tabela S18). Constatou-se também que o genótipo DKB390 apresentou resposta negativa em ambas inoculações, com redução em todos os parâmetros avaliados. Ao contrário do que foi observado, houve aumento de matéria seca quando o mesmo genótipo de milho foi inoculado com *Herbaspirillum seropedicae* em casa de vegetação (de Araujo et al., 2013). A bactéria *H. seropedicae* também é capaz de aumentar a produtividade dos genótipos BRS1010, BRS1030 e BRS1060 quando comparado ao tratamento sem inoculação (de Araujo et al., 2013; Breda et al., 2016). Respostas distintas à inoculação em diferentes genótipos de uma mesma cultura com BPCP são comumente relatados na literatura (Montanez et al., 2012; Vargas et al., 2012; Araújo et al., 2014; Alves et al., 2015; Pankievicz et al., 2015; Rodríguez-Blanco et al., 2015; Alves et al., 2016; Kazi et al., 2016; Salem et al., 2018). Por exemplo, 27 genótipos de milho respondem de forma diferente à inoculação de *Azospirillum brasilense* quando cultivados em diferentes níveis de nitrogênio, em que as linhagens L7 e L8 são as mais responsivas em relação à eficiência da inoculação de *A. brasilense* Ab-V5, enquanto a linhagem L16 é a menos responsiva (Zeffa et al., 2019). Da mesma forma, sete cepas bacterianas pertencentes ao gênero *Bacillus* quando inoculadas em três cultivares de trigo induziram respostas contrastantes em relação à promoção de crescimento (Chanway e Nelson, 1988). O estabelecimento da associação planta-BPCP envolve mecanismos complexos. Nesse sentido, o background genético da planta hospedeira e das bactérias desempenha um papel crucial na regulação dessa associação (Vidotti et al., 2019). A quantidade e composição das substâncias liberadas nos exsudatos de genótipos de plantas podem variar, assim como a indução de genes relacionados aos mecanismos de defesa da planta, afetando diretamente as respostas à inoculação (Zamioudis e Pieterse, 2012; Chagas et al., 2018).

O melhoramento de plantas, especificamente do milho, raramente tem como alvo as características de interação com microrganismos (Bertholdsson, 2004; Kiers et al., 2007), ao contrário do que acontece com a soja (Wissuwa et al., 2009; Hungria e Mendes, 2015). Historicamente, o melhoramento de milho foi feito sob altas condições de fertilização, uma vez que ocorreu concomitantemente com o uso de fertilizantes nitrogenados para aumentar os rendimentos agrícolas (Duvick, 2005; Sinclair e Rufty, 2012; Woli et al., 2016; Faheed et al., 2016). À medida em que a utilização de insumos, tais como fertilizantes e defensivos agrícolas, aumenta, as funções da planta referentes a absorção de nutrientes e a defesa contra patógenos podem ser subjugadas. Dessa maneira, essas alterações podem atuar como seleção natural nas interações entre as plantas e os microrganismos presentes no solo (Drinkwater e Snapp, 2007; Wissuwa et al., 2009; Hungria e Mendes, 2015). Em cana-de-açúcar, por exemplo, foi observada uma maior resposta à inoculação com bactérias diazotróficas sob baixa fertilidade de nitrogênio em comparação com a alta fertilidade de nitrogênio (dos Santos et al., 2019). A variabilidade nas respostas positivas ou negativas dos genótipos de milho em relação à inoculação com diferentes bactérias também pode ser devido à genótipos específicos reconhecerem em BPCP padrões de moléculas reconhecidas pelas células do sistema imune vegetal como sinal de invasão por um grupo de agentes patogênicos (Doornbos et al., 2012). Dessa forma, raízes de arroz e milho inoculadas com *H. seropedicae* SmR1 expressam genes relacionados à defesa da planta, sendo que esta bactéria é conhecida por promover o crescimento dessas culturas (Brusamarello-Santos, 2012; Amaral et al., 2014). Da mesma forma, a colonização do trigo e do milho por *A. brasilense* FP2 também induziu a formação de proteínas envolvidas na defesa de plantas contra patógenos (Walker et al., 2012; Camilios-Neto et al., 2014).

Os híbridos simples, resultantes do cruzamento entre duas linhagens puras, possuem maior potencial produtivo quando as condições ambientais são otimizadas e apresentam maior uniformidade morfofisiológica entre os indivíduos de suas populações em comparação com os híbridos duplos e triplos. Contudo, essa uniformidade genética pode ser desfavorável em condições de estresses bióticos ou abióticos. Da mesma forma, os híbridos triplos, obtidos a partir do cruzamento entre uma linhagem pura e um híbrido simples, são mais uniformes do que os híbridos duplos e possuem potencial produtivo intermediário entre os híbridos simples e duplos. Já, os híbridos duplos proveniente do cruzamento entre dois híbridos simples,

possuem maior variabilidade genética, que resulta em maior estabilidade perante adversidades bióticas e abióticas (Cruz e Pereira Filho, 2006; Cargnelutti Filho et al. 2011). No presente trabalho, os híbridos simples apresentaram maiores valores para peso seco, áreas superficiais e comprimento de raízes em comparação aos híbridos triplos e duplos (Figura 12). Híbridos simples também apresentaram melhores respostas em relação à massa seca quando inoculados com *Herbaspirillum seropedicae* em comparação com os híbridos duplos e triplos (de Araujo et al., 2013). As BPCPs podem ser uma alternativa para aumentar a tolerância desse tipo de híbrido a estresses bióticos e abióticos, tornando-os além de produtivos, mais adaptados a diferentes condições ambientais. Por outro lado, os genótipos classificados como híbridos duplos e triplos responderam melhor à inoculação com a B116 em relação à B119. Isso pode estar relacionado à resposta genótipo-dependente, em que genótipos com maior variabilidade genética, como os híbridos duplos e triplos, podem possuir menor especificidade na interação planta-bactéria (de Araujo et al., 2013). Além disso, observou-se aumento de peso seco superior à 70% em genótipos responsivos à inoculação com a cepa B119. De forma geral, a cepa B119 induziu uma resposta significativa e específica no que se refere à interação com genótipos de milho, em comparação à B116, que induzir uma resposta mais ampla. A promoção do crescimento das plantas no ambiente não é impulsionada por uma única espécie de bactéria, por isso a escolha de bactérias com diferentes capacidades de promoção do crescimento, com o objetivo de fornecer um consórcio que possa ser aplicado para vários fins torna-se importante (Dias et al., 2009). Dessa forma sugere-se uma coinoculação das cepas B116 e B119 a fim de ampliar o espectro de atuação destas bactérias.

A avaliação da capacidade de resposta do milho às BPCP é trabalhosa e demorada, sendo que o uso de abordagens genômicas, como a predição genômica, podem trazer benefícios nessas situações. A predição genômica tem sido implementada em programas de melhoramento de milho e é objeto de estudo de vários autores (Crossa et al., 2017; Lyra et al., 2017; Sousa et al., 2017). Além disso, alguns estudos recentes nos programas de melhoramento genético têm sido propostos para melhorar a interação de plantas com microrganismos do solo (Gopal e Gupta, 2016; Kroll et al., 2017; Wei et al., 2017). Em uma população de 114 linhagens de trigo haplóide duplo (*Triticum aestivum* L.), derivadas do cruzamento entre dois genitores contrastantes em termos de adesão radicular de *A. brasilense*,

foram identificados seis locus de características quantitativas (QTL) responsáveis por 23,1% da variação fenotípica dessa característica. Dentre eles, um QTL de maior efeito foi responsável por 8,63% desta variação (Díaz De León et al., 2015). Sendo assim, diferenças na identidade genética das plantas - em espécie, variedade ou nível de cultivar - podem ser um importante fator para o sucesso da interação positiva com BPCP. A identificação de genes/QTLs relacionados à interação planta-microrganismo pode fornecer marcadores moleculares passíveis de serem utilizados na seleção assistida por marcadores para a interação bem-sucedida entre plantas e BPCP. Do mesmo modo, o desenvolvimento de modelos genômicos para associação de 118 híbridos de milho e a mesma espécie de bactéria forneceram uma compreensão da variação quantitativa da responsividade do milho ao *A. brasilense* e importantes insights a serem aplicados no melhoramento de milho visando o desenvolvimento de híbridos superiores para esta associação foram obtidos. Neste estudo, foram encontrados valores de predição moderados a altos para os modelos propostos, indicando uma oportunidade para a seleção genômica de características relacionadas à associação de milho e *A. brasilense* nos estágios iniciais do desenvolvimento da planta (Vidotti et al., 2019).

Uma maior área de superfície radicular, estimulada pela BPCP nos estágios iniciais do desenvolvimento das plantas, promove uma absorção mais eficiente de nutrientes e o crescimento das plantas. Portanto, o alto custo metabólico para a expansão da raiz nos estágios iniciais de desenvolvimento (Lynch e Brown, 2012), pode levar a um maior crescimento da parte aérea após o estabelecimento da planta, o que compensaria o custo inicial da associação planta-bactéria. Em experimentos conduzidos em campo utilizando ambas cepas (de Sousa et al., 2019), a inoculação da B116 aumentou a produção do híbrido simples P30F35YH de milho e o acúmulo de P nos grãos em torno de 36 e 58%, respectivamente. Já, a cepa B119 aumentou o teor de P nos grãos em 21% neste mesmo genótipo em solos sem adição do nutriente. Mesmo em solos adubados com superfosfato triplo (TSP), o aumento da produção de milho e o acúmulo de P foi cerca de 20% após a inoculação com essas duas cepas, em comparação com o controle não inoculado. Além disso, foi observado aumento na produtividade de aproximadamente 18 e 26% das plantas de milho inoculadas com B116 e B119, respectivamente, em solo adubado com TSP (de Sousa et al., 2019). Esses resultados de campo corroboram essa hipótese, já que as duas cepas apresentaram produção intermediária a alta de AIA, sideróforos e solubilização de

fósforo, promoveram maior área de superfície radicular e peso da parte aérea na fase de plântula que dá uma vantagem inicial à planta, levando a maior produtividade e teor de P nas sementes na fase adulta (de Sousa et al., 2019). As plantas de milho inoculadas com a cepa bacteriana B119 apresentaram maior área de superfície radicular e peso seco nos experimentos com hidroponia. No entanto as plantas inoculadas com a cepa B116 apresentou maior produtividade em solo sem adição de P e não apresentou diferença estatística em solos com adição de TSP quando comparada à B119 (de Sousa et al., 2019). As duas cepas bacterianas são capazes de formar biofilme, possuem genes relacionados à produção de diferentes tipos de sideróforos e mecanismos de defesa contra o ataque de patógenos, como os relacionados à produção de HCN na cepa B116 e resistência à antibióticos em ambas cepas, no entanto, a cepa B116 apresentou maior efeito em campo (de Sousa et al., 2019) e respostas positivas com um maior número de genótipos de milho.

Em conjunto, nossos resultados sugerem que a modulação da morfologia radicular nos estágios iniciais do desenvolvimento do milho promovida pela ação de ambas cepas de *Bacillus* pode levar a uma maior resistência a estresses abióticos e maior produtividade na fase adulta. Esse remodelamento radicular provavelmente está relacionado a mais de um dos mecanismos de promoção do crescimento encontrados na predição genômica e confirmados *in vitro* e na associação com diferentes genótipos de milho.

7. CONCLUSÃO

As análises genômicas classificaram a cepa B116 como *B. thuringienses* e B119 como *B. megaterium* e mostraram a presença de genes relacionados com a promoção de crescimento de plantas. As duas cepas de *Bacillus* foram capazes de produzir exopolissacarídeos e fixar nitrogênio *in vitro*. No entanto, *B. megaterium* produziu maiores quantidades de AIA e sideróforos, ao passo que *B. thuringiensis* foi caracterizada como melhor formadora de biofilme e solubilizou maior quantidade de fosfato inorgânico. A cepa B116 atingiu a máxima produção de fosfatases mais rapidamente do que a cepa B119. Além disso, as plântulas de milho inoculadas com as duas cepas e submetidas ao estresse hídrico induzido por PEG apresentaram uma maior redução da superfície de raízes finas e aumento das raízes mais grossas, o que resultou em maior peso seco de raiz. Esse remodelamento radicular levou a uma menor perda do peso seco total quando comparado ao controle não inoculado. Além disso, a promoção de crescimento por essas bactérias foi genótipo-dependente. Portanto, a funcionalidade dos genes de promoção de crescimento, foi confirmada pela atividade *in vitro* e pelas avaliações das plantas de milho inoculadas e crescidas em solução nutritiva.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ab Rahman, S. F. S., Singh, E., Pieterse, C. M., and Schenk, P. M. (2018). Emerging microbial biocontrol strategies for plant pathogens. *Plant Sci.* 267, 102-111. doi: 10.1016/j.plantsci.2017.11.012
- Adam, E., Müller, H., Erlacher, A., and Berg, G. (2016). Complete genome sequences of the *Serratia plymuthica* strains 3Rp8 and 3Re4-18, two rhizosphere bacteria with antagonistic activity towards fungal phytopathogens and plant growth promoting abilities. *Stand. Genomic. Sci.* 11:61. doi: 10.1186/s40793-016-0185-3
- Afzal, I., Shinwari, Z. K., Sikandar, S., and Shahzad, S. (2019). Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. *Microbiol. Res.* 221, 36-49. doi: 10.1016/j.micres.2019.02.001
- Ahmed, E., and Holmström, S. J. M. (2014). Siderophores in environmental research: roles and applications. *Microb. Biotechnol.* 7, 196-208. doi: 10.1111/1751-7915.12117
- Ahmed, N. (2009). A flood of microbial genomes-do we need more?. *PLoS One* 4:e5831. doi: 10.1371/journal.pone.0005831
- Al-Ali, A., Deravel, J., Krier, F., Béchet, M., Ongena, M., and Jacques, P. (2018). Biofilm formation is determinant in tomato rhizosphere colonization by *Bacillus velezensis* FZB42. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, 25, 29910-29920. doi: 10.1007/s11356-017-0469-1
- Ali, B., Sabri, A. N., and Hasnain, S. (2010). Rhizobacterial potential to alter auxin content and growth of *Vigna radiata* (L.). *World J. Microbiol. Biotechnol.* 26, 1379-1384. doi: 10.1007/s11274-010-0310-1
- Allard-Massicotte, R., Tessier, L., Lécuyer, F., Lakshmanan, V., Lucier, J. F., Garneau, D., et al. (2016). *Bacillus subtilis* early colonization of *Arabidopsis thaliana* roots involves multiple chemotaxis receptors. *MBio*, 7:e01664-16. doi: 10.1128/mBio.01664-16
- Alori, E. T., and Babalola, O. O. (2018). Microbial inoculants for improve crop quality and human health. *Front. Microbiol.* 9:2213. doi: 10.3389/fmicb.2018.02213
- Alori, E. T., Dare, M. O., and Babalola, O. O. (2017). "Microbial inoculants for soil quality and plant health." in *Sustainable agriculture reviews*, Springer, Cham., 281-307. doi: 10.1007/978-3-319-48006-0_9
- Alves, G. C., de Matos, M. A. V., dos Reis, F. B., Urquiaga, S., and Reis, V. M. (2016). Plant growth promotion by four species of the genus *Burkholderia*. *Plant Soil.* 399, 373-387. doi: 10.1007/s11104-015-2701-4

- Alves, G. C., Videira, S. S., Urquiaga, S., and Reis, V. M. (2015). Differential plant growth promotion and nitrogen fixation in two genotypes of maize by several *Herbaspirillum* inoculants. *Plant Soil*. 387, 307-321. doi: 10.1007/s11104-014-2295-2
- Amaral, F. P., Bueno, J. C. F., Hermes, V. S., and Arisi, A. C. M. (2014). Gene expression analysis of maize seedlings (DKB240 variety) inoculated with plant growth promoting bacterium *Herbaspirillum seropedicae*. *Symbiosis* 62, 41-50. doi: 10.1007/s13199-014-0270-6
- Amaral, F. P., Pankievicz, V. C., Arisi, A. C. M., De Souza, E. M., Pedrosa, F., and Stacey, G. (2016). Differential growth responses of *Brachypodium distachyon* genotypes to inoculation with plant growth promoting rhizobacteria. *Plant Mol. Biol.* 90, 689-697. doi: 10.1007/s11103-016-0449-8
- Ambreetha, S., Chinnadurai, C., Marimuthu, P., and Balachandar, D. (2018). Plant-associated *Bacillus* modulates the expression of auxin-responsive genes of rice and modifies the root architecture. *Rhizosphere* 5, 57-66. doi: 10.1016/j.rhisph.2017.12.001
- Ambrosini, A., Sant'anna, F. H., De Souza, R., Tadra-sfeir, M., Faoro, H., Alvarenga, S. M., Pedrosa, F. O., et al. (2015). Genome sequence of *Bacillus mycoides* B38V, a growth-promoting bacterium of sunflower. *Genome Announc.* 3:e00245-15. doi: 10.1128/genomeA.00245-15
- ANDA (2019). Associação Nacional para difusão de adubos. Estatísticas Macro Indicadores, dados 2018. Disponível em: http://anda.org.br/wp-content/uploads/2018/10/Principais_Indicadores%20_2018.pdf (Acessado em 31 de Março de 2019).
- ANPII (2018). Consumo de inoculantes deve aumentar, 2018. Disponível em: <http://www.anpii.org.br/consumo-de-inoculantes-deve-aumentar/> (Acessado em 06 de Abril de 2019).
- Apel, K., and Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55, 373-399. doi: 10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701
- Araújo, A. E. da S., Baldani, V. L. D., Galisa, P. de S., Pereira, J. A., and Baldani, J. I. (2013). Response of traditional upland rice varieties to inoculation with selected diazotrophic bacteria isolated from rice cropped at the Northeast region of Brazil. *Appl. Soil Ecol.* 64, 49-55. doi: 10.1016/j.apsoil.2012.10.004
- Araújo, E. O., Martins, M. R., Mercante, F. M., Vitorino, A. C. T., and Urquiaga, S. S. (2014). *Herbaspirillum seropedicae* inoculation and nitrogen fertilization on

- nitrogen use efficiency of different maize genotypes. *Afr. J. Agric. Res.* 9, 3025-3031. doi: doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.10.004
- Arcand, M. M., and Schneider, K. D. (2006). Plant-and microbial-based mechanisms to improve the agronomic effectiveness of phosphate rock: a review. *An. Acad. Bras. Ciênc.* 78, 791-807. doi: 10.1590/S0001-37652006000400013
- Arkhipova, T. N., Prinsen, E., Veselov, S. U., Martinenko, E. V., Melentiev, A. I., and Kudoyarova, G. R. (2007). Cytokinin producing bacteria enhance plant growth in drying soil. *Plant Soil.* 292, 305-315. doi: 10.1007/s11104-007-9233-5
- Armada, E., Roldán, A., and Azcon, R. (2014). Differential activity of autochthonous bacteria in controlling drought stress in native *Lavandula* and *Salvia* plants species under drought conditions in natural arid soil. *Microb. Ecol.* 67, 410-420. doi: 10.1007/s00248-013-0326-9
- Arora, N. K., and Verma, M. (2017). Modified microplate method for rapid and efficient estimation of siderophore produced by bacteria. 3 *Biotech*, 7:381. doi: 10.1007/s13205-017-1008-y
- Aryantha, I. N. P., and Hidiyah, A. R. M. (2018). "Colonization and Performance of Diazotroph Endophytic Bacteria on Palm Oil (*Elaeis guineensis* Jacq L.) Leaves" in *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.* (IOP Publishing), 166: 012012. doi: 10.1088/1755-1315/166/1/012012
- Aziz, R. K., Bartels, D., Best, A. A., DeJongh, M., Disz, T., Edwards, R. A. et al. (2008). The RAST Server: rapid annotations using subsystems technology. *BMC genomics*, 9:75. doi:10.1186/1471-2164-9-75
- Babalola, O. O. (2010). Beneficial bacteria of agricultural importance. *Biotechnol Lett.* 32, 1559-1570. doi: 10.1007/s10529-010-0347-0
- Babu, A. G., Kim, J. D., and Oh, B. T. (2013). Enhancement of heavy metal phytoremediation by *Alnus firma* with endophytic *Bacillus thuringiensis* GDB-1. *J. Hazard. Mater.*, 250, 477-483. doi: 10.1016/j.jhazmat.2013.02.014
- Babu, S. V., Triveni, S., Reddy, R. S., and Sathyanarayana, J. (2017). Screening of maize rhizospheric phosphate solubilizing isolates for plant growth promoting characteristics. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 6(10), 2090-2101. doi: 10.20546/ijcmas.2017.610.249
- Bahadir, P. S., Liaqat, F., and Eltem, R. (2018). Plant growth promoting properties of solubilizing *Bacillus* species isolated from the Aegean region of Turkey. *Turk J Bot.* 42, 183-196. doi:10.3906/bot-1706-51

- Barnawal, D., Singh, R., and Singh, R. P. (2019). "Role of plant growth promoting rhizobacteria in drought tolerance: regulating growth hormones and osmolytes." in PGPR Amelioration in Sustainable Agriculture, Woodhead Publishing, 107-128. doi: 10.1016/B978-0-12-815879-1.00006-9
- Bashan, Y., De-Bashan, L. E., Prabhu, S. R., and Hernandez, J. P. (2014). Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998-2013). *Plant Soil*. 378, 1-33. doi: 10.1007/s11104-013-1956-x
- Batista, B. D., Taniguti, L. M., Almeida, J. R., Azevedo, J. L., and Quecine, M. C. (2016). Draft genome sequence of multitrait plant growth-promoting *Bacillus* sp. strain RZ2MS9. *Genome Announc*. 4:e01402-16. doi: 10.1128/genomeA.01402-16
- Behera, B. C., Singdevsachan, S. K., Mishra, R. R., Dutta, S. K., and Thatoi, H. N. (2014). Diversity, mechanism and biotechnology of phosphate solubilizing microorganism in mangrove-A review. *Biocatal Agric Biotechnol* 3, 97-110.
- Berendsen, R. L., Van Verk, M. C., Stringlis, I. A., Zamioudis, C., Tommassen, J., Pieterse, C. M., and Bakker, P. A. (2015). Unearthing the genomes of plant-beneficial *Pseudomonas* model strains WCS358, WCS374 and WCS417. *BMC genomics* 16:539. doi: 10.1186/s12864-015-1632-z
- Bertholdsson, N. O. (2004). Variation in allelopathic activity over 100 years of barley selection and breeding. *Weed Res*. 44, 78-86. doi: 10.1111/j.1365-3180.2003.00375.x
- Bhattacharyya, C., Bakshi, U., Mallick, I., Mukherji, S., Bera, B., and Ghosh, A. (2017). Genome-guided insights into the plant growth promotion capabilities of the physiologically versatile *Bacillus aryabhatai* strain AB211. *Front. Microbiol*. 8:411. doi: 10.3389/fmicb.2017.00411
- Bhattacharyya, P. N., and Jha, D. K. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World J. Microbiol. Biotechnol*. 28, 1327-1350. doi: 10.1007/s11274-011-0979-9
- Bodenhausen, N., Horton, M. W., and Bergelson, J. (2013). Bacterial communities associated with the leaves and the roots of *Arabidopsis thaliana*. *PLoS One* 8:e56329. doi: 10.1371/journal.pone.0056329
- Bodhankar, S., Grover, M., Hemanth, S., Reddy, G., Rasul, S., Yadav, S. K., et al. (2017). Maize seed endophytic bacteria: dominance of antagonistic, lytic enzyme-producing *Bacillus* spp. *3 Biotech* 7:232. doi: 10.1007/s13205-017-0860-0

- Bogino, P. C., Oliva, M. D., Sorroche, F. G., and Giordano, W. (2013). The role of bacterial biofilms and surface components in plant-bacterial associations. *Int J Mol Sci.* 14, 15838-15859. doi: 10.3390/ijms140815838
- Bóka, B., Manczinger, L., Kocsubé, S., Shine, K., Alharbi, N. S., Khaled, J. M., ... and Kredics, L. (2019). Genome analysis of a *Bacillus subtilis* strain reveals genetic mutations determining biocontrol properties. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 35:52. doi: 10.1007/s11274-019-2625-x
- Borah, M., Das, P., Pathak, S. S., Boro, R. C., and Barooah, M. (2017). Phosphate solubilization by endophytic bacteria isolated from *Oryza sativa*. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 6, 2713-2721. doi: 10.20546/ijcmas.2017.610.319
- Breda, F. D. F., Alves, G. C., and Reis, V. M. (2016). Produtividade de milho na presença de doses de N e de inoculação de *Herbaspirillum seropedicae*. *Pesq. agropec. bras.* 51, 45-52. doi: 10.1590/S0100-204X2016000100006
- Bruinsma, J. (2017). World agriculture: towards 2015/2030: an FAO study. London: Routledge. doi: 10.4324/9781315083858
- Brusamarello-Santos, L. C. C., Pacheco, F., Aljanabi, S. M. M., Monteiro, R. A., Cruz, L. M., Baura, V. A., et al. (2012). Differential gene expression of rice roots inoculated with the diazotroph *Herbaspirillum seropedicae*. *Plant Soil.* 356, 113-125. doi: 10.1007/s11104-011-1044-z
- Bruto, M., Prigent-Combaret, C., Muller, D., and Moënne-Loccoz, Y. (2014). Analysis of genes contributing to plant-beneficial functions in plant growth-promoting rhizobacteria and related Proteobacteria. *Sci. Rep.* 4:6261. doi: 10.1038/srep06261
- Bulgarelli, D., Schlaeppi, K., Spaepen, S., Themaat, E. V. L., and Schulze-Lefert, P. (2013). Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. *Annu Rev Plant Biol* 64, 807-838. doi: 10.1146/annurev-arplant-050312-120106
- Butler, A., and Theisen, R. M. (2010). Iron (III)-siderophore coordination chemistry: reactivity of marine siderophores. *Coord Chem Rev.* 254, 288-296. doi: 10.1016/j.ccr.2009.09.010
- Cai, X., Kang, X., Xi, H., Liu, C., and Xue, Y. (2016). Complete genome sequence of the endophytic biocontrol strain *Bacillus velezensis* CC09. *Genome Announc.* 4:e01048-16. doi: 10.1128/genomeA.01048-16
- Camejo, D., Guzmán-Cedeño, Á., and Moreno, A. (2016). Reactive oxygen species, essential molecules, during plant-pathogen interactions. *Plant Physiol. Biochem.* 103, 10-23. doi: 10.1016/j.plaphy.2016.02.035

- Camilios-Neto, D., Bonato, P., Wassem, R., Tadra-Sfeir, M. Z., Brusamarello-Santos, L. C., Valdameri, G., et al. (2014). Dual RNA-seq transcriptional analysis of wheat roots colonized by *Azospirillum brasilense* reveals up-regulation of nutrient acquisition and cell cycle genes. *BMC Genomics* 15:378. doi: 10.1186/1471-2164-15-378
- Cargnelutti Filho, A., Toebe, M., Burin, C., Casarotto, G., and Lúcio, A. D. C. (2011). Métodos de estimativa do tamanho ótimo de parcelas experimentais de híbridos de milho simples, triplo e duplo. *Cienc Rural* 41, 1509-1516.
- Cassan, F., Maiale, S., Masciarelli, O., Vidal, A., Luna, V., and Ruiz, O. (2009). Cadaverine production by *Azospirillum brasilense* and its possible role in plant growth promotion and osmotic stress mitigation. *Eur. J. Soil Biol.* 45, 12-19. doi: 10.1016/j.ejsobi.2008.08.003
- Chagas, F. O., Pessotti, R. C., Caraballo-Rodríguez, A. M., and Pupo, M. T. (2018). Chemical signaling involved in plant-microbe interactions. *Chem. Soc. Rev.* 47, 1652-1704. doi: 10.1039/C7CS00343A
- Chanway, C. P., Nelson, L. M., and Holl, F. B. (1988). Cultivar-specific growth promotion of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) by coexistent *Bacillus* species. *Can. J. Microbiol.* 34, 925-929. doi: doi.org/10.1139/m88-164
- Chaudhry, V., Sharma, S., Bansal, K., and Patil, P. B. (2017). Glimpse into the genomes of rice endophytic bacteria: diversity and distribution of firmicutes. *Front. Microbiol.* 7:2115. doi: 10.3389/fmicb.2016.02115
- Chen, L., Liu, Y., Wu, G., Veronican Njeri, K., Shen, Q., Zhang, N., and Zhang, R. (2016). Induced maize salt tolerance by rhizosphere inoculation of *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9. *Physiol. Plant.* 158, 34-44. doi: doi.org/10.1111/ppl.12441
- Chen, X. H., Koumoutsi, A., Scholz, R., Eisenreich, A., Schneider, K., Heinemeyer, I., et al. (2007). Comparative analysis of the complete genome sequence of the plant growth-promoting bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *Nat. Biotechnol.* 25, 1007-10014. doi: 10.1038/nbt1325
- Chen, Y. P., Rekha, P. D., Arun, A. B., Shen, F. T., Lai, W. A., and Young, C. C. (2006). Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Appl. Soil Ecol.*, 34, 33-41. doi: 10.1016/j.apsoil.2005.12.002
- Chen, Y., Shen, X. Peng, H., Hu, H., Wang, W., and Zhang, X. (2015). Comparative genomic analysis and phenazine production of *Pseudomonas chlororaphis*, a plant growth-promoting rhizobacterium. *Genomics data* 4, 33-42. doi: 10.1016/j.gdata.2015.01.006

- Chen, Y., Yan, F., Chai, Y., Liu, H., Kolter, R., Losick, R., and Guo, J. H. (2013). Biocontrol of tomato wilt disease by *Bacillus subtilis* isolates from natural environments depends on conserved genes mediating biofilm formation. *Environ Microbiol Rep.* 15, 848-864. doi: 10.1111/j.1462-2920.2012.02860.x
- Cherif-Silini, H., Silini, A., Yahiaoui, B., Ouzari, I., and Boudabous, A. (2016). Phylogenetic and plant-growth-promoting characteristics of *Bacillus* isolated from the wheat rhizosphere. *Ann Microbiol* 66, 1087-1097. doi: 10.1007/s13213-016-1194-6
- Chinnaswamy, A., Coba de la Peña, T., Stoll, A., De la Peña R., D., Bravo, J., Rincón, A., et al. (2018). A nodule endophytic *Bacillus megaterium* strain isolated from *Medicago polymorpha* enhances growth, promotes nodulation by *Ensifer medicae* and alleviates salt stress in alfalfa plants. *Ann. Appl. Biol.* 172, 295-308.
- Chu, S., Zhang, D., Zhi, Y., Wang, B., Chi, C. P., Zhang, D. et al. (2018). Enhanced removal of nitrate in the maize rhizosphere by plant growth-promoting *Bacillus megaterium* NCT-2, and its colonization pattern in response to nitrate. *Chemosphere* 208, 316-324. doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.05.189
- Conesa, A., Götz, S., García-Gómez, J. M., Terol, J., Talón, M., and Robles, M. (2005). Blast2GO: a universal tool for annotation, visualization and analysis in functional genomics research. *Bioinformatics*, 21, 3674-3676. doi: 10.1093/bioinformatics/bti610
- Crossa, J., Pérez-Rodríguez, P., Cuevas, J., Montesinos-López, O., Jarquín, D., de los Campos, G., et al. (2017). Genomic selection in plant breeding: methods, models, and perspectives. *Trends Plant Sci.* 22, 961-975. doi: 10.1016/j.tplants.2017.08.011
- Cruz, J. C., and Pereira Filho, I. A. (2006). Cuidados na escolha da cultivar de milho. Comunicado Técnico, 133. Embrapa Milho e Sorgo - Comunicado Técnico (INFOTECA-E).
- Dai, Z., Guo, X., Yin, H., Liang, Y., Cong, J., and Liu, X. (2014). Identification of nitrogen-fixing genes and gene clusters from metagenomic library of acid mine drainage. *PLoS One* 9:e87976. doi: 10.1371/journal.pone.0087976
- D'Alessandro, M., Erb, M., Ton, J., Brandenburg, A., Karlen, D., Zopfi, J., and Turlings, T. C. (2014). Volatiles produced by soil-borne endophytic bacteria increase plant pathogen resistance and affect tritrophic interactions. *Plant Cell Environ.* 37, 813-826. doi: 10.1111/pce.12220
- Dar, Z. M., Rouf, A., Masood, A., Asif, M., and Malik, M. A. (2018). Review on plant growth promoting rhizobacteria and its effect on plant growth. *J Pharmacogn Phytochem.* 7, 2802-2804.

- Davies, P. J. (1995). *Plant hormones: physiology, biochemistry and molecular biology*. Kluwer Academic, Boston. doi: 10.1007/978-94-011-0473-9
- de Araujo, F. F., Foloni, J. S. S., Wutzke, M., Melegari, A. D. S., and Rack, E. (2013). Híbridos e variedades de milho submetidos à inoculação de sementes com *Herbaspirillum seropedicae*. *Semina: Ciênc. Agrár.* 34, 1043-1053. doi: 10.5433/1679-0359.2013v34n3p1043
- de Sousa, S. M., Clark, R. T., Mendes, F. F., de Oliveira, A. C., de Vasconcelos, M. J. V., Parentoni, S. N., et al. (2012). A role for root morphology and related candidate genes in P acquisition efficiency in maize. *Funct. Plant Biol.* 39, 925-935. doi: 10.1071/FP12022
- de Sousa, S. M., de Oliveira, C. A., Gomes, E. A., Lana, U. D. P., Santos, N. G., Oliveira, L. B., and Batista, F. D. C. (2016). "Avaliação de plântulas de milho em solução nutritiva sob a ação de bioestimulantes à base de microrganismos". in *Embrapa Milho e Sorgo-Artigo em anais de congresso (ALICE)* in: Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 31.
- de Sousa, S. M., Oliveira, C. A., Andrade, D. L., Carvalho, C. G., Ribeiro, V. P., Pastina, M. M., et al. (2019). Tropical *Bacillus* strains inoculation enhance maize root surface area, dry weight, nutrient uptake and grain yield. *Plant Soil*, in press.
- Delvasto, P., Valverde, A., Ballester, A., Igual, J. M., Muñoz, J. A., González, F., et al. (2006). Characterization of brushite as a re-crystallization product formed during bacterial solubilization of hydroxyapatite in batch cultures. *Soil Biol. Biochem.* 38, 2645-2654. doi: 10.1016/j.soilbio.2006.03.020
- Deng, J., Orner, E. P., Chau, J. F., Anderson, E. M., Kadilak, A. L., Rubinstein, R. L., et al. (2015). Synergistic effects of soil microstructure and bacterial EPS on drying rate in emulated soil micromodels. *Soil Biol. Biochem.* 83, 116-124. doi: 10.1016/j.soilbio.2014.12.006
- Dias, A. C., Costa, F. E., Andreote, F. D., Lacava, P. T., Teixeira, M. A., Assumpção, L. C., et al. (2009). Isolation of micropropagated strawberry endophytic bacteria and assessment of their potential for plant growth promotion. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 25, 189-195. doi: 10.1007/s11274-008-9878-0
- Díaz De León, J. L., Castellanos, T., Ling, J., Rojas-Hernández, A., and Röder, M.S. (2015). Quantitative trait loci underlying the adhesion of *Azospirillum brasilense* cells to wheat roots. *Euphytica* 204, 81-90. doi: 10.1007/s10681-014-1334-7
- Dimkpa, C. O., Svatos, A., Dabrowska, P., Schmidt, A., Boland, W., and Kothe, E. (2008). Involvement of siderophores in the reduction of metal-induced inhibition of auxin synthesis in *Streptomyces* spp. *Chemosphere* 74, 19-25. doi: 10.1016/j.chemosphere.2008.09.079

- Döbereiner, J. (1989). "Isolation and identification of root associated diazotrophs." in Nitrogen fixation with non-legumes, Springer, Dordrecht, 103-108. doi: 10.1007/978-94-009-0889-5_13
- Doornbos, R. F., Van Loon, L. C., and Bakker, P. A. H. M. (2012). Impact of root exudates and plant defense signaling on bacterial communities in the rhizosphere. A review. *Agron Sustain Dev* 32, 227-243. doi: 10.1007/s13593-011-0028-y
- Dos Santos, S. G., Da Silva, R. F., Alves, G. C., Santos, L. A., and Reis, V. M. (2019). Inoculation with five diazotrophs alters nitrogen metabolism during the initial growth of sugarcane varieties with contrasting responses to added nitrogen. *Plant Soil*. 438, 1-20. doi: 10.1007/s11104-019-04101-1
- Doussan, C., Vercambre, G., Pages, L. (1998). Modelling of the hydraulic architecture of root systems: an integrated approach to water absorption-distribution of axial and radial conductances in maize. *Ann. Bot.* 81, 225-232. doi: 10.1006/anbo.1997.0541
- Drinkwater, L. E., and Snapp, S. S. (2007) "Understanding and managing the rhizosphere in agroecosystems." in Cardon, Z. G., Whitbeck, J. L. (eds) The rhizosphere (Academic Press, Burlington), 127-153. doi: 10.1016/B978-012088775-0/50008-2
- Duca, D., Lorv, J., Patten, C. L., Rose, D., and Glick, B. R. (2014). Indole-3-acetic acid in plant-microbe interactions. *Antonie Van Leeuwenhoek* 106, 85-12. doi: 10.1007/s10482-013-0095-y
- Duvick, D. N. (2005) The contribution of breeding to yield advances in maize (*Zea mays* L.). *Adv. Agron.* 86, 83-145. doi: 10.1016/S0065-2113(05)86002-X
- Egidi, E., Wood, J. L., Mathews, E., Fox, E., Liu, W., and Franks, A. E. (2016). Draft genome sequence of *Bacillus cereus* LCR12, a plant growth-promoting rhizobacterium isolated from a heavy metal-contaminated environment. *Genome Announc.* 4:e01041-16.
- Ehling-Schulz, M., Koehler, T. M., and Lereclus, D. (2019). The *Bacillus cereus* group: *Bacillus* species with pathogenic potential. *Microbiol. Spectr* 7:3. doi: 10.1128/microbiolspec.GPP3-0032-2018
- Esmaeel, Q., Sanchez, L., Robineau, M., Dorey, S., Clément, C., Jacquard, C., and Barka; E. A. (2018). Draft Genome Sequence of Plant Growth-Promoting *Burkholderia* sp. strain BE12, Isolated from the Rhizosphere of Maize. *Genome Announc.* 6:e00299-18. doi: 10.1128/genomeA.00299-18

- Fahad, S., Bajwa, A. A., Nazir, U., Anjum, S. A., Farooq, A., Zohaib, A., et al. (2017). Crop production under drought and heat stress: plant responses and management options. *Front. Plant Sci.* 8:1147. doi: 10.3389/fpls.2017.01147
- Faheed, F., Mohamed, E., and Mahmoud, H. (2016). Improvement of maize crop yield (*Zea mays* L.) by using of nitrogen fertilization and foliar spray of some activators. *J. Ecol. Health Environ.* 4, 33-47. doi: 10.18576/jehe/040105
- Fan, B., Blom, J., Klenk, H. P., and Borriss, R. (2017). *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus velezensis*, and *Bacillus siamensis* form an “operational group *B. amyloliquefaciens*” within the *B. subtilis* species complex. *Front. Microbiol* 8:22. doi: 10.3389/fmicb.2017.00022
- FAO - Food and Agricultural Organization (2019). FAOSTAT, FAO Statistical Databases. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#home> (Acessado em 31 de Março de 2019).
- Ferreira, D. F. (2011). Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciênc. agrotec.* 35, 1039-1042. doi: 0.1590/S1413-70542011000600001
- Fita, A., Rodríguez-Burruezo, A., Boscaiu, M., Prohens, J., and Vicente, O. (2015). Breeding and domesticating crops adapted to drought and salinity: a new paradigm for increasing food production. *Front Plant Sci* 6:978. doi: 10.3389/fpls.2015.00978
- Flemming, H. C., Wingender, J., Szewzyk, U., Steinberg, P., Rice, S. A., and Kjelleberg, S. (2016). Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nat. Rev. Microbiol.* 14, 563-575. doi: 10.1038/nrmicro.2016.94
- Gadhav, K. R., Devlin, P. F., Ebertz, A., Ross, A., and Gange, A. C. (2018). Soil inoculation with *Bacillus* spp. modifies root endophytic bacterial diversity, evenness, and community composition in a context-specific manner. *Microb. Ecol.*, 76, 741-750. doi: 10.1007/s00248-018-1160-x
- García-Lara, S., and Serna-Saldivar, S. O. (2019). “Corn History and Culture.” in Corn. AACC International Press, 1-18. doi: 10.1016/B978-0-12-811971-6.00001-2
- Ghavami, N., Alikhani, H. A., Pourbabaei, A. A., and Besharati, H. (2017). Effects of two new siderophore-producing rhizobacteria on growth and iron content of maize and canola plants. *J. Plant Nutr.* 40, 736-746. doi: 10.1080/01904167.2016.1262409
- Ghyselinck, J., Velivelli, S. L. S., Heylen, K., O’Herlihy, E., Franco, J., Rojas, M. et al. (2013). Bioprospecting in potato fields in the Central Andean Highlands: screening of rhizobacteria for plant growth-promoting properties. *Syst. Appl. Microbiol.* 36, 116-127. doi: 10.1016/j.syapm.2012.11.007

- Glick, B.R. (2012). Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. Hindawi Publishing Corporation, *Scientifica*, 1-15. doi: 10.6064/2012/963401
- Gnanamanickam, S. S., and Immanuel, J. E. (2007). "Epiphytic bacteria, their ecology and functions." in Plant-associated bacteria, Springer, Dordrecht, 131-153. doi: 10.1007/978-1-4020-4538-7_4
- Gopal, M., and Gupta, A. (2016). Microbiome selection could spur next-generation plant breeding strategies. *Front Microbiol.* 1-10. doi: 10.3389/fmicb.2016.01971
- Greene, G. L., Leppla, N. C., and Dickerson, W. A. (1976). Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. *J. Econ. Entomol.* 69, 487-488. doi: 10.1093/jee/69.4.487
- Guimarães, D. P., Costa, F. A. A., Rodrigues, M. I., and Maugeri, F. (1999) Optimization of dextran synthesis and acidic hydrolysis by surface response analysis. *Braz. J. Chem. Eng.* 16, 129-139. doi: 10.1590/S0104-66321999000200004
- Guo, S., Li, X., He, P., Ho, H., Wu, Y., and He, Y. (2015). Whole-genome sequencing of *Bacillus subtilis* XF-1 reveals mechanisms for biological control and multiple beneficial properties in plants. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 42, 925-937. doi: 10.1007/s10295-015-1612-y
- Gupta, A., Gopal, M., Thomas, G. V., Manikandan, V., Gajewski, J., Thomas, G., et al. (2014). Whole genome sequencing and analysis of plant growth promoting bacteria isolated from the rhizosphere of plantation crops coconut, cocoa and arecanut. *PLoS One* 9:e104259. doi: 10.1371/journal.pone.0104259
- Habib, S. H., Kausar, H., and Saud, H. M. (2016). Plant growth-promoting rhizobacteria enhance salinity stress tolerance in okra through ROS-scavenging enzymes. *BioMed Res. Int.* 2016:6284547. doi: 10.1155/2016/6284547
- Hardoim, P. R., Van Overbeek, L. S., and Van Elsas, J. D. (2008). Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. *Trends Microbiol.* 16, 463-71. doi: 10.1016/j.tim.2008.07.008
- Harshey, R. M. (2003). Bacterial motility on a surface: many ways to a common goal. *Ann. Rev. Microbiol.* 57, 249-273. doi: 10.1146/annurev.micro.57.030502.091014
- Hassani, M. A., Durán, P., and Hacquard, S. (2018). Microbial interactions within the plant holobiont. *Microbiome* 6:58. doi: 10.1186/s40168-018-0445-0
- Hermenau, R., Ishida, K., Gama, S., Hoffmann, B., Pfeifer-Leeg, M., Plass, W., et al. (2018). Gramibactin is a bacterial siderophore with a diazeniumdiolate ligand system. *Nat. Chem. Biol.* 14, 841-843. doi: 10.1038/s41589-018-0101-9

- Ho, M. D., Rosas, J. C., Brown, K. M., and Lynch, J. P. (2005). Root architectural tradeoffs for water and phosphorus acquisition. *Funct. Plant Biol.* 32, 737-748. doi: 10.1071/FP05043
- Hong, C.E., and Park, J. M. (2016). Endophytic bacteria as biocontrol agents against plant pathogens: current state-of-the-art. *Plant Biotechnol. Rep.* 10, 353-357. doi: 10.1007/s11816-016-0423-6
- Huang, F. L., Zhang, Y., Zhang, L. P., Wang, S., Feng, Y., and Rong, N. H. (2019). Complete genome sequence of *Bacillus megaterium* JX285 isolated from *Camellia oleifera* rhizosphere. *Comput. Biol. Chem.* 79, 1-5. doi: 10.1016/j.compbiolchem.2018.12.024
- Huerta-Cepas, J., Forslund, K., Coelho, L. P., Szklarczyk, D., Jensen, L. J., Von Mering, C., and Bork, P. (2017). Fast genome-wide functional annotation through orthology assignment by eggNOG-mapper. *Mol. Biol. Evol.* 34, 2115-2122. doi: 10.1093/molbev/msx148
- Hungria, M., and Mendes, I. C. (2015). "Nitrogen fixation with soybean: the perfect symbiosis?" in: De Bruijn, F. 3 (Ed.) Biological nitrogen fixation. Chapter 99. 4 New Jersey: John Wiley and Sons, Inc., 2, 1005-1019. doi: 10.1002/9781119053095.ch99.
- Hussein, K. A., and Joo, J. H. (2015). Isolation and characterization of rhizomicrobial isolates for phosphate solubilization and indole acetic acid production. *J. Korean Soc. Appl. Bi.* 58, 847-55. doi: 10.1007/s13765-015-0114-y
- Ibarra-Galeana, J. A., Castro-Martínez, C., Fierro-Coronado, R. A., Armenta-Bojórquez, A. D., and Maldonado-Mendoza, I. E. (2017). Characterization of phosphate-solubilizing bacteria exhibiting the potential for growth promotion and phosphorus nutrition improvement in maize (*Zea mays* L.) in calcareous soils of Sinaloa, Mexico. *Ann Microbiol* 67, 801-811. doi: 10.1007/s13213-017-1308-9
- Jabeen, F., Shahbaz, M., and Ashraf, M. (2008). Discriminating some prospective cultivars of maize (*Zea mays* L.) for drought tolerance using gas exchange characteristics and proline contents as physiological markers. *Pak. J. Bot* 40, 2329-2343.
- Jha, C. K., and Saraf, M. (2015). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): a review. *J Agric Res.* 5, 108-119. doi: 10.13140/RG.2.1.5171.2164
- Jha, P., Panwar, J., and Jha, P. N. (2018). Mechanistic insights on plant root colonization by bacterial endophytes: a symbiotic relationship for sustainable agriculture. *Environmental Sustainability* 1, 1-14. doi: 10.1007/s42398-018-0011-5

- Jiang, C. H., Chen, Y., Yan, F., Fan, Z. H., and Guo, J. H. (2017). Whole-genome sequence of *Bacillus cereus* AR156, a potential biocontrol agent with high soilborne disease biocontrol efficacy and plant growth promotion. *Genome Announc.* 5:e00886-17. doi: 10.1128/genomeA.00886-17
- Johnston-Monje, D., and Raizada, M.N. (2011). Conservation and diversity of seed associated endophytes in *Zea* across boundaries of evolution, Ethnography and Ecology. *PLoS One* 6:e20396. doi: 10.1371/journal.pone.0020396
- Jurkevitch, E., Hadar, Y., and Chen, Y. (1986). The remedy of lime-induced chlorosis in peanuts by pseudomonas sp. siderophores. *J. Plant Nutr.* 9, 535-545. doi: 10.1080/01904168609363464
- Kai, M., Haustein, M., Molina, F., Petri, A., Scholz, B., and Piechulla, B. (2009) Bacterial volatiles and their action potential. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 81, 1001-1012. doi: 10.1007/s00253-008-1760-3
- Kasim, W. A., Gaafar, R. M., Abou-Ali, R. M., Omar, M. N., and Hewait, H. M. (2016). Effect of biofilm forming plant growth promoting rhizobacteria on salinity tolerance in barley. *Ann. Agric. Sci.* 61, 217-227. doi: 10.1016/j.aoas.2016.07.003
- Kavamura, V. N., Santos, S. N., da Silva, J. L., Parma, M. M., Ávila, L. A., Visconti, A., et al. (2013). Screening of Brazilian cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought. *Microbiol. Res.* 168, 183-191. doi: 10.1016/j.micres.2012.12.002
- Kavamura, V. N., Santos, S. N., Taketani, R. G., Vasconcellos, R. L. F., and Melo, I. S. (2017). Draft Genome Sequence of Plant Growth-Promoting Drought-Tolerant *Bacillus* sp. Strain CMAA 1363 Isolated from the Brazilian Caatinga Biome. *Genome Announc.* 5:e01534-16. doi: 10.1128/genomeA.01534-16
- Kazi, N., Deaker, R., Wilson, N., Muhammad, K., and Trethowan, R. (2016). The response of wheat genotypes to inoculation with *Azospirillum brasilense* in the field. *Field Crops Res.* 196, 368-378. doi: 10.1016/j.fcr.2016.07.012
- Khan, A. R., Park, G. S., Asaf, S., Hong, S. J., Jung, B. K., and Shin, J. H. (2017). Complete genome analysis of *Serratia marcescens* RSC-14: A plant growth-promoting bacterium that alleviates cadmium stress in host plants. *PLoS One* 12:e0171534. doi: 10.1371/journal.pone.0171534
- Khan, M. M. A., Khatun, A., and Islam, M. T. (2016). Promotion of plant growth by phytohormone producing bacteria. Garg N, Aeron A. *Microbes in Action*. USA: Nova Science Publishers, 45-76.
- Khan, M. S., Zaidi, A., and Wani, P. A. (2007). Role of phosphate-solubilizing microorganisms in sustainable agriculture-a review. *Agron. Sustain. Dev.* 27, 29-43. doi: 10.1051/agro:2006011

- Kiers, E. T., Hutton, M. G., and Denison, R. F. (2007) Human selection and the relaxation of legume defences against ineffective rhizobia. *Proc R Soc Lond [Biol]* 274, 3119-3126. doi: 10.1098/rspb.2007.1187
- Kim, S. Y., Song, H., Sang, M. K., Weon, H. Y., and Song, J. (2017). The complete genome sequence of *Bacillus velezensis* strain GH1-13 reveals agriculturally beneficial properties and a unique plasmid. *J. Biotechnol.* 259, 221-227. doi: 10.1016/j.jbiotec.2017.06.1206
- Kobayashi, T., and Nishizawa, N. K. (2012). Iron uptake, translocation, and regulation in higher plants. *Ann. Rev. Plant Biol.* 63, 131-152. doi: 10.1146/annurev-arplant-042811-105522
- Koskinen, P., Törönen, P., Nokso-Koivisto, J., and Holm, L. (2015). PANNZER: high-throughput functional annotation of uncharacterized proteins in an error-prone environment. *Bioinformatics* 31, 1544-1552. doi: 10.1093/bioinformatics/btu851
- Kroll, S., Agler, M. T., and Kemen, E. (2017). Genomic dissection of host-microbe and microbe-microbe interactions for advanced plant breeding. *Curr. Opin. Plant Biol.* Elsevier Ltd. 36, 71-78. doi: 10.1016/j.pbi.2017.01.004
- Kuan, K. B., Othman, R., Rahim, K. A., and Shamsuddin, Z. H. (2016). Plant growth-promoting rhizobacteria inoculation to enhance vegetative growth, nitrogen fixation and nitrogen remobilisation of maize under greenhouse conditions. *PLoS One* 11: e0152478. doi: 10.1371/journal.pone.0152478
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., and Tamura, K. (2018). MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular biology and evolution*, 35, 1547-1549. doi: 10.1093/molbev/msy096
- Landgraf, L. (2018). Mapa homologa coleção de microrganismos da Embrapa Soja para o uso em inoculantes, 2018. Disponível em: <https://www.embrapa.br/soja/busca-de-noticias/-/noticia/32796475/mapa-homologa-colecao-de-microrganismos-da-embrapa-soja-para-o-uso-em-inoculantes> (Acessado em 06 de Abril de 2019)
- Lebre, P. H., Maayer, P. D., and Cowan, D. A. (2017). Xerotolerant bacteria: surviving through a dry spell. *Nat. Rev. Microbiol.* 15, 285-296. doi: 10.1038/nrmicro.2017.16
- Lemanceau, P., Barret, M., Blouin, M., Mazurier, S., and Pivato, B. (2018). Plant-Microorganism Interactions in the Rhizosphere. *Soils as a Key Component of the Critical Zone 6: Ecology* 6, 57-81. doi: 10.1002/9781119438274.ch4
- Lenth, R. (2019). emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means. R package version 1.3.4. Disponível em: <https://cran.r->

project.org/web/packages/emmeans/emmeans.pdf (Acessado em 06 de Abril de 2019).

- Li, H. Q., and Jiang, X. W. (2017). Inoculation with plant growth-promoting bacteria (PGPB) improves salt tolerance of maize seedling. *Russ. J. Plant Physiol.* 64, 235-241. doi: 10.1134/S1021443717020078
- Lim, Y. L., Yong, D., Ee, R., Krishnan, T., Tee, K. K., Yin, W. F., and Chan, K. G. (2015). Complete genome sequence of *Serratia fonticola* DSM 4576T, a potential plant growth promoting bacterium. *Res. J. Biotechnol.* 214, 43-44. doi: 10.1016/j.jbiotec.2015.09.005
- Liu, C., Muchhal, U. S., Uthappa, M., Kononowicz, A. K., Raghothama, K. G. (1998). Tomato phosphate transporter genes are differentially regulated in plant tissues by phosphorus. *Plant Physiology* 116, 91-99. doi: 10.1104/pp.116.1.91
- Liu, Y., Lai, Q., Dong, C., Sun, F., Wang, L., Li, G., and Shao, Z. (2013). Phylogenetic diversity of the *Bacillus pumilus* group and the marine ecotype revealed by multilocus sequence analysis. *PLoS One* 8:e80097. doi: 10.1371/journal.pone.0080097
- Liu, Y., Lai, Q., Göker, M., Meier-Kolthoff, J. P., Wang, M., Sun, Y., et al. (2015). Genomic insights into the taxonomic status of the *Bacillus cereus* group. *Sci. Rep.* 5:14082. doi: 10.1038/srep14082
- Loper, J. E., and Gross, H. (2007). "Genomic analysis of antifungal metabolite production by *Pseudomonas fluorescens* Pf-5." in *New Perspectives and Approaches in Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Research*. Springer, Dordrecht, 265-278. doi: 10.1007/978-1-4020-6776-1_4
- Lynch, J. P., and Brown, K. M. (2012). New roots for agriculture: exploiting the root phenome. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 367, 1598-1604. doi: 10.1098/rstb.2011.0243
- Lyra, D. H., De Freitas, M. L., Galli, G., Alves, F. C., Granato, Í. S. C., and Fritschete-Neto, R. (2017). Multi-trait genomic prediction for nitrogen response indices in tropical maize hybrids. *Mol Breed.* 37-80. doi: 10.1007/s11032-017-0681-1
- Ma, J., Wang, C., Wang, H., Liu, K., Zhang, T., Yao, L., et al. (2018). Analysis of the complete genome sequence of *Bacillus atrophaeus* GQJK17 reveals its biocontrol characteristics as a plant growth-promoting rhizobacterium. *BioMed Res. Int.* 947:3542. doi: 10.1155/2018/9473542
- Maheshwari, D. K., Dheeman, S., and Agarwal, M. (2015). "Phytohormone-producing PGPR for sustainable agriculture." in *Bacterial metabolites in sustainable agroecosystem*, Springer, Cham, 159-182. doi: 10.1007/978-3-319-24654-3_7

- Mancosu, N., Snyder, R., Kyriakakis, G., and Spano, D. (2015). Water scarcity and future challenges for food production. *Water* 7, 975-992. doi: 10.3390/w7030975
- Martinez, E. L., and Fernandez, F. J. B. (2019). "Economics of Production, Marketing and Utilization." in Corn, *AACC International Press*, 87-107. doi: 10.1016/B978-0-12-811971-6.00004-8
- Masalha, J., Kosegarten, H., Elmaci, Ö., and Mengel, K. (2000). The central role of microbial activity for iron acquisition in maize and sunflower. *Biol Fertil Soils* 30, 433-439. doi: 10.1007/s003740050021
- Mehta, P., Chauhan, A., Mahajan, R., Mahajan, P. K., and Shirkot, C. K. (2010). Strain of *Bacillus circulans* isolated from apple rhizosphere showing plant growth promoting potential. *Curr. Sci.* 98, 538-542.
- Melo, L. (2018). Bactéria do bem na soja - uso intensivo de biofertilizante pode gerar economia de US\$ 20 bilhões por ano em adubação química e ainda reduzir emissões de gás carbônico por safra, 2018. Disponível em: <https://projetocolabora.com.br/conteudo-marca/bacteria-na-soja/> (Acessado em 06 de Abril de 2019)
- Meng, Q., Jiang, H., and Hao, J.J. (2016). Effects of *Bacillus velezensis* strain BAC03 in promoting plant growth. *Biol. Control.* 98, 18-26. doi: 10.1016/j.biocontrol.2016.03.010
- Mengel, K. (1994). "Iron availability in plant tissues - iron chlorosis on calcareous soils." in Iron Nutrition in Soils and Plants, Abadia, J. (ed.), Dordrecht, The Netherlands: Kluwer, 389-397. doi: 10.1007/BF00008070
- Mohite, B. (2013). Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 13, 638-649. doi: 10.4067/S0718-95162013005000051
- Mommer, L., Kirkegaard, J., and Van Ruijven, J. (2016). Root-root interactions: towards a rhizosphere framework. *Trends Plant Sci.* 21, 209-217. doi: 10.1016/j.tplants.2016.01.009
- Montanez, A., Blanco, A. R., Barlocco, C., Beracochea, M., and Sicardi, M (2012). Characterization of cultivable putative endophytic plant growth promoting bacteria associated with maize cultivars (*Zea mays* L.) and their inoculation effects *in vitro*. *Appl. Soil Ecol.* 58, 21-28. doi: 10.1016/j.apsoil.2012.02.009
- Montoya, R. I. R., Cota, F. I. P., and De Los Santos Villalobos, S. (2019). Draft genome sequence of *Bacillus megaterium* TRQ8, a plant growth-promoting bacterium isolated from wheat (*Triticum turgidum* subsp. *durum*) rhizosphere in the Yaqui Valley, Mexico. *3 Biotech* 9:201. doi: 10.1007/s13205-019-1726-4

- Munjal, V., Nadakkakath, A. V., Sheoran, N., Kundu, A., Venugopal, V., Subaharan, K., and Kumar, A. (2016). Genotyping and identification of broad spectrum antimicrobial volatiles in black pepper root endophytic biocontrol agent, *Bacillus megaterium* BP17. *Biol. Control* 92, 66-76. doi: 10.1016/j.biocontrol.2015.09.005
- Murphy, J. A. M. E. S., and Riley, J.P. (1962). A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta* 27, 31-36. doi: 10.1016/S0003-2670(00)88444-5
- Mus, F., Crook, M. B., Garcia, K., Costas, A. G., Geddes, B. A., Kouri, E. D. et al. (2016). Symbiotic nitrogen fixation and the challenges to its extension to nonlegumes. *Appl. Environ. Microbiol.* 82, 3698-3710. doi: 10.1128/AEM.01055-16
- Nascimento, F. X., Rossi, M. J., and Glick, B.R. (2018). Ethylene and 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) in plant-bacterial interactions. *Front. Plant Sci.* 9:114. doi: 10.3389/fpls.2018.00114
- Naumann, G., Alfieri, L., Wyser, K., Mentaschi, L., Betts, R. A., Carrao, H., et al. (2018). Global changes in drought conditions under different levels of warming. *Geophys. Res. Lett.* 45, 3285-3296. doi:10.1002/2017GL076521
- Nautiyal, C. S. (1999). An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiol Lett* 170, 265-270. doi: 10.1111/j.1574-6968.1999.tb13383.x
- Nazir, N., Kamili, A. N., Shah, D. (2018). Mechanism of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) in enhancing plant growth-A Review. *Int. J. Eng. Res. Manag. Technol.* 8, 709-721.
- Ngumbi, E., and Kloepper, J. (2016). Bacterial-mediated drought tolerance: current and future prospects. *Appl. Soil Ecol.* 105, 109-125. doi: 10.1016/j.apsoil.2016.04.009
- Niazi, A., Manzoor, S., Asari, S., Bejai, S., Meijer, J., and Bongcam-Rudloff, E. (2014). Genome analysis of *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* UCMB5113: a rhizobacterium that improves plant growth and stress management. *PLoS One* 9:e104651. doi: 10.1371/journal.pone.0104651
- Nocker, A., Fernández, P. S., Montijn, R., and Schuren, F. (2012). Effect of air drying on bacterial viability: A multiparameter viability assessment. *J. Microbiol. Methods* 90, 86-95. doi: 10.1016/j.mimet.2012.04.015
- Numan, M., Bashir, S., Khan, Y., Mumtaz, R., Shinwari, Z. K., Khan, A. L., Khan, A., and Ahmed, A. H. (2018). Plant growth promoting bacteria as an alternative

- strategy for salt tolerance in plants: a review. *Microbiol. Res.* 209, 21-32. doi: 10.1016/j.micres.2018.02.003
- Oliveira, A. L. M., Urquiaga, S., and Baldani, J. I. (2003). Processos e mecanismos envolvidos na influência de microrganismos sobre o crescimento vegetal. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 40, (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 161).
- Oliveira, C. A., Alves, V. M. C., Marriel, I. E., Gomes, E. A., Scotti, M. R., Carneiro, N. P., and Sa, N. M. H. (2009). Phosphate solubilizing microorganisms isolated from rhizosphere of maize cultivated in an oxisol of the Brazilian Cerrado Biome. *Soil Biol. Biochem.* 41, 1782-1787.
- Oliveira, C. A., Oliveira, M., Marriel, I., de Souza, F. A., Valicente, F., and Cota, L. (2013). Manual de Gestão da Coleção de Microrganismos Multifuncionais e Fitopatogênicos da Embrapa Milho e Sorgo (CMMF). Embrapa Milho e Sorgo - Documentos (INFOTECA-E).
- Overbeek, R., Olson, R., Pusch, G. D., Olsen, G. J., Davis, J. J., Disz, T., et al. (2014). The SEED and the Rapid Annotation of microbial genomes using Subsystems Technology (RAST). *Nucleic Acids Res.* 42, D206-D214. doi: 10.1093/nar/gkt1226
- Overvoorde, P., Fukaki, H., and Beeckman, T. (2010). Auxin control of root development. *CSH Perspect. Biol.* 2:a001537. doi: 10.1101/cshperspect.a001537
- Pahari, A., and Mishra, B. B. (2017). Characterization of siderophore producing Rhizobacteria and its effect on growth performance of different vegetables. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci* 6, 1398-1405. doi: 10.20546/ijcmas.2017.605.152
- Pahari, A., Pradhan, A., Nayak, S. K., and Mishra, B. B. (2017). "Bacterial Siderophore as a Plant Growth Promoter." in *Microbial Biotechnology*, Springer, Singapore, 163-180. doi: 10.1007/978-981-10-6847-8_7
- Palma, L., Muñoz, D., Berry, C., Murillo, J., and Caballero, P. (2014). *Bacillus thuringiensis* toxins: an overview of their biocidal activity. *Toxins* 6, 3296-3325. doi: 10.3390/toxins6123296
- Pankievicz, V. C., Do Amaral, F. P., Santos, K. F., Agtuca, B., Xu, Y., Schueller, M. J., and Stacey, G. (2015). Robust biological nitrogen fixation in a model grass-bacterial association. *Plant J.* 81, 907-919. doi: 10.1111/tpj.12777
- Parnell, J. J., Berka, R., Young, H. A., Sturino, J. M., Kang, Y., Barnhart, D. M., and Dileo, M. V. (2016). From the lab to the farm: an industrial perspective of plant beneficial microorganisms. *Front. Plant Sci.* 7:1110. doi: 10.3389/fpls.2016.01110

- Passioura, J. B. (1988). Water transport in and to roots. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 39, 245-265. doi: 10.1146/annurev.pp.39.060188.001333
- Pathma, J., Kennedy, R. K., and Sakthivel, N. (2011). "Mechanisms of fluorescent pseudomonads that mediate biological control of phytopathogens and plant growth promotion of crop plants." in *Bacteria in agrobiology: Plant growth responses*. Springer, Berlin, Heidelberg, 77-105. doi: 10.1007/978-3-642-20332-9_4
- Patten, C. L., and Glick, B.R. (1996). Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. *Can. J. Microbiol.* 42, 207-220. doi: 10.1139/m96-032
- Paulo, E. M., Vasconcelos, M. P., Oliveira, I. S., Affe, H. M. D. J., Nascimento, R., Melo, I. S. D., et al. (2012). An alternative method for screening lactic acid bacteria for the production of exopolysaccharides with rapid confirmation. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 32, 710-714. doi: 10.1590/S0101-20612012005000094
- Periyasamy, A., Kkani, P., Chandrasekaran, B., Ponnusamy, S., Viswanathan, S., Selvanayagam, P., and Rajaiah, S. (2016). Screening and characterization of a non-insecticidal *Bacillus thuringiensis* strain producing parasporal protein with selective toxicity against human colon cancer cell lines. *Ann Microbiol* 66, 1167-1178. doi: 10.1007/s13213-016-1204-8
- Pessoa, A. C. S., Luchese, E. B., and Luchese, A. V. (2000). Germinação e desenvolvimento inicial de plantas de milho, em resposta ao tratamento de sementes com boro. *R. Bras. Ci. Solo* 24, 939-945.
- Pinter, I. F., Salomon, M. V., Berli, F., Bottini, R., and Piccoli, P. (2017). Characterization of the As (III) tolerance conferred by plant growth promoting rhizobacteria to in vitro-grown grapevine. *Appl. Soil Ecol.* 109, 60-68. doi: 10.1016/j.apsoil.2016.10.003
- Posada, D. (2008). jModelTest: phylogenetic model averaging. *Mol. Biol. Evol.* 25, 1253-1256. doi: 10.1093/molbev/msn083
- Prakash, J., and Arora, N. K. (2019). Phosphate-solubilizing *Bacillus* sp. enhances growth, phosphorus uptake and oil yield of *Mentha arvensis* L. *3 Biotech* 9:126. doi: 10.1007/s13205-019-1660-5
- Qin, Y., Han, Y., Yu, Y., Shang, Q., Zhang, B., and Li, P. (2015). Complete genome sequence of *Bacillus amyloliquefaciens* L-S60, a plant growth-promoting and antifungal bacterium. *J. Biotechnol.* 212, 67-68. doi: 10.1016/j.jbiotec.2015.08.008
- Raghuwanshi, R., and Prasad, J. K. (2018). "Perspectives of Rhizobacteria with ACC Deaminase Activity in Plant Growth Under Abiotic Stress." in *Root Biology*. Springer, Cham, 303-321. doi: 10.1007/978-3-319-75910-4_12

- Raj, K., Sardar, U. R., Bhargavi, E., Devi, I., Bhunia, B., and Tiwari, O. N. (2018). Advances in exopolysaccharides based bioremediation of heavy metals in soil and water: A critical review. *Carbohydr. Polym.* 199, 353-364. doi: 10.1016/j.carbpol.2018.07.037
- Ray, D. K., Gerber, J. S., Macdonald, G. K., and West, P.C. (2015). Climate variation explains a third of global crop yield variability. *Nat. Commun.* 6:5989. doi: 10.1038/ncomms6989
- Ray, S., Singh, J., Rajput, R. S., Singh, H. B., and Singh, S. (2018). Endophytic bacteria: an essential requirement of phyto nutrition. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 5:555657. doi: 10.19080/NFSIJ.2018.05.555657
- Reinhold-Hurek, B., and Hurek, T. (2011). Living inside plants: bacterial endophytes. *Curr. Opin. Plant Biol.* 14, 435-443. doi: 10.1016/j.pbi.2011.04.004
- Remigi, P., Zhu, J., Young, J. P. W., and Masson-Boivin, C. (2016). Symbiosis within symbiosis: evolving nitrogen-fixing legume symbionts. *Trends Microbiol.* 24, 63-75. doi: 10.1016/j.tim.2015.10.007
- Richardson, A.E. (2001). Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. *Funct. Plant Biol.* 28, 897-906. doi: 10.1071/PP01093
- Rodríguez-Blanco, A.; Sicardi, M.; Frioni, L. (2015). Plant genotype and nitrogen fertilization effects on abundance and diversity of diazotrophic bacteria associated with maize (*Zea mays* L.). *Biol. Fert. Soils* 51, 391-402. doi: 10.1007/s00374-014-0986-8
- Rodríguez-Salazar, J., Suárez, R., Caballero-Mellado, J., and Iturriaga, G. (2009). Trehalose accumulation in *Azospirillum brasilense* improves drought tolerance and biomass in maize plants. *FEMS Microbiol Lett* 296, 52-59. doi: 10.1111/j.1574-6968.2009.01614.x
- Rossi, F., Potrafka, R. M., Pichel, F. G., and de Philippis, R. (2012). The role of the exopolysaccharides in enhancing hydraulic conductivity of biological soil crusts. *Soil Biol. Biochem.* 46, 33-40. doi: 10.1016/j.soilbio.2011.10.016
- Ryan, R. P., Germaine, K., Franks, A., Ryan, D. J., Dowling, D. N. (2008). Bacterial endophytes: recent developments and applications. *FEMS Microbiol. Lett.* 278, 1-9. doi: 10.1111/j.1574-6968.2007.00918.x
- Ryu, C. M., Farag, M. A., Hu, C. H., Reddy, M. S., Wei, H. X., Paré, P. W., and Kloepper, J. W. (2003). Bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 100, 4927-4932. doi: 10.1073/pnas.0730845100

- Sah, S., and Singh, R. (2015). Siderophore: structural and functional characterisation- a comprehensive review. *Agriculture (Polnohospodárstvo)* 61, 97-114. doi: 10.1515/agri-2015-0015
- Saha, M., Sarkar, S., Sarkar, B., Sharma, B. K., Bhattacharjee, S., and Tribedi, P. (2015). Microbial siderophores and their potential applications: a review. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 23, 3984-3999. doi: 10.1007/s11356-015-4294-0
- Saini, R., Kumar, V., Dudeja, S. S., and Pathak, D. V. (2015). Beneficial effects of inoculation of endophytic bacterial isolates from roots and nodules in chickpea. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* 4, 207-221.
- Salazar-Cerezo, S., Martínez-Montiel, N., García-Sánchez, J., Pérez-Y-Terrón, R., and Martínez-Contreras, R. D. (2018). Gibberellin biosynthesis and metabolism: A convergent route for plants, fungi and bacteria. *Microbiol. Res.* 208, 85-98. doi: 10.1016/j.micres.2018.01.010
- Salem, G., Stromberger, M. E., Byrne, P. F., Manter, D. K., El-Feki, W., and Weir, T. L. (2018). Genotype-specific response of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) to irrigation and inoculation with ACC deaminase bacteria. *Rhizosphere* 8, 1-7. doi: 10.1016/j.rhisph.2018.08.001
- Santoyo, G., Moreno-Hagelsieb, G., del Carmen Orozco-Mosqueda, M., and Glick, B. R. (2016). Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiol. Res.* 183, 92-99. doi: 10.1016/j.micres.2015.11.008
- Sasse, J., Martinoia, E., and Northen, T. (2018). Feed your friends: do plant exudates shape the root microbiome?. *Trends Plant Sci.* 23, 25-41 doi: 10.1016/j.tplants.2017.09.003
- Schlechter, R. O., Miebach, M., and Remus-Emsermann, M. N. (2019). Driving factors of epiphytic bacterial communities: A review. *J. Adv. Res.* 19, 57-65. doi: 10.1016/j.jare.2019.03.003
- Schwyn, B., and Neilands, J.B. (1987). Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Anal. Biochem.* 160, 47-56. doi: 10.1016/0003-2697(87)90612-9
- Seemann, T. (2014). Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. *Bioinformatics*, 30, 2068-2069. doi: 10.1093/bioinformatics/btu153
- See-Too, W. S., Lim, Y. L., Ee, R., Convey, P., Pearce, D. A., Yin, W. F., and Chan, K. G. (2016). Complete genome of *Pseudomonas* sp. strain L10. 10, a psychrotolerant biofertilizer that could promote plant growth. *J. Biotechnol.* 222, 84-85. doi: 10.1016/j.jbiotec.2016.02.017

- Sehgal, A., Sita, K., Siddique, K. H., Kumar, R., Bhogireddy, S., Varshney, R. K., et al. (2018). Drought or/and heat-stress effects on seed filling in food crops: Impacts on functional biochemistry, seed yields, and nutritional quality. *Front. Plant Sci.* 9:1705. doi: 10.3389/fpls.2018.01705
- Shankar, M., Ponraj, P., Ilakiam, D., Rajendhran, J., and Gunasekaran, P. (2012). Genome sequence of the plant growth-promoting bacterium *Enterobacter cloacae* GS1. *J. Biotechnol.* 194-4479. doi: 10.1128/JB.00964-12
- Silva, M. D. A., dos Santos, C. M., Vitorino, H. D. S., and Rhein, A. D. L. (2014). Photosynthetic pigments and SPAD index as descriptors of water deficit stress intensity in sugar cane. *J. Biosci* 30, 173-181.
- Sinclair, T.R., and Rufty, T.W. (2012) Nitrogen and water resources commonly limit crop yield increases, not necessarily plant genetics. *Global Food Security* 1, 94-98. doi: 10.1016/j.gfs.2012.07.001
- Singh, J. S., Koushal, S., Kumar, A., Vimal, S. R., and Gupta, V. K. (2016). Book review: microbial inoculants in sustainable agricultural productivity-Vol. II: functional application. *Front. Microbiol.* 7:2105. doi: 10.3389/fmicb.2016.02105
- Sinha, A. K., Parli Venkateswaran, B., Tripathy, S. C., Sarkar, A., and Prabhakaran, S. (2019). Effects of growth conditions on siderophore producing bacteria and siderophore production from Indian Ocean sector of Southern Ocean. *J Basic Microbiol.* 59, 412-424. doi: 10.1002/jobm.201800537
- Sousa, M. B., Cuevas, J., Couto, E. G. de O., Pérez-Rodríguez, P., Jarquín, D., Fritsche-Neto, R., et al. (2017). Genomic-enabled prediction in maize using kernel models with genotype × environment interaction. *G3* 7:g3.117.042341. doi: 10.1534/g3.117.042341
- Souza, R. D., Ambrosini, A., and Passaglia, L. M. P. (2015). Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. *Genet. Mol. Biol.* 38, 401-419. doi: 10.1590/S1415-475738420150053
- Spaepen, S. (2015). "Plant hormones produced by microbes." in Principles of plant-microbe interactions. Springer, Cham, 247-256. doi: 10.1007/978-3-319-08575-3_26
- Spaepen, S., Vanderleyden, J., and Remans, R. (2007). Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiol. Rev.* 31, 425-448. doi: 10.1111/j.1574-6976.2007.00072.x
- Stacklies, W., Redestig, H., Scholz, M., Walther, D., and Selbig, J. (2007). pcaMethods—a bioconductor package providing PCA methods for incomplete data. *Bioinformatics* 23, 1164-1167. doi: 10.1093/bioinformatics/btm069

- Stadnik, M. J., Astolfi, P., and de Freitas, M. B. (2018). "Bioestimulantes: una perspectiva global y desafíos para América Latina." in: II Simpósio Latino-Americano sobre Bioestimulantes na Agricultura e IX Reunião Brasileira sobre Indução de Resistência em Plantas a Patógenos, 18-21.
- Stepanović, S., Vuković, D., Hola, V., Bonaventura, G. D., Djukić, S., Ćirković, I., and Ruzicka, F. (2007). Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *Apmis* 115, 891-899. doi: 10.1111/j.1600-0463.2007.apm_630.x
- Sukumar, P., Legue, V., Vayssieres, A., Martin, F., Tuskan, G. A., and Kalluri, U.C. (2013). Involvement of auxin pathways in modulating root architecture during beneficial plant-microorganism interactions. *Plant. Cell. Environ.* 36, 909-919. doi: 10.1111/pce.12036
- Szilagyi-Zecchin, V. J., Ikeda, A. C., Hungria, M., Adamoski, D., Kava-Cordeiro, V., Glienke, C., and Galli-Terasawa, L. V. (2014). Identification and characterization of endophytic bacteria from corn (*Zea mays* L.) roots with biotechnological potential in agriculture. *AMB Express* 4:26. doi: 10.1186/s13568-014-0026-y
- Tabatabai, M. (1994). "Soil enzymes." in: Bigham, J. (Ed.), *Methods of Soil Analysis*. SSSA, Madison, WI, 775-834. doi: 10.1002/047126363X.agr354
- Taghavi, S., Wu, X., Ouyang, L., Zhang, Y. B., Stadler, A., Mccorkle, S., and Van Der Lelie, D. (2015). Transcriptional responses to sucrose mimic the plant-associated life style of the plant growth promoting endophyte *Enterobacter* sp. 638. *PLoS One* 10:e0115455. doi: 10.1371/journal.pone.0115455
- Tahir, H. A., Gu, Q., Wu, H., Raza, W., Hanif, A., Wu, L., and Gao, X. (2017). Plant growth promotion by volatile organic compounds produced by *Bacillus subtilis* SYST2. *Front. Microbiol.* 8:171. doi: 10.3389/fmicb.2017.00171
- Tahir, M., Khalid, U., Khan, M. B., Shahid, M., Ahmad, I., Akram, M., et al. (2019). Auxin and 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate Deaminase Activity Exhibiting Rhizobacteria Improved Maize Quality and Productivity under Drought Conditions. *Int. J. Agric. Biol.* 21, 943-954. doi: 10.17957/IJAB/15.0979
- Taiz, L., and Zeiger, E. (2013). *Fisiologia Vegetal*. 5. ed. Porto Alegre: Artmed.
- Tank, N., Rajendran, N., Patel, B., and Saraf, M. (2012). Evaluation and biochemical characterization of a distinctive pyoverdine from a *Pseudomonas* isolated from chickpea rhizosphere. *Braz. J. Microbiol.* 43, 639-648. doi: 10.1590/S1517-83822012000200028
- Timmusk, S., El-Daim, I. A. A., Copolovici, L., Tanilas, T., Kännaste, A., Behers, L., et al. (2014). Drought-tolerance of wheat improved by rhizosphere bacteria from

harsh environments: enhanced biomass production and reduced emissions of stress volatiles. *PLoS One* 9:e96086. doi: 10.1371/journal.pone.0096086

Tittabutr, P., Piromyou, P., Longtonglang, A., Noisa-Ngiam, R., Boonkerd, N., and Teaumroong, N. (2013). Alleviation of the effect of environmental stresses using co-inoculation of mungbean by *Bradyrhizobium* and rhizobacteria containing stress-induced ACC deaminase enzyme. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 59, 559-571. doi: 10.1080/00380768.2013.804391

Tiwari, S., Prasad, V., and Lata, C. (2019). “*Bacillus*: Plant Growth Promoting Bacteria for Sustainable Agriculture and Environment.” in *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*, Elsevier, 43-55. doi: 10.1016/B978-0-444-64191-5.00003-1

Tudzynski, B., Studt, L., and Rojas, M. C. (2018). Gibberellins in fungi, bacteria and lower plants: biosynthesis, function and evolution. *Ann. Plant Rev.* 49, 121-151. doi: 10.1002/9781119312994.apr0534

Vargas, L, De Carvalho, T. L. G., Ferreira, P. C. G., Baldani, V. L. D., Baldani, J. I., and Hermerly, A (2012) Early responses of rice (*Oriza sativa* L.) seedlings to inoculation with beneficial diazotrophic bacteria are dependent on plant and bacterial genotypes. *Plant Soil* 356, 127-137. doi: 10.1007/s11104-012-1274-8

Varma, P. K., Uppala, S., Pavuluri, K., Chandra, K. J., Chapala, M. M., Kumar, K. V. K. (2017). “Endophytes: Role and Functions in Crop Health.” in Singh D., Singh H., Prabha R. (eds) *Plant-Microbe Interactions in Agro-Ecological Perspectives*. Springer, Singapore, 1, 291-310. doi: 10.1007/978-981-10-6593-4

Vegro, C. L. R. (2018). Mercado de Fertilizantes: aumento das importações preocupa. *Análises e Indicadores do Agronegócio* 13, 1-5. Disponível em: <http://www.iea.sp.gov.br/ftpiea/AIA/AIA-16-2018.pdf> (Acessado em 10 de Março de 2018).

Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S., Nasrulhaq Boyce, A. (2016). Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability-a review. *Molecules* 21-573. doi: 10.3390/molecules21050573

Vessey, J. K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil*, 255, 571-586. doi: 10.1023/A:1026037216893

Vidotti, M. S., Matias, F. I., Alves, F. C., Pérez-Rodríguez, P., Beltran, G. A., Burgueño, J., et al. (2019). Maize responsiveness to *Azospirillum brasilense*: Insights into genetic control, heterosis and genomic prediction. *PLoS One* 14:e0217571. doi: 10.1371/journal.pone.0217571

- Vílchez, J. I., Tang, Q., Kaushal, R., Wang, W., Lv, S., He, D., Chu, Z., Zhang, H., Liu, R., and Zhang; H. (2018). Genome Sequence of *Bacillus megaterium* Strain YC4-R4, a Plant Growth-Promoting Rhizobacterium Isolated from a High-Salinity Environment. *Genome Announc.* 6:e00527-18. doi: 10.1128/genomeA.00527-18
- Vlamakis, H., Chai, Y., Beaugerard, P., Losick, R., and Kolter, R. (2013). Sticking together: building a biofilm the *Bacillus subtilis* way. *Nat. Rev. Microbiol.* 11, 157-68. doi: :10.1038/nrmicro2960
- Vu, B., Chen, M., Crawford, R. J., and Ivanova, E. (2009). Bacterial extracellular polysaccharides involved in biofilm formation. *Molecules* 14, 2535-2554. doi: 10.3390/molecules14072535
- Vurukonda, S. S. K. P., Vardharajula, S., Shrivastava, M., and SkZ, A. (2016). Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiol. Res.* 184, 13-24. doi: 10.1016/j.micres.2015.12.003
- Walker, V., Couillerot, O., Von, F. A., Bellvert, F., Jansa, J., Maurhofer, M., et al. (2012) Variation of secondary metabolite levels in maize seedling roots induced by inoculation with *Azospirillum*, *Pseudomonas* and *Glomus consortium* under field conditions. *Plant Soil* 356, 151-163. doi: 10.1007/s11104-011-0960-2
- Wallace, J.G., and May, G. (2018). "Endophytes: The Other Maize Genome." in: Bennetzen, J.; Flint-Garcia, S.; Hirsch, C.; Tuberosa, R. (eds) The Maize Genome. Compendium of Plant Genomes. Springer, Cham, 1, 213-246. doi: 10.1007/978-3-319-97427-9_14
- Wan, C., Xu, W., Sosebee, R. E., Machado, S., and Archer, T. (2000). Hydraulic lift in drought-tolerant and-susceptible maize hybrids. *Plant Soil* 219, 117-126. doi: 10.1023/A:1004740511326
- Wang, T. T., Ding, P., Chen, P., Xing, K., Bai, J. L., Wan, W., Jianga, J. H., and Qin, S. (2017). Complete genome sequence of endophyte *Bacillus flexus* KLBMP 4941 reveals its plant growth promotion mechanism and genetic basis for salt tolerance. *J. Biotechnol.* 260, 38-41. doi: 10.1016/j.jbiotec.2017.09.001
- Wang, Z., Zhong, R., Lai, C., Zeng, Z., Lian, Y., and Bai, X. (2018). Climate change enhances the severity and variability of drought in the Pearl River Basin in South China in the 21st century. *Agric. For. Meteorol.* 249, 149-162. doi: 10.1016/j.agrformet.2017.12.077
- Wei, G., Kloepper, J., and Tuzun S. (1996). Induced systemic resistance to cucumber diseases and increased plant growth by plant growth-promoting rhizobacteria under field conditions. *Phytopathology* 86, 221-4.

- Wei, Z., and Jousset, A. (2017). Plant breeding goes microbial. *Trends Plant Sci.* 22, 555-558. doi: 10.1016/j.tplants.2017.05.009
- Wissuwa, M., Mazzola, M., and Picard, C. (2009) Novel approaches in plant breeding for rhizosphere-related traits. *Plant Soil* 321, 409-430. doi: 10.1007/s11104-008-9693-2
- Woli, K. P., Boyer, M. J., Elmore, R. W., Sawyer, J. E., Abendroth, L. J., and Barker, D. W. (2016). Corn era hybrid response to nitrogen fertilization. *Agron J.* 108, 473-486. doi: 10.2134/agronj2015.0314
- Xie, J., Shi, H., Du, Z., Wang, T., Liu, X., and Chen, S. (2016). Comparative genomic and functional analysis reveal conservation of plant growth promoting traits in *Paenibacillus polymyxa* and its closely related species. *Sci. Rep.* 6:21329. doi: 10.1038/srep21329
- Young, L. S., Hameed, A., Peng, S. Y., Shan, Y. H., and Wu, S.P. (2013). Endophytic establishment of the soil isolate *Burkholderia* sp. CC-A174 enhances growth and P-utilization rate in maize (*Zea mays* L.). *Appl. Soil Ecol.* 66, 40-47. doi: 10.1016/j.apsoil.2013.02.001
- Yu, L. Y., Huang, H. B., Wang, X. H., Li, S., Feng, N. X., Zhao, H. M., and Mo, C. H. (2019). Novel phosphate-solubilising bacteria isolated from sewage sludge and the mechanism of phosphate solubilisation. *Sci. Total Environ.* 658, 474-484. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.12.166
- Yu, S., Teng, C., Bai, X., Liang, J., Song, T., Dong, L., and Qu, J. (2017). Optimization of siderophore production by *Bacillus* sp. PZ-1 and its potential enhancement of phytoextraction of Pb from soil. *J. Microbiol Biotechnol.* 27, 1500-1512. doi: 10.4014/jmb.1705.05021
- Zaeim, A. N., Torkaman, M., and Ghasemeeyan, H. (2017). Effects of Biofertilizer Application on Growth and Yield of corn (*Zea mays* L.): A Review. *Int. J. Sci. Res. Sci Technol.* 3, 245-251.
- Zamioudis, C., and Pieterse, C. M. J. (2012). Modulation of host immunity by beneficial microbes. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 25, 139-150. doi: 10.1094/MPMI-06-11-0179
- Zeffa, D. M., Perini, L. J., Silva, M. B., De Sousa, N. V., Scapim, C. A., De Oliveira, A. L. M., and Gonçalves, L. S. A. (2019). *Azospirillum brasilense* promotes increases in growth and nitrogen use efficiency of maize genotypes. *PLoS One* 14:e0215332. doi: 10.1371/journal.pone.0215332
- Zekic, F., Weselowski, B., and Yuan, Z. C. (2017). Complete Genome Sequence of *Burkholderia cenocepacia* CR318, a Phosphate-Solubilizing Bacterium Isolated

from Corn Root. *Genome Announc.* 5:e00490-17. doi: 10.1128/genomeA.00490-17

Zhang, H., Kim, M. S., Krishnamachari, V., Payton, P., Sun, Y., Grimson, M., et al. (2007). Rhizobacterial volatile emissions regulate auxin homeostasis and cell expansion in *Arabidopsis*. *Planta* 226, 839. doi: 10.1007/s00425-007-0530-2

Zhang, Y., Luan, H., Wei, Z., Hao, Z., Xi, R., and Liao, X. (2016). Exploiting of honey-associated *Bacillus* strains as plant-growth promoting bacteria for enhancing barley growth in rare earth tailings. *Ann. Microbiol.* 66, 559-568. doi: 10.1007/s13213-015-1135-9

Zhang, Z., Yin, L., Li, X., Zhang, C., Liu, C., and Wu, Z. (2018). The complete genome sequence of *Bacillus halotolerans* ZB201702 isolated from a drought-and salt-stressed rhizosphere soil. *Microb. Pathog.* 123, 246-249. doi: 10.1016/j.micpath.2018.07.019

Zhou, C., Ma, Z., Zhu, L., Xiao, X., Xie, Y., Zhu, J., and Wang, J. (2016). Rhizobacterial strain *Bacillus megaterium* BOFC15 induces cellular polyamine changes that improve plant growth and drought resistance. *Int. J. Mol. Sci.* 17:976. doi: 10.3390/ijms17060976

Zhu, J., Li, M., and Whelan, M. (2018). Phosphorus activators contribute to legacy phosphorus availability in agricultural soils: a review. *Sci. Total. Environ.* 612, 522-537. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.08.095

Tabela S1. Cepas de bactérias utilizadas para realizar a análise filogenética.

Bactéria	GenBank	Comprimento total (Mb)	Quantidade de Genes	Quantidade de Proteínas	Conteúdo GC (%)
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> DSM 7	FN597644.1	3,98	4120	3870	46,1
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> IT-45	CP004065.1	3,94	3945	3735	46,6
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> LL3	CP002634.1	4,00	4130	3941	45,7
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> TA208	CP002627.1	3,94	4062	3891	45,8
<i>Bacillus anthracis</i> CZC5	AP018443.1	5,50	5810	5351	35,3
<i>Bacillus anthracis</i> str. Ames	AE016879.1	5,23	5632	5321	35,4
<i>Bacillus anthracis</i> str. CDC 684	CP001215.1	5,51	6134	5709	35,3
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	AE016877.1	5,43	5494	5231	35,3
<i>Bacillus cereus</i> B4264	CP001176.1	5,42	5690	5360	35,3
<i>Bacillus cereus</i> Q1	CP000227.1	5,51	5856	5513	35,5
<i>Bacillus megaterium</i> DSM 319	CP001982.1	5,10	5245	4941	38,1
<i>Bacillus megaterium</i> NBRC 15308 = ATCC 14581	CP009920.1	5,75	5952	5607	37,9
<i>Bacillus megaterium</i> NCT-2	CP032527.1	5,88	6039	5605	37,8
<i>Bacillus megaterium</i> YC4-R4	CP026736.1	5,44	5572	5289	38,0
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i> str. 168	AL009126.3	4,22	4536	4237	43,5
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i> str. AG1839	CP008698.1	4,19	4410	4240	43,5
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i> str. BAB-1	CP004405.1	4,02	4124	3912	43,9
<i>Bacillus thuringiensis</i> Bt18247	CP015250.1	6,14	6554	5929	35,2
<i>Bacillus thuringiensis</i> serovar <i>kurstaki</i> str. HD-1	CP004870.1	6,77	7173	6538	34,9
<i>Bacillus thuringiensis</i> YBT-1518	CP005935.1	6,67	7114	6373	35,3
<i>Bacillus velezensis</i> AS43.3	CP003838.1	3,96	3978	3669	46,6
<i>Bacillus velezensis</i> SQR9	CP006890.1	4,12	4083	3902	46,1
<i>Bacillus velezensis</i> LPL-K103	CP039380.1	3,93	3935	3626	46,6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO1	AE004091.2	6,26	5697	5572	66,6

Tabela S2. Identificação dos genes presentes nas cepas de *Bacillus* B116 e B119 relacionados a produção de fitormônios. A anotação estrutural dos genomas foi realizada com os softwares Prokka e RAST e a anotação funcional com os softwares BLAST2GO e PANNZER.

Gene ID		Anotação	KO	Gene
B116	B119			
GFFKBBAP_02319	PLGCOHOI_00666	tryptophan synthase alpha chain [EC:4.2.1.20]	K01695	trpA
GFFKBBAP_02318	PLGCOHOI_00667	tryptophan synthase beta chain [EC:4.2.1.20]	K01696	trpB
GFFKBBAP_02316	PLGCOHOI_00669	indole-3-glycerol phosphate synthase [EC:4.1.1.48]	K01609	trpC
GFFKBBAP_02315	PLGCOHOI_00670	anthranilate phosphoribosyltransfe-rase [EC:2.4.2.18]	K00766	trpD
GFFKBBAP_02313	PLGCOHOI_00671	anthranilate synthase component I [EC:4.1.3.27]	K01657	trpE
GFFKBBAP_02317	PLGCOHOI_00668	phosphoribosylanthranilate isomerase [EC:5.3.1.24]	K01817	trpF
GFFKBBAP_02314	PLGCOHOI_05910	anthranilate synthase component II [EC:4.1.3.27]	K01658	trpG
GFFKBBAP_01430, GFFKBBAP_03399, GFFKBBAP_02018	PLGCOHOI_03054	aldehyde dehydrogenase (NAD+) [EC:1.2.1.3]	K00128	ALDH
GFFKBBAP_01200, GFFKBBAP_01772, GFFKBBAP_02927, GFFKBBAP_05331, GFFKBBAP_02364	PLGCOHOI_03511, PLGCOHOI_04722	amidase [EC:3.5.1.4]	K01426	amiE
-	PLGCOHOI_03193	IAA acetyltransferase [EC:2.3.1.-]	K03829	yedL
GFFKBBAP_01915	-	Aromatic-L-amino-acid/L-tryptophan decarboxylase [EC:4.1.1.28]	K01593	DDC, TDC
GFFKBBAP_05108	-	L-amino-acid oxidase YobN [EC:1.4.3.2]	K03334	IL411
GFFKBBAP_02930, GFFKBBAP_05108	-	monoamine oxidase [EC:1.4.3.4]	K00274	MAO, aofH
GFFKBBAP_01620	-	indolepyruvate decarboxylase [EC:4.1.1.74]	K04103	ipdC
GFFKBBAP_03086	-	1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase [EC:3.5.99.7]	K01505	acdS

Tabela S3. Identificação dos genes presentes nas cepas de *Bacillus* B116 e B119 relacionados à disponibilização de fósforo. A anotação estrutural dos genomas foi realizada com os softwares Prokka e RAST e a anotação funcional com os softwares BLAST2GO e PANNZER.

Gene ID		Anotação	KO	Gene
B116	B119			
GFFKBBAP_00567, GFFKBBAP_04518	PLGCOHOI_00970	phosphate ABC transporter, periplasmic phosphate-binding protein PstS [TC 3.A.1.7.1]	K02040	pstS
GFFKBBAP_04519, GFFKBBAP_00566	PLGCOHOI_00969	phosphate transport system permease protein PstC [TC 3.A.1.7.1]	K02037	pstC
GFFKBBAP_00565, GFFKBBAP_04520	PLGCOHOI_00968	phosphate transport system permease protein PstA [TC 3.A.1.7.1]	K02038	pstA
GFFKBBAP_00564	PLGCOHOI_00860	phosphate transport ATP-binding protein PstB [TC 3.A.1.7.1] [EC:7.3.2.1]	K02036	pstB
GFFKBBAP_03221, GFFKBBAP_03805	PLGCOHOI_02476	Alkylphosphonate utilization operon protein PhnA [EC:3.11.1.2]	K06193	phnA
GFFKBBAP_00942, GFFKBBAP_03440	PLGCOHOI_02763, PLGCOHOI_06337	PhnB protein 3-demethylubiquinone-9 3-methyltransferase	K04750	phnB
GFFKBBAP_03527	-	phosphonate transport system ATP-binding protein [EC:7.3.2.2]	K02041	phnC
GFFKBBAP_03528	-	phosphonate transport system substrate-binding protein	K02044	phnD
GFFKBBAP_03525, GFFKBBAP_03526	-	phosphonate transport system permease protein	K02042	phnE
GFFKBBAP_00082, GFFKBBAP_00347, GFFKBBAP_01150	PLGCOHOI_00479, PLGCOHOI_01555, PLGCOHOI_01887	HTH-type transcriptional repressor YvoA	K03710	phnF
GFFKBBAP_01372	-	(aminoalkyl)phosphonate N-acetyltransferase [EC:2.3.1.280]	K09994	phnO
GFFKBBAP_00518	-	GntR family transcriptional regulator	K07979	phnR

[continua]

[conclusão]

Gene ID		Anotação	KO	Gene
B116	B119			
GFFKBBAP_02405, GFFKBBAP_01586	PLGCOHOI_02389, PLGCOHOI_03757	2-aminoethylphosphonate-pyruvate transaminase [EC:2.6.1.37]	K03430	phnW
GFFKBBAP_02404	PLGCOHOI_02390	phosphonoacetaldehyde hydrolase [EC:3.11.1.1]	K05306	phnX
GFFKBBAP_00886	PLGCOHOI_01111, PLGCOHOI_02094	phosphate regulon sensor histidine kinase PhoR [EC:2.7.13.3]	K07636	phoR
GFFKBBAP_00640, GFFKBBAP_02178	PLGCOHOI_01550, PLGCOHOI_01840	alkaline phosphatase [EC:3.1.3.1]	K01077	phoA, phoB
GFFKBBAP_00887	PLGCOHOI_01112	alkaline phosphatase synthesis response regulator PhoP	K07658	phoB1, phoP
-	PLGCOHOI_04114,	alkaline phosphatase D [EC:3.1.3.1]	K01113	phoD
GFFKBBAP_00226	-	putative phosphoglycerate mutase	K15640	phoE
GFFKBBAP_00243	PLGCOHOI_01698	PhoH-like ATPase	K07175	phoH
GFFKBBAP_00598	PLGCOHOI_00900	phosphate starvation-inducible protein PhoH and related proteins	K06217	phoH
GFFKBBAP_00563, GFFKBBAP_00563	PLGCOHOI_00859	phosphate transport system regulatory protein PhoU	K02039	phoU
GFFKBBAP_02529	PLGCOHOI_01055	inorganic phosphate transporter, PiT family	K03306	pitA
GFFKBBAP_02012	PLGCOHOI_04565	manganese-dependent inorganic pyrophosphatase [EC:3.6.1.1]	K15986	ppaC
GFFKBBAP_01993	-	phosphinothricin acetyltransferase [EC:2.3.1.183]	K03823	pat
-	PLGCOHOI_03759	phosphoenolpyruvate phosphomutase [EC:5.4.2.9]	K01841	pepM
-	PLGCOHOI_03758	phosphonopyruvate decarboxylase [EC:4.1.1.82]	K09459	ppd
GFFKBBAP_03614	PLGCOHOI_04135	pyrophosphatase PpaX [EC:3.6.1.1]	K06019	ppaX
GFFKBBAP_00287	PLGCOHOI_01745, PLGCOHOI_01745	polyphosphate kinase [EC 2.7.4.1]	K00937	ppk
GFFKBBAP_02835	-	polyphosphate kinase [EC 2.7.4.1]	K22468	ppk2
GFFKBBAP_04909	-	Sodium-dependent phosphate transporter	K03324	yjbB

Tabela S4. Identificação dos genes presentes nas cepas de *Bacillus* B116 e B119 relacionados à produção de ácidos orgânicos. A anotação estrutural dos genomas foi realizada com os softwares Prokka e RAST e a anotação funcional com os softwares BLAST2GO e PANNZER.

Gene ID		Anotação	KO	Gene
B116	B119			
GFFKBBAP_01414; GFFKBBAP_03210	PLGCOHOI_01728; PLGCOHOI_02432; PLGCOHOI_03996; PLGCOHOI_03792	6-phosphogluconate dehydrogenase [EC:1.1.1.44, 1.1.1.343]	K00033	PGD, gnd, gntZ
-	PLGCOHOI_01369; PLGCOHOI_02027	2-dehydro-3-deoxy-D-gluconate 5-dehydrogenase [EC:1.1.1.127]	K00065	kduD
GFFKBBAP_01149, GFFKBBAP_01413	PLGCOHOI_01554, PLGCOHOI_01910, PLGCOHOI_03789	gluconate:H ⁺ symporter, GntP family	K03299	TC.GNTP
-	PLGCOHOI_02029	GntR family transcriptional regulator, gluconate operon transcriptional repressor	K11476	gntR
GFFKBBAP_01179, GFFKBBAP_02929, GFFKBBAP_03753	PLGCOHOI_04922;	L-lactate dehydrogenase [EC:1.1.1.27]	K00016	LDH, ldh
GFFKBBAP_02321	PLGCOHOI_02069	lactate permease	K03303	lctP
GFFKBBAP_00416; GFFKBBAP_02790; GFFKBBAP_04669	PLGCOHOI_01796; PLGCOHOI_03303	Na ⁺ :H ⁺ antiporter, NhaC family	K03315	nhaC
	PLGCOHOI_01123	L-lactate dehydrogenase operon regulator	K14348	lldR
GFFKBBAP_02384	PLGCOHOI_01820	L-lactate dehydrogenase complex protein LldG	K00782	lldG
GFFKBBAP_02383	PLGCOHOI_01821	L-lactate dehydrogenase complex protein LldF	K18929	lldF
GFFKBBAP_02382	PLGCOHOI_01822	L-lactate dehydrogenase complex protein LldE	K18928	lldE

[continua]

[conclusão]

Gene ID		Anotação	KO	Gene
B116	B119			
GFFKBBAP_04179	PLGCOHOI_02144	PqqA peptide cyclase [EC:1.21.98.4]	K06139	pqqE
GFFKBBAP_03849	-	glyoxylate/hydroxypyruvate/2-ketogluconate reductase [EC:1.1.1.79, 1.1.1.81, 1.1.1.215]	K00090	ghrB
GFFKBBAP_04006	-	oxalate decarboxylase [EC:4.1.1.2]	K01569	oxdD
GFFKBBAP_01479	-	methylisocitrate lyase (EC 4.1.3.30)	K03417	prpB
GFFKBBAP_01478	-	2-methylcitrate dehydratase (EC 4.2.1.79)	K01720	prpD
GFFKBBAP_03459	PLGCOHOI_04518	aconitate hydratase (EC 4.2.1.3)	K01681	ACO, acnA
GFFKBBAP_01477	PLGCOHOI_01116, PLGCOHOI_02243	citrate synthase [EC:2.3.3.1]	K01647	CS, gltA

Tabela S5. Identificação dos genes presentes nas cepas de *Bacillus* B116 e B119 relacionados ao metabolismo de nitrogênio. A anotação estrutural dos genomas foi realizada com os softwares Prokka e RAST e a anotação funcional com os softwares BLAST2GO e PANNZER.

Gene ID		Anotação	KO	Gene
B116	B119			
GFFKBBAP_01303	PLGCOHOI_03764	MFS transporter, NNP family, nitrate/nitrite transporter	K02575	NRT, narK, nrtP, nasA
-	PLGCOHOI_03765	assimilatory nitrate reductase catalytic subunit [EC:1.7.99.-]	K00372	nasA
GFFKBBAP_02445	PLGCOHOI_04711, PLGCOHOI_05095	nitronate monooxygenase [EC:1.13.12.16]	K00459	ncd2, npd
GFFKBBAP_02565	PLGCOHOI_04786, PLGCOHOI_00701, PLGCOHOI_02848	glutamate dehydrogenase [EC:1.4.1.2]	K00260	gudB, rocG
GFFKBBAP_04532	PLGCOHOI_03251	glutamate synthase (NADPH) large chain [EC:1.4.1.13]	K00265	gltB
-	PLGCOHOI_03250	glutamate synthase (NADPH) small chain [EC:1.4.1.13]	K00266	gltD
GFFKBBAP_03020, GFFKBBAP_03665, GFFKBBAP_01104	PLGCOHOI_04476, PLGCOHOI_01219	carbonic anhydrase [EC:4.2.1.1]	K01673	cynT, can
GFFKBBAP_02501	-	ferredoxin-nitrite reductase [EC:1.7.7.1]	K00366	nirA
GFFKBBAP_01310	PLGCOHOI_01906, PLGCOHOI_03766	nitrite reductase (NADH) large subunit [EC:1.7.1.15]	K00362	nirB
GFFKBBAP_01309	PLGCOHOI_01905, PLGCOHOI_01323	nitrite reductase (NADH) small subunit [EC:1.7.1.15]	K00363	nirD
-	PLGCOHOI_00446	glutamate dehydrogenase (NADP+) [EC:1.4.1.4]	K00262	gdhA
GFFKBBAP_03260	PLGCOHOI_04221, PLGCOHOI_05984	glutamine synthetase [EC:6.3.1.2]	K01915	glnA, GLUL
GFFKBBAP_02453, GFFKBBAP_03769	PLGCOHOI_04221, PLGCOHOI_05984	nitrogen fixation protein NifU and related proteins	K04488	iscU, nifU
GFFKBBAP_02453	PLGCOHOI_01225	flavodoxin I	K03839	fldA, nifF, isiB
GFFKBBAP_03886	PLGCOHOI_02114, PLGCOHOI_04446	ammonium transporter, Amt family	K03320	amt, AMT, MEP

[continua]

[conclusão]

Gene ID		Anotação	KO	Gene
B116	B119			
GFFKBBAP_01293	-	nitrate reductase / nitrite oxidoreductase, alpha subunit [EC:1.7.5.1 1.7.99.-]	K00370	narG, narZ, nxrA
GFFKBBAP_01294	-	nitrate reductase / nitrite oxidoreductase, beta subunit [EC:1.7.5.1 1.7.99.-]	K00371	narH, narY, nxrB
GFFKBBAP_01296	-	nitrate reductase gamma subunit [EC:1.7.5.1 1.7.99.-]	K00374	narI, narV;
GFFKBBAP_01295	-	nitrate reductase molybdenum cofactor assembly chaperone NarJ/NarW	K00373	narJ, narW
-	PLGCOHOI_02423	two-component system, NarL family, nitrate/nitrite sensor [EC:2.7.13.3] histidine kinase NarQ	K07674	narQ
-	PLGCOHOI_04652	Rrf2 family transcriptional regulator, nitric oxide-sensitive transcriptional repressor	K13771	nsrR
GFFKBBAP_03260	-	hydroxylamine reductase [EC:1.7.99.1]	K05601	hcp
GFFKBBAP_03664	-	cyanate lyase [EC:4.2.1.104]	K01725	cynS
GFFKBBAP_04634	-	carbamate kinase [EC:2.7.2.2]	K00926	arcC
GFFKBBAP_00231	-	formamidase [E3.5.1.49]	K01455	[E3.5.1.49]
GFFKBBAP_04426	-	Nitric oxide reductase activation protein NorD	K02448	norD
GFFKBBAP_04427	-	Nitric oxide reductase activation protein NorQ	K04748	norQ
GFFKBBAP_04189	PLGCOHOI_04654	nitric-oxide synthase, bacterial [EC:1.14.14.47]	K00491	nos

Tabela S6. Identificação dos genes presentes nas cepas de *Bacillus* B116 e B119 relacionados ao metabolismo e aquisição de ferro. A anotação estrutural dos genomas foi realizada com os softwares Prokka e RAST e a anotação funcional com os softwares BLAST2GO e PANNZER.

Gene ID		Anotação	KO	Gene
B116	B119			
GFFKBBAP_00025, GFFKBBAP_00659, GFFKBBAP_00841, GFFKBBAP_03661, GFFKBBAP_04252, GFFKBBAP_04421	PLGCOHOI_01536, PLGCOHOI_02130, PLGCOHOI_02369, PLGCOHOI_03174, PLGCOHOI_04201	iron complex transport system ATP-binding protein [EC:7.2.2.-]	K02013	ABC.FEV.A
GFFKBBAP_00026, GFFKBBAP_00027, GFFKBBAP_00660, GFFKBBAP_00842, GFFKBBAP_03289, GFFKBBAP_03290, GFFKBBAP_03659, GFFKBBAP_03660, GFFKBBAP_04250, GFFKBBAP_04251, GFFKBBAP_04419, GFFKBBAP_04420, GFFKBBAP_04659, GFFKBBAP_04660	PLGCOHOI_01538, PLGCOHOI_01539, PLGCOHOI_02131, PLGCOHOI_02370, PLGCOHOI_02371, PLGCOHOI_03669, PLGCOHOI_03670, PLGCOHOI_04199, PLGCOHOI_04200	iron complex transport system permease protein	K02015	ABC.FEV.P
GFFKBBAP_00028, GFFKBBAP_00661, GFFKBBAP_00713, GFFKBBAP_00843, GFFKBBAP_01397, GFFKBBAP_03288, GFFKBBAP_03658, GFFKBBAP_04253, GFFKBBAP_04418, GFFKBBAP_04658	PLGCOHOI_02368, PLGCOHOI_02834, PLGCOHOI_03359, PLGCOHOI_04198, PLGCOHOI_05382	iron complex transport system substrate-binding protein	K02016	ABC.FEV.S
GFFKBBAP_03770	-	Fe-S cluster assembly protein SufB	K09014	sufB
GFFKBBAP_01163	PLGCOHOI_01236	menaquinone-specific isochorismate synthase [EC:5.4.4.2]	K02552	menF
GFFKBBAP_03767	PLGCOHOI_04219	Fe-S cluster assembly protein SufD	K09015	sufD
GFFKBBAP_00825	PLGCOHOI_01538	ferric hydroxamate transport system permease protein	K23228	fhuB

[continua]

[continuação]

Gene ID		Anotação	KO	Gene
B116	B119			
-	PLGCOHOI_01536	ferric hydroxamate transport system ATP-binding protein [EC:7.2.2.16]	K10829	fhuC
GFFKBBAP_00824	PLGCOHOI_01537	ferric hydroxamate transport system substrate-binding protein	K23227	fhuD
GFFKBBAP_01494	-	isochorismate synthase [EC:5.4.4.2]	K02361	entC, dhbC
GFFKBBAP_01496	-	bifunctional isochorismate lyase / aryl carrier protein [EC:3.3.2.1 6.3.2.14]	K01252	entB, dhbB, vibB, mxcF
GFFKBBAP_01493	-	2,3-dihydro-2,3-dihydroxybenzoate dehydrogenase [EC:1.3.1.28]	K00216	entA, dhbA
GFFKBBAP_01495	-	2,3-dihydroxybenzoate-AMP ligase [EC:6.3.2.14, 2.7.7.58]	K02363	entE, dhbE, vibE, mxcE
GFFKBBAP_02401, GFFKBBAP_02763, GFFKBBAP_05028	-	iron (III) transport system substrate-binding protein	K02012	afuA, fbpA
GFFKBBAP_02403, GFFKBBAP_02764	-	iron (III) transport system permease protein	K02011	afuB, fbpB
GFFKBBAP_02402, GFFKBBAP_02762	-	iron (III) transport system ATP-binding protein [EC:7.2.2.7]	K02010	afuC, fbpC
GFFKBBAP_01497	-	nonribosomal peptide synthetase DhbF	K04780	dhbF
GFFKBBAP_01881	-	enterochelin esterase and related enzymes	K07214	fes
GFFKBBAP_05143	PLGCOHOI_00409	rhizobactin siderophore biosynthesis protein RhbF		rhbF
GFFKBBAP_05144	PLGCOHOI_00413	rhizobactin siderophore biosynthesis protein RhbC		rhbC
-	PLGCOHOI_00411, PLGCOHOI_04650	rhizobactin siderophore biosynthesis protein RhbE	K03897	rhbE
-	PLGCOHOI_00412	rhizobactin siderophore biosynthesis protein RhbD		rhbD
GFFKBBAP_00024	-	Ferri-bacillibactin esterase BesA	K07017	besA
GFFKBBAP_05137	-	bacillibactin exporter	K08161	ymfD

[continua]

[conclusão]

Gene ID		Anotação	KO	Gene
B116	B119			
-	PLGCOHOI_04187	high-affinity iron transporter	K07243	FTR, FTH1, efeU
-	PLGCOHOI_00415	diaminobutyrate-2-oxoglutarate transaminase [EC:2.6.1.76]	K00836	ectB, dat
-	PLGCOHOI_00414	L-2,4-diaminobutyrate decarboxylase [EC:4.1.1.86]	K13745	ddc
-	PLGCOHOI_03671	ferric citrate transport system substrate-binding protein	K23181	fecB
-	PLGCOHOI_03959	two-component response regulator colocalized with HrtAB transporter	K02483	K02483
GFFKBBAP_05142	-	Long-chain-fatty-acid--CoA ligase associated with anthrachelin biosynthesis [EC:6.2.1.-]	K00666	[EC:6.2.1.-]

Tabela S7. Identificação dos genes presentes nas cepas de *Bacillus* B116 e B119 relacionados à produção de exopolissacarídeos e formação de biofilme. A anotação estrutural dos genomas foi realizada com os softwares Prokka e RAST e a anotação funcional com os softwares BLAST2GO e PANNZER.

Gene ID		Anotação	KO	Gene
B116	B119			
GFFKBBAP_03571	PLGCOHOI_04050, PLGCOHOI_05315	UDP-N-acetylglucosamine 2-epimerase (non-hydrolysing) [EC:5.1.3.14]	K01791	wecB
-	PLGCOHOI_04079	UDP-N-acetyl-D-mannosaminuronic acid dehydrogenase [EC:1.1.1.336]	K02472	wecC
GFFKBBAP_05375	PLGCOHOI_05595	serine O-acetyltransferase [EC:2.3.1.30]	K00640	cysE
GFFKBBAP_02056, GFFKBBAP_04214	PLGCOHOI_04080	N-acetylglucosaminyldiphosphoundecaprenol N-acetyl-beta-D-mannosaminyltransferase [EC:2.4.1.187]	K05946	tagA, tarA
GFFKBBAP_05049	PLGCOHOI_01931	polysaccharide biosynthesis protein EpsC	K19421	epsC
-	PLGCOHOI_03146	glycosyltransferase EpsD	K19422	epsD
-	PLGCOHOI_03134	glycosyltransferase EpsF	K19424	epsF
-	PLGCOHOI_03143	transmembrane protein EpsG	K19419	epsG
-	PLGCOHOI_01924	glycosyltransferase EpsH	K19425	epsH
-	PLGCOHOI_03140, PLGCOHOI_01927	sugar transferase EpsL	K19428	epsL
-	PLGCOHOI_03139	acetyltransferase EpsM	K19429	epsM
-	PLGCOHOI_03138	pyridoxal phosphate-dependent aminotransferase EpsN	K19430	epsN
GFFKBBAP_03167, GFFKBBAP_04592, GFFKBBAP_05051	PLGCOHOI_01916, PLGCOHOI_01917, PLGCOHOI_01918,	protein-tyrosine phosphatase [EC:3.1.3.48]	K01104	epsP

[continua]

[continuação]

Gene ID		Anotação	KO	Gene
B116	B119			
GFFKBBAP_00003, GFFKBBAP_02701, GFFKBBAP_04768	-	host factor-I protein	K03666	hfq
GFFKBBAP_04308	-	PTS system, sugar-specific IIA component [EC:2.7.1.-]	K02777	PTS-Glc-EIIA, crr
GFFKBBAP_03640	-	RNA polymerase sigma-54 factor	K03092	rpoN
GFFKBBAP_01102	-	S-ribosylhomocysteine lyase [EC:4.4.1.21]	K07173	luxS
GFFKBBAP_02526	-	CRP/FNR family transcriptional regulator, cyclic AMP receptor protein	K10914	crp
GFFKBBAP_02157	-	lsr operon transcriptional repressor	K11531	lsrR
GFFKBBAP_01174, GFFKBBAP_01175	-	glucose-1-phosphate adenylyltransferase [EC:2.7.7.27]	K00975	glgC
GFFKBBAP_01172	-	glycogen [EC:2.4.1.1]	K00688	PYG, glgP
GFFKBBAP_01173	-	starch synthase [EC:2.4.1.21]	K00703	glgA

Tabela S8. Identificação dos genes presentes nas cepas de *Bacillus* B116 e B119 relacionados à produção de compostos orgânicos voláteis e compostos inorgânicos voláteis. A anotação estrutural dos genomas foi realizada com os softwares Prokka e RAST e a anotação funcional com os softwares BLAST2GO e PANNZER.

Gene ID		Anotação	KO	Gene
B116	B119			
GFFKBBAP_02475, GFFKBBAP_02858	PLGCOHOI_01045,	acetolactate synthase I/III small subunit [EC:2.2.1.6]	K01653	ilvH, ilvN
GFFKBBAP_02474, GFFKBBAP_02857, GFFKBBAP_04991	PLGCOHOI_01046, PLGCOHOI_01339, PLGCOHOI_03593, PLGCOHOI_03754, PLGCOHOI_05638	acetolactate synthase I/II/III large subunit [EC:2.2.1.6]	K01652	ilvB, ilvG, ilvI
GFFKBBAP_04992	PLGCOHOI_03755	acetolactate decarboxylase [EC:4.1.1.5]	K01575	alsD, budA, aldC
GFFKBBAP_04476	PLGCOHOI_03430	(R,R)-butanediol dehydrogenase / meso-butanediol dehydrogenase / diacetyl reductase [EC:1.1.1.4, 1.1.1.-, 1.1.1.303]	K00004	BDH, butB
GFFKBBAP_01964	-	acetoin:2,6-dichlorophenolindophenol oxidoreductase subunit alpha [EC:1.1.1.-]	K21416	acoA
GFFKBBAP_01963	-	acetoin:2,6-dichlorophenolindophenol oxidoreductase subunit beta [EC:1.1.1.-]	K21417	acoB
GFFKBBAP_00971	-	acetoin utilization protein AcuA [EC:2.3.1.-]	K04766	acuA
GFFKBBAP_00973	-	acetoin utilization protein AcuC	K04768	acuC
GFFKBBAP_01951	PLGCOHOI_03431	sigma-54 dependent transcriptional regulator, acetoin dehydrogenase operon transcriptional activator AcoR	K21405	acoR
GFFKBBAP_02022	-	hydrogen cyanide synthase HcnC [EC:1.4.99.5]	K10816	hcnC
GFFKBBAP_02025	-	hydrogen cyanide synthase HcnA [EC:1.4.99.5]	K10814	hcnA
GFFKBBAP_02026	-	hydrogen cyanide synthase HcnB [EC:1.4.99.5]	K10815	hcnB

Tabela S9. Identificação dos genes presentes nas cepas de *Bacillus* B116 e B119 relacionados à motilidade e quimiotaxia. A anotação estrutural dos genomas foi realizada com os softwares Prokka e RAST e a anotação funcional com os softwares BLAST2GO e PANNZER.

Gene ID		Anotação	KO	Gene
B116	B119			
GFFKBBAP_02732	PLGCOHOI_01749	two-component system, chemotaxis family, chemotaxis protein CheV	K03415	cheV
GFFKBBAP_02706, GFFKBBAP_04034	PLGCOHOI_00517, PLGCOHOI_01520	two-component system, chemotaxis family, sensor kinase CheA [EC:2.7.13.3]	K03407	cheA
GFFKBBAP_02705, GFFKBBAP_02710, GFFKBBAP_04035	PLGCOHOI_00527, PLGCOHOI_00674, PLGCOHOI_01519	two-component system, chemotaxis family, chemotaxis protein CheY chemotaxis protein methyltransferase CheR [EC:2.1.1.80]	K03413 K00575	cheY cheR
-	PLGCOHOI_00515	chemotaxis protein CheD [EC:3.5.1.44]	K03411	cheD
-	PLGCOHOI_00516	purine-binding chemotaxis protein CheW	K03408	cheW
-	PLGCOHOI_00518	two-component system, chemotaxis family, protein-glutamate methyltransferase/glutaminase [EC:3.1.1.61, 3.5.1.44]	K03412	cheB
-	PLGCOHOI_03029	two-component system, chemotaxis family, CheB/CheR fusion protein [EC:2.1.1.80, 3.1.1.61]	K13924	cheBR
GFFKBBAP_02716	PLGCOHOI_04107	flagellar hook-associated protein 2	K02407	fliD
GFFKBBAP_02734, GFFKBBAP_02735	PLGCOHOI_01945, PLGCOHOI_01946, PLGCOHOI_02860	flagellin	K02406	fliC
GFFKBBAP_02715	PLGCOHOI_04098	flagellar hook-associated protein 3 FlgL	K02397	flgL
GFFKBBAP_02714	PLGCOHOI_04097	flagellar hook-associated protein 1 FlgK	K02396	flgK
GFFKBBAP_02729	PLGCOHOI_00532	flagellar hook protein FlgE	K02390	flgE
GFFKBBAP_02728	PLGCOHOI_00533	flagellar basal-body rod modification protein FlgD	K02389	flgD
GFFKBBAP_02747	PLGCOHOI_04069, PLGCOHOI_04070	flagellar basal-body rod protein FlgG	K02392	flgG
GFFKBBAP_02721	PLGCOHOI_00541	flagellar hook-basal body complex protein FliE	K02408	fliE
GFFKBBAP_02719	PLGCOHOI_00543	flagellar basal-body rod protein FlgB	K02387	flgB

[continua]

[continuação]

Gene ID		Anotação	KO	Gene
B116	B119			
GFFKBBAP_02720	PLGCOHOI_00542	flagellar basal-body rod protein FlgC	K02388	flgC
GFFKBBAP_02722	PLGCOHOI_00540	flagellar M-ring protein FliF	K02409	fliF
GFFKBBAP_02738	PLGCOHOI_00529	flagellar motor switch protein FliM	K02416	fliM
GFFKBBAP_02723	PLGCOHOI_00539	flagellar motor switch protein FliG	K02410	fliG
GFFKBBAP_02707, GFFKBBAP_02739	PLGCOHOI_00528	flagellar motor switch protein FliN/FliY	K02417	fliNY, fliN
GFFKBBAP_02745	PLGCOHOI_00521	flagellar biosynthesis protein FlhA	K02400	flhA
GFFKBBAP_02744	PLGCOHOI_00522	flagellar biosynthetic protein FlhB	K02401	flhB
-	PLGCOHOI_00538	flagellar assembly protein FliH	K02411	fliH
GFFKBBAP_02725	PLGCOHOI_00537	flagellum-specific ATP synthase [EC:7.4.2.8]	K02412	fliI
-	PLGCOHOI_00526	flagellar protein FliO/FliZ	K02418	fliOZ, fliO
GFFKBBAP_02742	PLGCOHOI_00524	flagellar biosynthetic protein FliQ	K02420	fliQ
GFFKBBAP_02741	PLGCOHOI_00525	flagellar biosynthetic protein FliP	K02419	fliP
GFFKBBAP_02743	PLGCOHOI_00523	flagellar biosynthetic protein FliR	K02421	fliR
-	PLGCOHOI_00536	flagellar FliJ protein	K02413	fliJ
-	PLGCOHOI_04095	negative regulator of flagellin synthesis FlgM	K02398	flgM
GFFKBBAP_02717	PLGCOHOI_04089, PLGCOHOI_04108	flagellar protein FliS	K02422	fliS
-	PLGCOHOI_04099	flagellar assembly factor FliW	K13626	fliW
-	PLGCOHOI_00245	hem-based aerotactic transducer	K06595	hemAT
-	PLGCOHOI_00514	RNA polymerase sigma factor for flagellar operon FliA	K02405	fliA
GFFKBBAP_00809, GFFKBBAP_02703	PLGCOHOI_01162, PLGCOHOI_03309	chemotaxis protein MotA	K02556	motA
GFFKBBAP_00808, GFFKBBAP_02704	PLGCOHOI_01161, PLGCOHOI_03308	chemotaxis protein MotB	K02557	motB

[continua]

[conclusão]

Gene ID		Anotação	KO	Gene
B116	B119			
GFFKBBAP_04470	PLGCOHOI_03619	ribose transport system substrate-binding protein	K10439	rbsB
-	PLGCOHOI_00530	flagellar FliL protein	K02415	fliL
-	PLGCOHOI_00531	flagellar protein FliD	K02385	fliD
-	PLGCOHOI_00520	flagellar biosynthesis protein FliH	K02404	fliH
GFFKBBAP_04980	PLGCOHOI_04944	L-cystine transport system substrate-binding protein	K02424	fliY, tcyA
-	PLGCOHOI_00519	flagellar biosynthesis protein FliG	K04562	fliG, fleN
GFFKBBAP_03053, GFFKBBAP_03353, GFFKBBAP_03680, GFFKBBAP_03712, GFFKBBAP_03713, GFFKBBAP_03738, GFFKBBAP_03917, GFFKBBAP_04360, GFFKBBAP_04378, GFFKBBAP_04486, GFFKBBAP_04622, GFFKBBAP_04639, GFFKBBAP_05117	PLGCOHOI_02808, PLGCOHOI_04924, PLGCOHOI_05711	methyl-accepting chemotaxis protein	K03406	mcp
GFFKBBAP_04681	-	pilus assembly protein CpaF [EC:7.4.2.8]	K02283	cpaF, tadA
GFFKBBAP_04679	-	pilus assembly protein CpaB	K02279	cpaB, rcpC
GFFKBBAP_04210	-	heam-based aerotactic transducer	K06595	hemAT
GFFKBBAP_00081	-	basic membrane protein A and related proteins	K07335	bmpA, bmpB, tmpC

Tabela S10. Identificação dos genes presentes nas cepas de *Bacillus* B116 e B119 relacionados ao estresse oxidativo. A anotação estrutural dos genomas foi realizada com os softwares Prokka e RAST e a anotação funcional com os softwares BLAST2GO e PANNZER.

Gene ID		Anotação	KO	Gene
B116	B119			
GFFKBBAP_03845	PLGCOHOI_03213, PLGCOHOI_04263	superoxide dismutase, Cu-Zn family [EC:1.15.1.1]	K04565	SOD1
GFFKBBAP_00570, GFFKBBAP_02543, GFFKBBAP_04188	PLGCOHOI_00863, PLGCOHOI_04348	superoxide dismutase, Fe-Mn family [EC:1.15.1.1]	K04564	SOD2
GFFKBBAP_02196, GFFKBBAP_03887, GFFKBBAP_04973	PLGCOHOI_00287, PLGCOHOI_02205, PLGCOHOI_03966	catalase [EC:1.11.1.6]	K03781	katE, CAT, catB, srpA
GFFKBBAP_02990	-	Mn-containing catalase	K07217	
GFFKBBAP_03702, GFFKBBAP_05113	PLGCOHOI_01217, PLGCOHOI_02182	starvation-inducible DNA-binding protein	K04047	dps
GFFKBBAP_05679	PLGCOHOI_06208	redox-sensing transcriptional repressor	K01926	rex
GFFKBBAP_00386	PLGCOHOI_00745	Fur family transcriptional regulator, ferric uptake regulator	K03711	fur, zur, furB
GFFKBBAP_00575	PLGCOHOI_00876	Fur family transcriptional regulator, zinc uptake regulator	K02076	zurR, zur
GFFKBBAP_04665	-	peroxiredoxin (alkyl hydroperoxide reductase subunit C) [EC:1.11.1.15]	K03386	PRDX2_4, ahpC
GFFKBBAP_04666	-	alkyl hydroperoxide reductase subunit F [EC:1.6.4.-]	K03387	ahpF
GFFKBBAP_04525	PLGCOHOI_04600	Fur family transcriptional regulator, peroxide stress response regulator	K09825	perR
GFFKBBAP_00757	PLGCOHOI_03039, PLGCOHOI_04690	lipoyl-dependent peroxidase	K04063	osmC, ohr
GFFKBBAP_01281, GFFKBBAP_03044, GFFKBBAP_03174, GFFKBBAP_03552	PLGCOHOI_02438, PLGCOHOI_02534, PLGCOHOI_04282	lactoylglutathione lyase [EC:4.4.1.5]	K01759	GLO1, gloA
GFFKBBAP_00556, GFFKBBAP_03336	PLGCOHOI_00846	hydroxyacylglutathione hydrolase [EC:3.1.2.6]	K01069	gloB, gloC, HAGH

[continua]

[conclusão]

Gene ID	B119	Anotação	KO	Gene
B116	B119			
GFFKBBAP_03757	PLGCOHOI_04209	arsenate reductase (glutaredoxin) [EC:1.20.4.1]	K00537	arsC1, arsC
GFFKBBAP_03034	PLGCOHOI_03401, PLGCOHOI_05137, PLGCOHOI_05164, PLGCOHOI_05714, PLGCOHOI_01247, PLGCOHOI_01248	ArsR family transcriptional regulator, arsenate/arsenite/antimonite-responsive transcriptional repressor	K03892	arsR
GFFKBBAP_04398	PLGCOHOI_02320	ArsR family transcriptional regulator, lead/cadmium/zinc/bismuth-responsive transcriptional repressor	K21903	cadC, smtB
GFFKBBAP_02781	PLGCOHOI_04638	cobalt-zinc-cadmium efflux system protein	K16264	czcD, zitB
GFFKBBAP_03031	PLGCOHOI_01250, PLGCOHOI_01298	arsenate reductase (thioredoxin) [EC:1.20.4.4]	K03741	arsC2, arsC
GFFKBBAP_02431	PLGCOHOI_00826, PLGCOHOI_00828, PLGCOHOI_01230	ribonucleoside-diphosphate reductase alpha chain [EC:1.17.4.1]	K00525	E1.17.4.1A, nrdA, nrdE
GFFKBBAP_03933	PLGCOHOI_03223	sulfate/thiosulfate transport system ATP-binding protein [EC:7.3.2.3]	K02045	cysA
GFFKBBAP_02608	PLGCOHOI_01678	methylglyoxal synthase [EC:4.2.3.3]	K01734	mgsA
GFFKBBAP_00020	PLGCOHOI_03410	P-type Cu ⁺ transporter [EC:7.2.2.8]	K17686	copA, ctpA, ATP7
-	PLGCOHOI_02177	copper resistance protein C	K07156	copC, pcoC
-	PLGCOHOI_02176	copper resistance protein D	K07245	pcoD
GFFKBBAP_02919	PLGCOHOI_06130	copper transport protein	K14166	ycnJ
-	PLGCOHOI_04652	Rrf2 family transcriptional regulator, nitric oxide-sensitive transcriptional repressor	K13771	nsrR
GFFKBBAP_01289	PLGCOHOI_03368	glutathione peroxidase [EC:1.11.1.9]	K00432	gpx

Tabela S11. Identificação dos genes presentes nas cepas de *Bacillus* B116 e B119 relacionados ao estresse hídrico. A anotação estrutural dos genomas foi realizada com os softwares Prokka e RAST e a anotação funcional com os softwares BLAST2GO e PANNZER.

Gene ID		Anotação	KO	Gene
B116	B119			
GFFKBBAP_04003	PLGCOHOI_04931	glycerol uptake facilitator protein	K02440	GLPF
	PLGCOHOI_02552	tyrosinase [EC:1.14.18.1]	K00505	TYR
	PLGCOHOI_03054,			
-	PLGCOHOI_03680,	betaine-aldehyde dehydrogenase [EC:1.2.1.8]	K00130	betB, gbsA
	PLGCOHOI_04103			
GFFKBBAP_04356,	PLGCOHOI_01712,	glycine betaine transporter	K05020	opuD, betL
GFFKBBAP_05007	PLGCOHOI_01713			
	PLGCOHOI_01523,	glycine betaine/proline transport system ATP-binding protein [EC:7.6.2.9]	K02000	proV
GFFKBBAP_01976	PLGCOHOI_03683			
GFFKBBAP_01421	PLGCOHOI_00277	osmoprotectant transport system ATP-binding protein [EC:7.6.2.9]	K05847	opuA
	PLGCOHOI_01522,	glycine betaine/proline transport system permease protein	K02001	proW
GFFKBBAP_01975	PLGCOHOI_03684			
	PLGCOHOI_01521,	glycine betaine/proline transport system substrate-binding protein	K02002	proX
GFFKBBAP_01977	PLGCOHOI_03682			
GFFKBBAP_01422	PLGCOHOI_00276	osmoprotectant transport system permease protein	K05846	opuBD
GFFKBBAP_01422	PLGCOHOI_00276	osmoprotectant transport system substrate-binding protein	K05845	opuC
-	PLGCOHOI_04102	choline dehydrogenase [EC:1.1.1.1]	K11440	gbsB
GFFKBBAP_02026	PLGCOHOI_01525	sarcosine oxidase [EC:1.5.3.1]	K00301	sox
GFFKBBAP_04434	PLGCOHOI_03589	trehalose-6-phosphate hydrolase [EC:3.2.1.93]	K01226	treC
GFFKBBAP_04433	PLGCOHOI_03588	GntR family transcriptional regulator, trehalose operon transcriptional repressor	K03486	treR2, treR
GFFKBBAP_04433	PLGCOHOI_03590	PTS system, trehalose-specific IIB component [EC:2.7.1.201]	K02818	PTS-Tre-EIIB, treB
-	PLGCOHOI_03590	PTS system, trehalose-specific IIC component	K02819	PTS-Tre-EIIC, treB

[continua]

[conclusão]

Gene ID		Anotação	KO	Gene
B116	B119			
-	PLGCOHOI_01524	glycine betaine catabolism A	K00479	gbcA
GFFKBBAP_00803	-	aquaporin Z	K06188	aqpZ
GFFKBBAP_04432	-	GntR family transcriptional regulator, trehalose operon transcriptional repressor	K03486	treR2, treR
GFFKBBAP_02866	-	4,5-DOPA dioxygenase extradiol [EC:1.13.11.-]	K15777	DOPA

Tabela S12. Identificação dos genes presentes nas cepas de *Bacillus* B116 e B119 relacionados a respostas ao estresse. A anotação estrutural dos genomas foi realizada com os softwares Prokka e RAST e a anotação funcional com os softwares BLAST2GO e PANNZER.

Gene ID		Anotação	KO	Gene
B116	B119			
GFFKBBAP_04038	PLGCOHOI_05895	RNA polymerase sigma-B factor	K03090	sigB
GFFKBBAP_04039	PLGCOHOI_05894	serine/threonine-protein kinase RsbW [EC:2.7.11.1]	K04757	rsbW
GFFKBBAP_04036	PLGCOHOI_01518, PLGCOHOI_05892	phosphoserine phosphatase RsbU/P [EC:3.1.3.3]	K07315	rsbU_P
GFFKBBAP_05657	PLGCOHOI_05888	mRNA interferase MazF [EC:3.1.-.-]	K07171	mazF, ndoA, chpA
-	PLGCOHOI_00002, PLGCOHOI_00003, PLGCOHOI_01251, PLGCOHOI_01253, PLGCOHOI_01254, PLGCOHOI_01257, PLGCOHOI_01357, PLGCOHOI_02087, PLGCOHOI_02124, PLGCOHOI_02250, PLGCOHOI_02256, PLGCOHOI_02641, PLGCOHOI_02648, PLGCOHOI_02996, PLGCOHOI_03237, PLGCOHOI_04674, PLGCOHOI_04762, PLGCOHOI_05070, PLGCOHOI_05380, PLGCOHOI_05452, PLGCOHOI_05720, PLGCOHOI_05776, PLGCOHOI_05889, PLGCOHOI_05989, PLGCOHOI_06136, PLGCOHOI_06137	rsbT co-antagonist protein RsbR	K17763	rsbR
-	PLGCOHOI_05890	rsbT antagonist protein RsbS	K17762	rsbS
-	PLGCOHOI_01318, PLGCOHOI_05891	serine/threonine-protein kinase RsbT [EC:2.7.11.1]	K17752	rsbT
GFFKBBAP_04040	PLGCOHOI_05893	anti-sigma B factor antagonist	K04749	rsbV
-	PLGCOHOI_05896	phosphoserine phosphatase RsbX [EC:3.1.3.3]	K05518	rsbX
GFFKBBAP_00587	PLGCOHOI_00888	RNA polymerase primary sigma factor	K03086	rpoD

[continua]

[conclusão]

Gene ID		Anotação	KO	Gene
B116	B119			
GFFKBBAP_00966, GFFKBBAP_01284, GFFKBBAP_01572, GFFKBBAP_01706, GFFKBBAP_01979, GFFKBBAP_02147, GFFKBBAP_02778, GFFKBBAP_02812, GFFKBBAP_03435, GFFKBBAP_03927, GFFKBBAP_03996, GFFKBBAP_04269, GFFKBBAP_04447	PLGCOHOI_00168, PLGCOHOI_00248, PLGCOHOI_02079, PLGCOHOI_02606, PLGCOHOI_02697, PLGCOHOI_03042, PLGCOHOI_03183, PLGCOHOI_03338, PLGCOHOI_05853 PLGCOHOI_02890, PLGCOHOI_03822	RNA polymerase sigma-70 factor, ECF subfamily	K03088	rpoE
GFFKBBAP_02278	PLGCOHOI_02890, PLGCOHOI_03822	hemoglobin	K06886	glbN
GFFKBBAP_00003, GFFKBBAP_02701, GFFKBBAP_04768	PLGCOHOI_00452	host factor-I protein	K03666	hfq
-	PLGCOHOI_05148	multiple antibiotic resistance protein	K05595	marC
GFFKBBAP_02841, GFFKBBAP_03539 GFFKBBAP_04217	PLGCOHOI_00449 PLGCOHOI_03967	GTPase carbon starvation protein	K03665 K06200	hflX cstA
-	PLGCOHOI_02861, PLGCOHOI_04100	carbon storage regulator	K03563	csrA
GFFKBBAP_03303	PLGCOHOI_03963, PLGCOHOI_02792	alpha-amylase [EC:3.2.1.1]	K01176	AMY, amyA, malS
-	PLGCOHOI_04660	beta-amylase [EC:3.2.1.2]	K01177	E3.2.1.2;
GFFKBBAP_00109	PLGCOHOI_00505	regulator of sigma E protease [EC:3.4.24.-]	K11749	rseP
GFFKBBAP_03445, GFFKBBAP_04175	PLGCOHOI_00262, PLGCOHOI_03952	serine protease Do [EC:3.4.21.107]	K04771	degP, htrA
GFFKBBAP_00109	PLGCOHOI_00505	regulator of sigma E protease [EC:3.4.24.-]	K11749	rseP
GFFKBBAP_00307	-	cyclomaltodextrinase/maltogenic alpha- amylase/neopullulanase [EC:3.2.1.54, 3.2.1.133, 3.2.1.135]	K01208	cd, ma, nplT
GFFKBBAP_04615	-	chitinase	K01183	E3.2.1.14

Tabela S13. Identificação dos genes presentes nas cepas de *Bacillus* B116 e B119 relacionados a resistência à antibióticos. A anotação estrutural dos genomas foi realizada com os softwares Prokka e RAST e a anotação funcional com os softwares BLAST2GO e PANNZER.

Gene ID		Anotação	KO	Gene
B116	B119			
GFFKBBAP_02967	-	aminoglycoside 6-adenylyltransferase [EC:2.7.7.-]	K05593	aadK
GFFKBBAP_02113	PLGCOHOI_02275	aminoglycoside 3-N-acetyltransferase [EC:2.3.1.81]	K00662	aacC
GFFKBBAP_02140	-	aminoglycoside 6'-N-acetyltransferase [EC:2.3.1.82]	K00663	aacA
GFFKBBAP_03363	PLGCOHOI_03487	lincosamide and streptogramin A transport system ATP-binding/permease protein	K19350	lsa
GFFKBBAP_03674	-	MFS transporter, DHA3 family, macrolide efflux protein	K08217	mef
GFFKBBAP_02995, GFFKBBAP_03070	PLGCOHOI_02591	erythromycin esterase [EC:3.1.1.-]	K06880	ereA_B
GFFKBBAP_03951	-	bla regulator protein blaR1	K02172	blaR1
GFFKBBAP_03952	-	Blal family transcriptional regulator, penicillinase repressor	K02171	blal
GFFKBBAP_01636, GFFKBBAP_03077, GFFKBBAP_04107	PLGCOHOI_01584, PLGCOHOI_02528	beta-lactamase class A [EC:3.5.2.6]	K17836	penP
GFFKBBAP_01907, GFFKBBAP_03719	-	two-component system, OmpR family, response regulator VanR	K18344	vanRB, vanR, vanRD
GFFKBBAP_01908	-	two-component system, OmpR family, sensor histidine kinase VanS [EC:2.7.13.3]	K18345	vanSB, vanS, vanSD
GFFKBBAP_00810, GFFKBBAP_01155, GFFKBBAP_03117, GFFKBBAP_01198, GFFKBBAP_03368 GFFKBBAP_02177	PLGCOHOI_04878	zinc D-Ala-D-Ala carboxypeptidase [EC:3.4.17.14]	K07260	vanY
		vancomycin resistance protein VanW	K18346	vanW

[continua]

[conclusão]

Gene ID		Anotação	KO	Gene
B116	B119			
GFFKBBAP_02177		vancomycin resistance protein VanW	K18346	vanW
GFFKBBAP_05135	PLGCOHOI_04317, PLGCOHOI_03158	GntR family transcriptional regulator, regulator for abcA and norABC	K18907	norG
GFFKBBAP_02961, GFFKBBAP_05316	PLGCOHOI_02174	ATP-binding cassette, subfamily B, bacterial AbcA/BmrA [EC:7.6.2.2]	K18104	abcA, bmrA
GFFKBBAP_01589	PLGCOHOI_01284	MFS transporter, DHA1 family, tetracycline resistance protein	K08151	tetA
GFFKBBAP_00793	-	MFS transporter, DHA2 family, metal-tetracycline-proton antiporter	K08168	tetB
GFFKBBAP_02205		ribosomal protection tetracycline resistance protein	K18220	tetM, tetO
GFFKBBAP_01777	PLGCOHOI_04317	macrolide transport system ATP-binding/permease protein	K18231	msrA, vmlR
GFFKBBAP_01801	-	virginiamycin A acetyltransferase [EC:2.3.1.-]	K18234	vat
GFFKBBAP_02449	-	D-alanine--poly(phosphoribitol) ligase subunit 1 [EC:6.1.1.13]	K03367	dltA
GFFKBBAP_02448	-	membrane protein involved in D-alanine export	K03739	dltB
GFFKBBAP_02447	-	D-alanine--poly(phosphoribitol) ligase subunit 2 [EC:6.1.1.13]	K14188	dltC
GFFKBBAP_02034, GFFKBBAP_02446	-	D-alanine transfer protein	K03740	dltD
GFFKBBAP_02540	PLGCOHOI_05018	phosphatidylglycerol lysyltransferase [EC:2.3.2.3]	K14205	mprF, fmtC
GFFKBBAP_01533	PLGCOHOI_05055	chloramphenicol O-acetyltransferase type A [EC:2.3.1.28]	K19271	catA
GFFKBBAP_01636		chloramphenicol O-acetyltransferase type B [EC:2.3.1.28]	K00638	catB
GFFKBBAP_02974	PLGCOHOI_03475	rifampicin phosphotransferase [EC:2.7.9.6]	K22579	rph
-	PLGCOHOI_05135	virginiamycin B lyase [EC:4.2.99.-]	K18235	vgb
-	PLGCOHOI_04409	streptomycin 6-kinase [EC:2.7.1.72]	K04343	strB

Tabela S14. Identificação dos genes presentes nas cepas de *Bacillus* B116 e B119 relacionados a produção de toxinas bacterianas. A anotação estrutural dos genomas foi realizada com os softwares Prokka e RAST e a anotação funcional com os softwares BLAST2GO e PANNZER.

Gene ID		Anotação	KO	Gene
B116	B119			
GFFKBBAP_03662	PLGCOHOI_03583	thiol-activated cytolysin	K11031	slo
GFFKBBAP_03365	-	hemolysin II	K11032	hlyII
GFFKBBAP_02886	-	non-hemolytic enterotoxin A	K11033	nheA
GFFKBBAP_02887	-	non-hemolytic enterotoxin B/C	K11034	nheBC
GFFKBBAP_04184, GFFKBBAP_01385	-	hemolysin III	K11068	hlyIII
GFFKBBAP_01662, GFFKBBAP_01663	-	hemolysin BL binding component	K11035	hblAB
GFFKBBAP_01660	-	hemolysin BL lytic component L2	K11036	hblC
GFFKBBAP_02197, GFFKBBAP_03374, GFFKBBAP_04357	-	microbial collagenase [EC:3.4.24.3]	K01387	colA

Tabela S15. Identificação dos genes presentes nas cepas de *Bacillus* B116 e B119 relacionados aos sistemas de secreção. A anotação estrutural dos genomas foi realizada com os softwares Prokka e RAST e a anotação funcional com os softwares BLAST2GO e PANNZER.

	Gene ID		Anotação	KO	Gene
	B116	B119			
Sistema de Secreção Tipo II	GFFKBBAP_04681	-	pilus assembly protein CpaF [EC:7.4.2.8]	K02283	cpaF, tadA
	GFFKBBAP_04679	-	pilus assembly protein CpaB	K02279	cpaB, rcpC
	GFFKBBAP_03577	PLGCOHOI_04092	competence protein ComFA	K02240	comFA
	-	PLGCOHOI_04093	competence protein ComFC	K02242	comFC
	GFFKBBAP_03907, GFFKBBAP_03907	-	competence protein ComK	K02250	comK
	GFFKBBAP_03869	PLGCOHOI_03853	competence protein ComZ	K02254	comZ
Sistema de Secreção Tipo III	GFFKBBAP_02745	PLGCOHOI_00521	flagellar biosynthesis protein FlhA	K02400	flhA
	GFFKBBAP_02744	PLGCOHOI_00522	flagellar biosynthetic protein FlhB	K02401	flhB
	GFFKBBAP_02722	PLGCOHOI_00540	flagellar M-ring protein FliF	K02409	fliF
	GFFKBBAP_02725	PLGCOHOI_00537	flagellum-specific ATP synthase [EC:7.4.2.8]	K02412	fliI
	GFFKBBAP_02707, GFFKBBAP_02739	PLGCOHOI_00528	flagellar motor switch protein FliN/FliY	K02417	fliNY, fliN
	GFFKBBAP_02742	PLGCOHOI_00524	flagellar biosynthetic protein FliQ	K02420	fliQ
	GFFKBBAP_02741	PLGCOHOI_00525	flagellar biosynthetic protein FliP	K02419	fliP
	GFFKBBAP_02743	PLGCOHOI_00523	flagellar biosynthetic protein FliR	K02421	fliR
	-	PLGCOHOI_00538	flagellar assembly protein FliH	K02411	fliH
	-	PLGCOHOI_00526	flagellar protein FliO/FliZ	K02418	fliOZ, fliO
Sistema de Secreção Tipo IVa	GFFKBBAP_00190	PLGCOHOI_00612	YggT family protein	K02221	yggT
	GFFKBBAP_00621	PLGCOHOI_00924	competence protein ComEA	K02237	comEA
	GFFKBBAP_00619	PLGCOHOI_00922	competence protein ComEC	K02238	comEC
	GFFKBBAP_00622	PLGCOHOI_00925	competence protein ComER	K02239	comER

[continua]

[conclusão]

	Gene ID		Anotação	KO	Gene
	B116	B119			
Sistema de Secreção Tipo IVa	GFFKBBAP_00538	PLGCOHOI_00843	competence protein ComGA	K02243	comGA
	GFFKBBAP_00537	PLGCOHOI_00842	competence protein ComGB	K02244	comGB
	GFFKBBAP_00620	PLGCOHOI_00923	dCMP deaminase [EC:3.5.4.12]	K01493	comEB
	GFFKBBAP_00536	PLGCOHOI_00841	competence protein ComGC	K02245	comGC
	GFFKBBAP_02385	PLGCOHOI_01020	leader peptidase (prepilin peptidase) / N-methyltransferase [EC:3.4.23.43, 2.1.1.-]	K02236	comC
		PLGCOHOI_00838	competence protein ComGF	K02248	comGF
		PLGCOHOI_01909	competence protein ComK	K02250	comK
Sistema de translocação Twin-arginina	GFFKBBAP_01386	PLGCOHOI_03422, PLGCOHOI_03553, PLGCOHOI_04115, PLGCOHOI_06207	sec-independent protein translocase protein TatA	K03116	tatA
	GFFKBBAP_01387	PLGCOHOI_04116, PLGCOHOI_06206	sec-independent protein translocase protein TatC	K03118	tatC
Sistema Sec (secreção)	GFFKBBAP_03588	PLGCOHOI_04112	preprotein translocase subunit SecA [EC:7.4.2.8]	K03070	secA
	GFFKBBAP_05381	PLGCOHOI_05588	preprotein translocase subunit SecE	K03073	secE
	GFFKBBAP_03651	PLGCOHOI_04163	preprotein translocase subunit SecG	K03075	secG
	GFFKBBAP_01923, GFFKBBAP_05416	PLGCOHOI_05553, PLGCOHOI_06031	preprotein translocase subunit SecY	K03076	secY
	GFFKBBAP_00702	PLGCOHOI_00981	SecD/SecF fusion protein	K12257	secDF
	GFFKBBAP_00134	PLGCOHOI_00562	signal recognition particle subunit SRP54 [EC:3.6.5.4]	K03106	SRP54, ffh
	GFFKBBAP_00136	PLGCOHOI_00564	fused signal recognition particle receptor	K03110	ftsY
	GFFKBBAP_00707	PLGCOHOI_00986	preprotein translocase subunit YajC	K03210	yajC
	GFFKBBAP_03731	PLGCOHOI_03922, PLGCOHOI_00361	YidC/Oxa1 family membrane protein insertase	K03217	yidC, spolIJ, OXA1, ccfA
		PLGCOHOI_00562	signal recognition particle subunit SRP54 [EC:3.6.5.4]	K03106	SRP54, ffh

Tabela S16. Análise de variância para as médias das características morfofisiológicas de plântulas de milho inoculadas com as cepas B116 e B119 com e sem o estresse com 10% PEG.

Características avaliadas		Tratamentos		
		Não inoculado	B116	B119
AS (cm²)	sem peg	164,88 Aa	147,03 Aa	157,12 Aa
	com peg	155,94 Aa	144,19 Aa	147,90 Aa
AS1 (cm²)	sem peg	58,70 Aa	59,51 Aa	67,89 Aa
	com peg	61,73 Aa	51,70 Bb	55,75 ABb
AS2 (cm²)	sem peg	73,94 Aa	54,29 Aa	55,27 Aa
	com peg	64,09 Aa	59,36 Aa	55,85 Aa
AS3 (cm²)	sem peg	16,60 Aa	17,11 Aa	17,58 Aa
	com peg	13,24 Bb	17,40 Aa	19,16 Aa
V (cm³)	sem peg	4,22 Aa	3,63 Aa	3,79 Aa
	com peg	3,81 Aa	3,68 Aa	3,75 Aa
V1 (cm³)	sem peg	0,96 Ba	0,97 Ba	1,12 Aa
	com peg	1,02 Aa	0,85 Ba	0,91 ABb
V2 (cm³)	sem peg	2,76 Aa	1,98 Aa	1,97 Aa
	com peg	2,31 Aa	2,15 Aa	2,06 Aa
V3 (cm³)	sem peg	1,57 Aa	1,79 Aa	2,14 Aa
	com peg	1,29 Ba	1,70 ABa	2,11 Aa
PSPA (g)	sem peg	0,253 Aa	0,203 Ba	0,233 ABa
	com peg	0,183 Ab	0,177 Aa	0,190 Ab
PSR (g)	sem peg	0,040 Aa	0,047 Aa	0,050 Aa
	com peg	0,033 Ba	0,053 Aa	0,057 Aa
PST (g)	sem peg	0,293 Aa	0,250 Aa	0,280 Aa
	com peg	0,217 Ab	0,227 Aa	0,247 Aa
ÍNDICE SPAD	sem peg	32,92 Aa	33,64 Aa	33,09 Aa
	com peg	30,89 Ab	31,55 Ab	32,09 Aa

As médias seguidas pelas mesmas letras indicam que os tratamentos não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). As letras maiúsculas indicam a comparação entre as cepas e as minúsculas a comparação entre o tratamento com e sem 10% PEG.

Tabela S17. Quadro de análise de variância para as médias das características morfofisiológicas de plântulas de milho inoculadas com as cepas B116 e B119 com e sem o estresse com 10% PEG.

FV	GL	AS (cm ²)	AS1 (cm ²)	AS2 (cm ²)	AS3 (cm ²)	V (cm ³)	V1 (cm ³)	V2 (cm ³)	V3 (cm ³)	PSPA (g)	PSR (g)	PST (g)	Índice SPAD
Cepa	2	328,92 ^{ns}	62,42 ^{ns}	331,2 ^{ns}	18,59 [*]	0,21 ^{ns}	0,02 [*]	0,49 ^{ns}	0,72 ^{**}	0,00131 ^{ns}	0,00046 ^{**}	0,00097 ^{ns}	1,41 ^{ns}
PEG	1	220,57 ^{ns}	143,14 ^{ns}	8,81 ^{ns}	1,11b ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,04 [*]	0,02 ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,00980 ^{**}	0,00002 ^{ns}	0,00888 ^{**}	12,88 ^{**}
CepaxPEG	2	19,54 ^{ns}	91,57 ^{ns}	88,02 ^{ns}	9,87 ^{ns}	0,09 ^{ns}	0,03 [*]	0,17 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,00071 ^{ns}	0,00008 ^{ns}	0,0012 ^{ns}	0,06 ^{ns}
Erro	12	204,62	18,39	121,88	3,39	0,2	0,004	0,17	0,09	0,00044	0,00003	0,00053	0,88
Média		152,84	59,21	60,47	16,85	3,82	0,97	2,21	1,77	0,21	0,05	0,25	32,33
CV%		9,36	7,24	18,26	10,93	11,77	7,23	18,92	16,64	10,2	13,36	9,2	2,91

ns - não significativo, * significativo a 5%, ** significativo a 1% de probabilidade pelo Teste de Tukey. Fator de variação (FV), grau de liberdade (GL), área de superfície radicular total (AS) (cm²), área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 e 1,0 mm (AS1) (cm²), área de superfície de raízes com diâmetro entre 1,0 e 2,0 mm (AS2) (cm²), área de superfície de raízes com diâmetro maior que 2 mm (AS3) (cm²), volume total de raízes (V) (cm³), volume de raízes com diâmetro entre 0 e 1,0 mm (V1) (cm³), volume de raízes com diâmetro entre 1,0 e 2,0 mm (V2) (cm³), volume de raízes com diâmetro maior que 2 mm (cm³), peso seco de parte aérea (PSPA) (g), peso seco de raiz (PSR) (g), peso seco total (PST) (g), polietilenoglicol (PEG), coeficiente de variação (CV%).

Tabela S18. Características de morfologia radicular e peso seco de 21 genótipos de milho inoculados com duas cepas de *Bacillus* (B116 e B119).

Genótipos	Comprimento Radicular Total (cm)						Área Superficial Radicular Total (cm ²)					
	Não inoculado		B119		B116		Não inoculado		B119		B116	
DKB390	966	abcd A	863	a A	903	abcd A	347	abcde A	291	a B	339	abcde A
BRS1055	1161	efg A	1164	bcd A	1238	ef A	356	abcdf A	374	bcd A	372	ad A
BRS1010	1037	ace C	1282	b B	1444	g A	361	abdf B	437	e A	445	f A
BRS1030	879	bdh B	1043	cef A	998	abhi AB	333	ace A	346	bcd A	350	abcd A
BRS1040	1150	efg C	1805	g A	1521	g B	389	bdf C	603	g A	504	g B
BRS3046	636	i A	661	h A	739	c A	208	g B	215	hi AB	256	h A
BRS3042	842	bh B	1017	acefi A	901	ad AB	256	hi B	303	af A	288	ehij AB
BRS2022	763	hi A	873	ai A	863	acd A	259	hi A	288	a A	297	behij A
BRS3035	730	hi B	685	h B	928	abdh A	231	gh B	232	h B	293	ehij A
BRS1060	1003	acde A	977	aefi A	1071	behi A	335	ace A	328	abf A	347	acd A
1M1752	1316	fj A	1297	b A	1267	f A	379	abdf A	404	de A	381	ad A
1N1958	957	abd B	1221	bd A	1087	ehi AB	294	ei B	365	bcd A	315	bcei B
1N1906	873	abdh B	1027	acefi A	1160	efi A	295	ei B	346	bcd A	371	ad A
1O2112	1374	j A	1253	b A	1263	f A	401	F A	383	cd A	392	a A
1O2073	1217	fg A	1148	bcd A	964	abh B	369	abdf A	369	bcd A	309	bcei B
1O2008	1224	fg A	1100	cde AB	1032	abhi B	381	abdf A	363	bcd A	337	bcde A
1O2018	1008	abcde A	898	afi AB	787	cd B	307	cei A	289	a AB	257	hj B
1P2224	790	hi B	965	aefi A	883	acd AB	257	ghi B	307	af A	273	hij AB
1P2227	1133	ceg A	1035	cefi A	1027	abhi A	339	abce A	324	abf A	309	bceij A
1O2106	1216	fg A	1244	bd A	1211	ef A	399	df A	373	bcd A	375	ad A
L521236	427	k B	508	j A	456	j AB	148	J B	176	i A	153	k B

[continua]

[continuação]

Genótipos	Diâmetro Médio (mm)									Área Superficial com diâmetro entre 0 e 1 mm (cm ²)								
	Não inoculado			B119			B116			Não inoculado			B119			B116		
DKB390	1,213	ab	AB	1,15	abc	B	1,265	a	A	109,9	abc	A	99,5	ab	A	97,1	ab	A
BRS1055	1,07	cdef	A	1,108	abde	A	1,062	bcd	A	157,4	def	A	134,4	cdef	B	167,9	cd	A
BRS1010	1,186	ag	A	1,178	c	A	1,084	bcdef	B	135,3	ghijk	B	150,9	cg	B	196,1	e	A
BRS1030	1,26	b	A	1,141	abcd	B	1,194	g	AB	100	ablm	B	137,3	cdef	A	130,4	fghij	A
BRS1040	1,173	ag	A	1,172	ac	A	1,151	efg	A	144,8	degij	C	218,7	h	A	187,2	ce	B
BRS3046	1,064	cdeh	B	1,07	de	AB	1,135	befg	A	77,5	l	A	79,7	a	A	88,3	a	A
BRS3042	0,997	cehij	AB	0,978	fgh	B	1,049	c	A	99,4	abm	B	123,3	defi	A	107,8	abfk	AB
BRS2022	1,14	afgk	A	1,082	bde	A	1,131	bdefg	A	81,6	lm	A	100,7	b	A	93,3	a	A
BRS3035	1,04	cdehi	A	1,104	abcde	A	1,036	c	A	83,3	lm	B	77,3	a	B	116,1	bfgkh	A
BRS1060	1,091	cfk	A	1,104	abcde	A	1,063	cd	A	118	achk	AB	106,4	bi	B	129,3	ghij	A
1M1752	0,776	l	B	0,869	ij	A	0,825	hi	AB	155,9	defg	A	146,4	cdg	A	150,7	di	A
1N1958	0,874	mn	A	0,825	i	AB	0,791	h	A	113,4	ach	B	151,2	cg	A	140,5	ij	A
1N1906	0,985	hij	A	0,971	fgh	A	0,901	j	B	101,6	abm	B	119,9	befi	B	144,2	ij	A
1O2112	0,946	jm	A	0,983	fgh	A	1,014	c	A	177,9	f	A	164	g	AB	152,3	di	B
1O2073	0,983	ij	A	1,047	ef	A	1,042	c	A	138,9	dgijk	A	135,6	cdef	A	104	abk	B
1O2008	1,008	cehij	A	1,069	de	A	1,055	cd	A	159,5	ef	A	142,8	cde	AB	135,3	gij	B
1O2018	0,991	chij	B	1,044	efg	AB	1,072	bcde	A	130,5	chik	A	117,2	bfi	A	90,8	a	B
1P2224	0,946	j	A	0,912	hj	A	0,878	ij	A	91,5	blm	B	118,8	bfi	A	108,9	abfhk	AB
1P2227	0,837	ln	A	0,885	ij	A	0,836	hij	A	132,5	chijk	A	118,9	bfi	A	124,9	fghjk	A
1O2106	1,074	defk	A	0,975	gh	B	1,007	c	AB	155,5	degj	A	154,3	cg	A	142,2	ij	A
L521236	1,134	gk	A	1,141	abc	A	1,139	fg	A	43,5	n	A	48,4	j	A	46,4	l	A

[continuação]

Genótipos	Área Superficial com diâmetro entre 1 e 2 mm (cm ²)									Área Superficial com diâmetro maior que 2 mm (cm ²)								
	Não inoculado			B119			B116			Não inoculado			B119			B116		
DKB390	124,9	a	A	102,2	abcd	B	124	abcd	A	79,5	abcd	A	61,2	abcd	B	88	a	A
BRS1055	101,3	bcdefg	B	138,2	ef	A	103,6	efghijk	B	55	efghi	A	60	abcd	A	58,5	bc	A
BRS1010	107,6	abcdef	B	151,2	e	A	119,9	abceefgh	B	80,6	abcj	A	89	e	A	82,8	ad	A
BRS1030	110,8	abcef	A	109	abgh	A	100,4	efgijk	A	88,3	aj	A	62,7	abcdf	B	82,9	ad	A
BRS1040	118,5	ab	C	187,1	i	A	140,1	d	B	85,1	abj	B	133,9	g	A	122,4	e	A
BRS3046	62,1	hi	B	67,1	j	B	90,3	i	A	46	efghk	A	47,5	a	A	53,9	bc	A
BRS3042	85,1	dg	A	99,8	abcdk	A	103,6	aefghijk	A	44,5	efgk	A	47,6	a	A	45,2	b	A
BRS2022	95,1	cdfg	B	99,7	abcdk	B	119,6	abcdegh	A	57,1	eghi	A	58,9	abcd	A	54,6	bc	A
BRS3035	80,6	gh	A	83,8	cdjk	A	99,2	fijk	A	41,7	fk	A	45,9	a	A	46,3	b	A
BRS1060	116,7	abe	A	116,8	afgh	A	112,9	abefgh	A	65,7	cdi	A	70,7	bcf	A	68,6	cd	A
1M1752	124,3	a	A	134,7	efl	A	122,1	abcdeh	A	55,2	efghi	B	79,2	ef	A	67,1	cd	AB
1N1958	112,7	abcef	AB	127,4	fghlm	A	98,7	fgijk	B	37,7	kl	A	48,7	ad	A	42	b	A
1N1906	95,5	cdefg	A	115,1	agh	A	114,4	abefgh	A	68,9	bcdi	A	76,1	bef	A	76,1	ad	A
1O2112	117,5	abce	AB	106,7	abcg	B	128,8	bcd	A	59,8	ehi	A	70,3	bcf	A	69,6	cd	A
1O2073	150,6	j	A	132	eflm	AB	125,3	abcdh	B	42,1	fgk	B	65,5	bcdf	A	49,9	b	B
1O2008	92,2	dfg	A	92,2	bcdk	A	87,2	i	A	89,1	aj	A	89,6	e	A	77,5	ad	A
1O2018	81,8	gh	A	82,9	djk	A	91,7	ijk	A	62,9	dhi	A	59,7	abcd	A	48,7	b	A
1P2224	98,1	bcdefg	A	102,9	abcd	A	90,6	ik	A	41,9	fgk	A	54,3	acd	A	45,9	b	A
1P2227	113,2	abcef	A	113,9	abgh	A	102,7	aefghijk	A	55,2	efghi	A	56,4	acd	A	45,8	b	A
1O2106	106,6	abcdef	B	127,3	fh	A	138,8	cd	A	97,1	j	A	52,3	ad	B	55,5	bc	B
L521236	63,2	i	B	84	jk	A	65,2	l	B	27,1	l	A	27,5	h	A	26,7	f	A

[continuação]

Genótipos	Peso Seco Parte Aérea (g)						Peso Seco Raiz (g)					
	Não inoculado		B119		B116		Não inoculado		B119		B116	
DKB390	0,509	ab A	0,384	ab B	0,494	abc A	0,1203	a A	0,0791	abc B	0,1198	ab A
BRS1055	0,343	cdef A	0,401	abcd A	0,338	de A	0,0813	bcd A	0,0915	ad A	0,0796	cdef A
BRS1010	0,327	cdeg B	0,484	ef A	0,424	fghij A	0,0885	bce B	0,1212	e A	0,0988	gh B
BRS1030	0,405	fh A	0,383	ab A	0,401	dfghk A	0,1034	fgh A	0,08	abc B	0,0936	cdgh AB
BRS1040	0,339	cdeg C	0,583	g A	0,459	abcfij B	0,0952	bef C	0,1621	f A	0,1303	a B
BRS3046	0,265	g A	0,262	hi A	0,313	e A	0,0553	ij B	0,0583	gh B	0,0739	e A
BRS3042	0,31	ceg B	0,34	aj B	0,424	abfgij A	0,0584	ijk B	0,0703	bg B	0,0888	cdfigh A
BRS2022	0,278	cg A	0,288	hj A	0,332	de A	0,0752	cd A	0,0728	bcg A	0,0843	cdefg A
BRS3035	0,268	g B	0,28	hj B	0,356	dehk A	0,0682	dik A	0,0683	bg A	0,0774	cef A
BRS1060	0,324	cdeg A	0,379	a A	0,361	degkh A	0,0851	bce AB	0,0932	ad A	0,0785	cdef B
1M1752	0,483	a A	0,54	eg A	0,493	aci A	0,1174	ag AB	0,1319	e A	0,1041	bh B
1N1958	0,318	ceg A	0,381	ab A	0,322	e A	0,0756	cd A	0,082	abc A	0,0696	e A
1N1906	0,391	dfh B	0,472	cf A	0,421	befghjk AB	0,0938	bef A	0,1	d A	0,0949	dgh A
1O2112	0,44	ah A	0,492	ef A	0,487	abcij A	0,0816	bcd B	0,1002	d A	0,0994	gh A
1O2073	0,37	def B	0,455	bcd A	0,399	dfghk AB	0,0735	cdk B	0,0957	ad A	0,0817	cdef AB
1O2008	0,492	ab A	0,475	cef A	0,494	abcij A	0,0988	efh A	0,093	ad A	0,0991	gh A
1O2018	0,363	def A	0,384	a A	0,346	dek A	0,072	cdik A	0,083	abc A	0,0753	ef A
1P2224	0,324	ceg A	0,375	a A	0,341	de A	0,0757	cd A	0,0739	bcg A	0,0698	e A
1P2227	0,564	b A	0,461	cdf B	0,532	c A	0,1142	agh A	0,0879	acd B	0,1044	bh A
1O2106	0,457	ah A	0,386	ad B	0,432	abfgij AB	0,1082	afgh A	0,0828	abc B	0,0914	cdgh B
L521236	0,186	i A	0,216	i A	0,199	l A	0,0492	j A	0,0542	h A	0,0523	i A

[conclusão]

Genótipos	Peso Seco Total (g)								
	Não inoculado			B119			B116		
DKB390	0,629	ab	A	0,463	abcd	B	0,614	a	A
BRS1055	0,425	cdef	A	0,493	abcde	A	0,418	bcd	A
BRS1010	0,416	cdef	C	0,606	fg	A	0,523	efgh	B
BRS1030	0,508	ghij	A	0,463	abcd	A	0,495	bef	A
BRS1040	0,434	cdegh	C	0,745	h	A	0,589	agh	B
BRS3046	0,32	k	A	0,321	ij	A	0,387	c	A
BRS3042	0,368	cefk	B	0,411	akl	B	0,513	egh	A
BRS2022	0,353	cfk	A	0,361	ikl	A	0,417	bcd	A
BRS3035	0,336	fk	B	0,348	ik	B	0,433	bcdf	A
BRS1060	0,409	cdef	A	0,472	abcd	A	0,439	bcdef	A
1M1752	0,601	abl	A	0,672	fh	A	0,597	ag	A
1N1958	0,393	cefk	A	0,463	ab	A	0,392	cd	A
1N1906	0,485	dghi	B	0,572	eg	A	0,516	efh	AB
1O2112	0,522	gijl	A	0,592	fg	A	0,587	agh	A
1O2073	0,444	degh	B	0,55	bceg	A	0,48	bdef	AB
1O2008	0,591	abjl	A	0,568	eg	A	0,593	agh	A
1O2018	0,435	cdeh	A	0,467	ad	A	0,421	bcd	A
1P2224	0,4	cefk	A	0,449	al	A	0,411	bcd	A
1P2227	0,678	a	A	0,549	cdeg	B	0,636	a	A
1O2106	0,565	bijl	A	0,469	ad	B	0,523	efgh	A
L521236	0,235	m	A	0,27	j	A	0,251	i	A

*Tratamentos seguidos pela mesma letra não diferem significativamente a 10 % pelo teste de Tukey. As letras maiúsculas se referem a diferenças entre cepas, enquanto as letras minúsculas se referem às diferenças entre genótipos de milho.