

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E
BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
CURSO DE MESTRADO**

**TOLERÂNCIA A SALINIDADE EM PLANTAS DE *Phaseolus
vulgaris* L. INOCULADAS COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DE
CRESCIMENTO ORIUNDAS DO SEMIÁRIDO BAIANO**

ELIANE DE SOUZA SILVA

CRUZ DAS ALMAS-BAHIA

JUNHO-2015

TOLERÂNCIA A SALINIDADE EM PLANTAS DE *Phaseolus vulgaris* L. INOCULADAS COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO ORIUNDAS DO SEMIÁRIDO BAIANO

ELIANE DE SOUZA SILVA

Bióloga

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia- UFRB, 2013

Dissertação submetida ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e Embrapa Mandioca e Fruticultura, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Microbiologia Agrícola.

Orientadora: Dra. Ana Cristina Fermino Soares

Co-orientador: Dr. Hans Raj Gheiy

CRUZ DAS ALMAS-BAHIA

JUNHO-2015

FICHA CATALOGRÁFICA

S586t

Silva, Eliane de Souza.

Tolerância à salinidade em plantas de *Phaseolus vulgaris* L. inoculadas com bactérias promotoras de crescimento oriundas do semiárido baiano / Eliane de Souza Silva. _

Cruz das Almas, BA, 2015.

59f.; il.

Orientadora: Ana Cristina Fermino Soares.

Coorientador: Hans Raj Gheyi.

Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.

1.Feijão-Cultivo. 2.Feijão-Bactéria diazotrófica-Microorganismos do solo. 3. Regiões Áridas – Bahia..

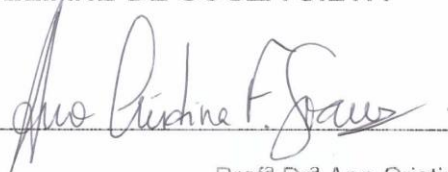
I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.

CDD; 635.652

Ficha elaborada pela Biblioteca Universitária de Cruz das Almas– UFRB.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E
BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA
AGRÍCOLA
CURSO DE MESTRADO

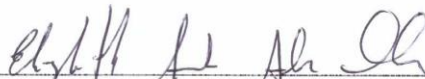
COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
ELIANE DE SOUZA SILVA



Prof^a Dr^a Ana Cristina Fermino Soares
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB
(Orientadora)



Prof^a Dr^a Rafaela Simão Abrão Nóbrega
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB



Prof^a Dr^a Elizabeth Amélia Alves Duarte
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – PNPd/CAPES/UFRB

Dissertação homologada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em
Microbiologia Agrícola em _____
conferindo o grau de Mestre em Microbiologia Agrícola
em _____.

“Há uma força motriz mais poderosa que o vapor, a eletricidade e a energia atômica: a VONTADE.”

(Albert Einstein)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a DEUS, por estar presente em todos os momentos e em tudo não me deixa fraquejar. Obrigado pai por cuidar de mim!

A minha família, meus pais e irmãos. Sem o apoio de vocês não teria chegado até aqui, sinto-me abençoada por ter uma família tão especial, tão unida e companheira.

A UFRB e ao Programa de Pós-graduação em Microbiologia Agrícola pela minha formação profissional e a CAPES pela concessão da bolsa de mestrado e do auxílio a pesquisa. A FAPESB pelo apoio ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola por meio dos editais de infra-estrutura e de apoio a Pós-graduação.

A minha orientadora, Profa. Ana Cristina Fermino Soares pelo apoio, incentivo e por ter demonstrado confiança em meu trabalho.

Ao meu co-orientador, Prof. Hans Raj Gheyi (NEAS), serei eternamente grata por toda atenção e paciência e por todas as contribuições, as quais foram enriquecedoras para a realização deste trabalho.

Ao Laboratório de Microbiologia, Bloco L de Laboratórios do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB) da UFRB; as técnicas Lene e Carol, por todo o auxílio durante essa caminhada. Os colegas do laboratório: Fabio, Cristiano, Vanessa, Edina, Jucimar, Lica, Jack, Jozilda, Beth, Thiago Cris, Liane. Sem esquecer ela, minha gringa maluquinha, Zayda (a pinta). Sou grata a todos pelo convívio diário e por todas as aflições compartilhadas e palavras de ânimo.

Ao amigo, Adailson Feitoza, com quem aprendi os primeiros passos na pesquisa científica.

Aos colegas do mestrado: Carina, Indiara, Carine, Kelly e Mayk. Sem vocês não haveria graça.

Agradeço a Embrapa Arroz e Feijão de Santo Antônio de Goiás, pela disponibilização das sementes.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1. Bactérias isoladas de diferentes tecidos vegetais e da rizosfera de plantas de sisal do município de Conceição de Coité, Bahia, Brasil.....23

Tabela 2. Caracterização química do solo coletado em área de pastagem, no campus de Cruz das Almas da UFRB na profundidade de 0 a 20 cm.....24

Tabela 3. Resumo da análise de variância, valores de quadrados médios para as variáveis: comprimento de radícula (CR), comprimento do caule (CC) e peso fresco da plântula (PFP).....25

Tabela 4. Efeito da salinidade no comprimento da radícula, do caule e na produção de massa fresca de diferentes cultivares de plântulas de feijão germinadas *in vitro*, em meio agar-água com NaCl.....26

Tabela 5 Número de folhas em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), cultivadas em solo salino e não salino e inoculadas com bactérias diazotróficas. Avaliações realizadas aos 15, 30 e 45 dias após a germinação.....27

Tabela 6. Comprimento da raiz em (cm) de plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), cultivadas em solo salino e não salino e inoculado com bactérias diazotróficas.....29

Tabela 7. Efeito da inoculação de bactérias diazotróficas, no rendimento em porcentagem na massa fresca da parte aérea em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), cultivares BRS Ametista e BRS Estilo.....30

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Caracterização química do solo coletado em área de pastagem, no campus de Cruz das Almas da UFRB na profundidade de 0 a 20 cm.....38

Tabela 2. Efeito da salinidade no número de folhas, diâmetro e altura das plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar BRS Estilo, cultivadas em solo salino e não salino. Avaliação aos 15 e 30 dias.....39

Tabela 3. Efeito da interação bactéria x sal, no comprimento da raiz em (cm) de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), cultivar BRS Estilo, cultivado em solo salino e não salino e inoculado com bactérias diazotróficas.....40

Tabela 4. Efeito da interação bactéria x sal, na produção de massa seca (g) da raiz de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), cultivar BRS Estilo, cultivado em solo salino e não salino e inoculado com bactérias diazotróficas.....42

Tabela 5. Efeito significativo da interação (bactéria x sal), referente à variável área foliar fotossinteticamente inativa (AFFI) em (cm²) em folhas de raiz de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar BRS Estilo, submetida ao cultivo em solo salino e não salino e inoculado com bactérias diazotróficas.....43

ÍNDICE

Lista de tabelas.....	
Resumo geral.....	
Abstract.....	
Introdução.....	01
Revisão de literatura.....	03
A salinização do solo.....	03
Impactos causados as plantas pela salinidade.....	04
O feijão <i>Phaseolus vulgaris</i> L.....	06
Bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV).....	07
Referências.....	11
CAPÍTULO 1.....	19
Tolerância à salinidade em <i>Phaseolus vulgaris</i> L. inoculado com bactérias diazotróficas do semiárido Baiano.....	20
Resumo.....	20
Abstract.....	20
Introdução.....	21
Material e Métodos.....	22
Tolerância de feijão a salinidade <i>in vitro</i>	22

Isolados bacterianos e preparo de inoculo.....	23
Plantio e crescimento de cultivares de feijão inoculadas com bactérias em solo salinizado e não salinizado.....	24
Resultados e discussão.....	25
Tolerância das cultivares de feijão a condições de salinidade <i>in vitro</i>	25
Avaliação do potencial das bactérias em promover tolerância ao estresse salino em plantas de feijão cultivadas em vasos.....	26
Conclusões.....	30
Agradecimentos.....	31
Literatura citada.....	31
CAPÍTULO 2.....	34
Bactérias diazotróficas isoladas e em consórcio na tolerância de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) a salinidade.....	35
Abstract.....	35
Resumo.....	35
Introdução.....	36
Material e Métodos.....	37
Preparo do inóculo.....	37
Desinfestação das sementes.....	38
Indução da salinidade do solo.....	38
Resultados e Discussão.....	39
Conclusões.....	44
Agradecimentos.....	44
Literatura citada	45
Considerações finais.....	47

RESUMO

SILVA, E. S. Tolerância a salinidade em plantas de *Phaseolus vulgaris* L. Inoculadas com bactérias promotoras de crescimento oriundas do semiárido baiano

Solos salinos são frequentes em regiões áridas e semiáridas em virtude do baixo índice pluviométrico e também ocorrem em solos sob manejo de irrigação inadequada e/ou uso excessivo de fertilizantes. Estudos com micro-organismos tolerantes a salinidade e sua interação com plantas em condições de estresse salino, tem apresentado resultados positivos em relação a melhor tolerância das plantas a essa condição de estresse. Diversos mecanismos de adaptação de plantas a estresses abióticos vem sendo estudados, incluindo a promoção de crescimento vegetal por bactérias diazotróficas. A produção de exopolissacarídeo (EPS) e o acúmulo de solutos inorgânicos por micro-organismos desempenham papel relevante como osmoprotetores das células. Além desses, mecanismos como a fixação biológica do nitrogênio (FBN), solubilização de fosfato, produção de ácido-indol-acético (AIA) e produção da enzima ACC deaminase (1-aminociclopropano-1-carboxilato), estão relacionados à promoção do crescimento sob estresses abióticos. O presente trabalho teve o objetivo de avaliar os efeitos das bactérias diazotróficas identificadas como: *Bacillus licheniformis* (isolados 1, 2 e 3), *B. megaterium*, *B. subtilis*, *Burkholderia cenocepacia*, *Cellulomonas pakistanensis*, *Enterobacter oryzae* e *Rhizobium miluonense* (isolados 1 e 2), no crescimento de plantas de feijão cultivadas em solo salino e não salino. Foi avaliado o efeito isolado e em consórcio das mesmas bactérias, em ambas as condições com e sem salinidade. Assim sendo, foi possível observar que *Rhizobium miluonense* (isolados 1 e 2) e *B. megaterium*, reduziram os efeitos causados pelo estresse salino e promoveram o aumento do número de folhas no feijão, na condição de estresse. Para a variável comprimento das raízes e produção de massa fresca da parte aérea da cultivar BRS Estilo, *R. miluonense* (1) e *B. licheniformis* (2) destacaram-se entre as demais e diferiram da testemunha. Os consórcios entre *R. miluonense* (2) e *B. licheniformis* (2) e entre *R. miluonense* (2) e *B. subtilis* promoveram o aumento no comprimento das raízes, sob condições de salinidade e reduziram a área foliar fotossinteticamente não ativa das plantas de feijão. Estes isolados bacterianos, em consórcio, são promissores para promoção de crescimento de tolerância a salinidade em plantas de feijão da cultivar BRS estilo.

Palavras-chave: cultivo, feijão, estresse abiótico, micro-organismos

ABSTRACT

SILVA, E. S. Salinity tolerance in *Phaseolus vulgaris* L. inoculated with plant growth-promoting bacteria from the semiarid of Bahia

Saline soils are common in arid and semiarid regions because of low rainfall, inadequate irrigation and excessive use of fertilizers. Studies with salinity tolerant microorganisms and their interaction with plants in salt stress conditions, has shown positive results in relation to better tolerance of plants to this stress condition. Several plant adaptation mechanisms to abiotic stresses have been studied, including the plant growth-promoting diazotrophs. The production of exopolysaccharides (EPS) and inorganic solutes accumulation by microorganisms performs an important role as osmoprotectors cells. Besides these, mechanisms such as biological nitrogen fixation (BNF), phosphate solubilization, *Indole-3-acetic acid* (IAA) and production of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) *deaminase* enzyme are related to promoting growth under abiotic stresses. This study aimed to evaluate the effect of the diazotrophic bacteria *Bacillus licheniformis* (isolates 1, 2 and 3), *B. megaterium*, *B. subtilis*, *Burkholderia cenocepacia*, *Cellulomonas pakistanensis*, *Enterobacter oryzae* and *Rhizobium miluonense* (isolates 1 and 2), on the growth of bean plants cultivated in saline soil and not saline soil. The effect of these bacteria isolated and in consortium was evaluated in both conditions, with and without saline soil. It was observed that *Rhizobium miluonense* (1) and (2) and *B. megaterium* reduced the effects caused by salt stress, and promoted an increase in leaf number in beans grown under stress condition. For roots length and fresh mass production of aerial part of BRS Estilo bean cultivar, *R. miluonense* (1) and *B. licheniformis* (2) were pointed out among the other bacteria as more efficient and were statistically different from the control treatment. The consortia with *R. miluonense* (2) and *B. licheniformis* (2) and also with *R. miluonense* (2) and *B. subtilis* promoted root length and reduced leaf area photosynthetically not active in bean plants under salinity stress conditions. These bacteria, isolated and in consortium are promising for plant growth promotion and tolerance to salinity stress in bean plants, cultivar BRS Estilo.

Keywords: cultivation, beans, abiotic stress, microorganisms

INTRODUÇÃO

A salinidade constitui um dos mais sérios problemas ambientais, afetando o crescimento das culturas em todo o mundo. Solos salinos chegam a reduzir a cada ano, cerca de 1-2% de áreas que poderiam ser utilizadas para agricultura, principalmente em regiões áridas e semiáridas (FAO, 2008). A salinização pode ocorrer por processos naturais ou pela ação antrópica, a exemplo do acúmulo de sais provenientes do manejo inadequado do solo ou irrigação e, do uso excessivo de fertilizantes (RAVIKUMAR, 2008; LEITE, 2012). O estresse salino, por meio do efeito osmótico, causa redução na disponibilidade de água, toxicidade ou desbalanço nutricional, modificações morfológicas, estruturais e metabólicas, resultando na inibição do crescimento vegetativo (VIANA et al., 2004).

Bactérias promotoras do crescimento de plantas podem ser úteis no desenvolvimento de estratégias para o crescimento de plantas em solos salinos (MAYAK et al., 2004; KOHLER et al., 2009). As bactérias diazotróficas apresentam mecanismos de adaptação ao estresse osmótico, possivelmente relacionados ao acúmulo intracelular de solutos orgânicos, denominados osmólitos (MADKOUR et al., 1990), os quais são responsáveis por aumentar a pressão osmótica citoplasmática, evitando a perda de água para o meio e também com ação na estabilização de proteínas e membranas (McNEIL et al., 1999).

Neste trabalho abordamos o estudo da salinidade para as quatro principais cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), conhecidas como feijão carioca, que são as mais cultivadas no Brasil e, com indicações para a Bahia. As cultivares BRS Amestista, BRS Estilo, BRS Notável e Perola são reportadas na literatura científica, as características de produtividade, resistência a algumas doenças do feijoeiro e precocidade, mas os estudos com estresses abióticos como salinidade ainda são incipientes. Neste aspecto, realizamos estudos *in vitro* com cinco concentrações de NaCl que foram eficientes para selecionar duas cultivares, a mais tolerante e a mais sensível ao estresse salino. A partir dessas análises foram feitos ensaios em casa de vegetação, em solo com e sem NaCl, duas cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) e

bactérias diazotróficas identificadas e reportadas como promotoras de
crescimento de plantas

REVISÃO DE LITERATURA

A SALINIZAÇÃO DO SOLO

Solos afetados por sais, também conhecidos por solos halomórficos ou solos salinos e sódicos, são solos desenvolvidos em condições adversas de drenagem e caracterizados pela presença de sais solúveis, sódio trocável ou ambos, em horizontes ou camadas próximas à superfície (RIBEIRO, 2010). Os solos salinos apresentam condutividade elétrica de saturação igual ou superior a 4 dS/m, equivalente a 40 mM de NaCl (USDA-ARS, 2008). A salinização consiste da acumulação de sais solúveis em água no solo, incluindo os íons de potássio (K^+), magnésio (Mg^{2+}), cálcio (Ca^{2+}), cloreto (Cl^-), sulfato (SO_4^{2-}), carbonato (CO_3^{2-}), bicarbonato (HCO_3^-) e sódio (Na^+) (ABROL et al., 1988).

A salinidade acarreta sérios problemas a qualidade dos solos e conseqüentemente a agricultura. Pode-se afirmar que as três principais fontes naturais de sais no solo são o intemperismo mineral, a precipitação atmosférica e os sais fósseis (remanescentes dos ambientes marinhos e lacustres). Os sais também podem ser adicionados aos solos através de atividades humanas, incluindo o uso de água de irrigação salmoura, altamente salina, ou de resíduos industriais (BOHN et al., 1985). Em decorrência da salinização, há uma redução da capacidade das plantas de absorverem água, ocasionando redução na taxa de crescimento e alterações metabólicas na planta, idênticas às provocadas pelo estresse hídrico (MUNNS, 2002). Segundo Whitemore (1975), o fenômeno de salinização é notoriamente observado sob condições de aridez. O mesmo autor relata que a alta taxa de evaporação e precipitação, aliada as características do material de origem e as condições geomorfológicas e hidrológicas, propiciam a formação de solos com teores elevados de sais solúveis e sódio trocável.

Em locais de clima semiárido observa-se com frequência solos com elevadas concentrações de sais e, em muitos casos, os mesmos encontram-se salinizados, independentes da ação do homem, ou seja, são naturalmente salinos (JUNIOR; SILVA, 2010). Os solos salinos apresentam como

características físicas e hídricas, baixa permeabilidade, baixa condutividade hidráulica e instabilidade dos agregados (SANTOS, 1995).

No Brasil, solos salinos e sódicos ocorrem no Rio Grande do Sul, no Pantanal Mato-Grossense e, predominantemente, na região semiárida do nordeste (RIBEIRO, 2010). De forma geral, cerca de 100 milhões de hectares de solos cultivados do Brasil são afetados pela alta salinidade (SZABOLCS, 1994; MONTEIRO, 2010). Este problema é mais predominante na região Nordeste, com área de 155 milhões de hectares, sendo que 52% dessa superfície é semiárida (HOLANDA et al., 2010). Dessas áreas, 20 a 25% são irrigadas e/ou são próximas aos rios e riachos intermitentes, destacando-se os solos aluviais, que apresentam problemas de salinidade e drenagem (FAO, 2008). Além dos solos salinos em áreas irrigadas, também existem grandes áreas afetadas por causas naturais, equivalentes a 2,4% do total da área terrestre do Brasil.

IMPACTOS CAUSADOS AS PLANTAS PELA SALINIDADE

O estresse salino representa um sério problema à agricultura por limitar o crescimento e a produção, induzindo modificações morfológicas, estruturais e metabólicas em plantas superiores (IZZO et al., 1991). A salinidade reduz o crescimento e o desenvolvimento das plantas por efeito osmótico, ocasionando estresse hídrico por problemas de íons específicos que acarretam a diminuição do potencial de água no solo, restrição de absorção de água pelas raízes e efeito tóxico resultante da concentração de íons no protoplasma (SHANNON, 1997; TOBE; OMASA, 2000; OLIVEIRA et al., 2011).

Diversos trabalhos têm sido conduzidos para elucidar os efeitos causados pela salinidade em diversas culturas. Coelho et al. (2013), avaliaram os efeitos do estresse salino no solo e observaram redução na evapotranspiração e potencial osmótico foliar do feijoeiro (*Vigna unguiculata* L. (Walp.)). Também em feijão de corda, Abreu (2012), realizou análise fisiológica, bioquímica e proteômica de respostas ao estresse salino em diferentes cultivares, sendo possível inferir que a tolerância diferencial pode estar relacionada com a regulação dos níveis de proteínas, envolvidas nos passos iniciais da fotossíntese. Dantas et al. (2003), avaliaram a tolerância de 14

variedades da referida espécie, á 5 níveis de salinidade e encontrou diferenças significativas na tolerância das mesmas com relação aos níveis. Medeiros et al. (2007), avaliaram o crescimento de híbridos de meloeiro submetidos a três níveis de salinidade da água de irrigação, concluindo que variáveis de crescimento e produção, foram afetadas pelo aumento da salinidade da água. Bezerra; Willadino; Camara (2001), estudaram o efeito de concentrações de NaCl sobre calos embriogênicos de milho e afirma ter observado decréscimo no crescimento dos calos, bem como redução nos teores de prolina, provavelmente em função de um aumento da fração não embriogênica dos calos. Nobre et al. (2010), avaliaram o crescimento e floração do girassol em função da concentração salina das águas de irrigação e afirmaram observar redução na altura de planta, no diâmetro caulinar, na fitomassa seca da parte aérea, e nos diâmetros externo e interno do capítulo, além de retardar o início do florescimento das plantas.

O estresse salino pode acometer a redução do crescimento das plantas em virtude dos efeitos adversos do excesso de sais sob a homeostase iônica, o balanço hídrico, a nutrição mineral e o metabolismo de carbono fotossintético (ZHU, 2001; MUNNS, 2002). Nesse contexto, Flowers; Flowers (2005) relatam que além dos efeitos supracitados pode ocorrer também o efeito tóxico de íons específicos, como sódio, cloreto, boro e nitrato, dentre outros, que provocam injúrias, associadas à acumulação excessiva do íon específico na planta.

A redução da água associada com os efeitos tóxicos dos sais interfere no processo de absorção de água pelas sementes, exercendo influência também no desenvolvimento normal das plantas (REBOUÇAS et al., 1989; RHOADES et al., 2000), e em alguns processos biológicos, como a fixação biológica de nitrogênio, pois prejudica a eficiência da simbiose (SHEREEN et al., 1998). Uma das primeiras respostas das plantas ao estresse salino é a redução da expansão da superfície foliar, aliada a uma intensificação do estresse (WANG; NIL 2000). O estresse salino afeta mecanismos tais como: homeostase, balanço osmótico, síntese e acumulação de osmólitos orgânicos como: prolina, batatina, poliaminas e açúcares solúveis que são reportados como osmoprotetores (HASEGAWA et al., 2000; HASEGAWA; MATTHEW, 2005; DUCA; BÂRSAN, 2001; Grigore et al., 2011). Também causa aumento na taxa de respiração, toxicidade de íons (SUDHIR; MURTHY, 2004),

mudanças no metabolismo de C e N (KIM et al., 2004) e decréscimo na biossíntese de clorofila (KHAN, 2002).

A capacidade fotossintética é reduzida ou se torna ineficiente devido ao estresse osmótico e fechamento estomático parcial (MUNNS, 2002; MELONI et al., 2003). Com o aumento de sais na raiz, muitos processos nas plantas são afetados em decorrência do declínio do potencial de água do solo e até mesmo nas folhas (LIMA et al., 1998). Ocorre o desbalanço nutricional nas plantas em virtude da competição entre os sais e os nutrientes no processo de absorção e, conseqüentemente, redução na qualidade e produtividade vegetal (GRATTAN; GRIEVE, 1999; DEMIRAL, 2005; NOBRE et al., 2010).

Diante de tantas variáveis que envolvem o comportamento das plantas em condições de estresse abiótico, sobretudo salino, decorrem vários mecanismos de resposta, caracterizando as plantas como tolerantes e sensíveis. Tal diferença se deve à capacidade osmótica que algumas culturas apresentam de manter a produção, mesmo em condições elevadas de salinidade (AYERS; WESTCOT, 1999). Entre as plantas cultivadas, a irrigação (manejo e frequência) tem forte influência na salinidade do solo e os efeitos tem sido reportados para cultivares de melão (MEDEIROS et al., 2008), tomate (MEDEIROS et al., 2012), milho UFVM 100 (FERREIRA et al., 2007), entre outras. Para a maioria das cultivares de feijão do gênero *Phaseolus*, os estudos remetem a influência da salinidade na produção de vagens e germinação de sementes, considerando o efeito da irrigação com água salina e evolução na condutividade elétrica do solo (SOUZA, 1995; RAHMAN et al., 2000; BAYUELOS et al., 2002; SANTANA et al., 2003).

O FEIJÃO *Phaseolus vulgaris* L.

O feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.) é descrito como originário do Sul da América, mas alguns autores o consideram de origem Asiática e até desconhecida (EMBRAPA, 2006). A cultura é considerada um dos mais importantes constituintes da dieta da população brasileira, sendo a base alimentar da população de muitos países em desenvolvimento, além de ser reconhecida como uma excelente fonte protéica, de carboidratos e de ferro (VIEIRA et al., 2006). O Brasil é o maior produtor e consumidor mundial dessa

leguminosa, com produção em torno de três milhões de toneladas e produtividade média de 1022 kg ha⁻¹ (IBGE, 2013).

Entretanto, a produção de feijão vem sendo prejudicada pelo processo de salinização dos solos e pela irrigação com água salinizada. De acordo com Ayers & Westcot (1991), quando cultivado em solo com salinidade no extrato de saturação maior que 1,0 dS m⁻¹ a 25°C, o feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) apresenta redução na produção de grãos. De maneira semelhante, quando submetido à irrigação com água com valores acima de 2,4 dS m⁻¹ de condutividade elétrica, pode haver uma redução de até 50% na produção da cultura (BERNARDO, 1996). Apesar de ser considerado como sensível ao estresse salino, o feijão possui variedades com certa tolerância à salinidade que, por sua vez identificadas, poderão ser usadas em estudos e em cultivos comerciais em áreas salinizadas (ARAÚJO et al., 2010).

Costa et al. (2003), afirmam ter observado diferença no grau de tolerância à salinidade em diferentes cultivares de feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). Ao avaliar variedades de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), quanto a tolerância a salinidade, Araújo et al. (2010) diferenciaram dois grupos: sensível e tolerante, com base em variáveis de crescimento. Nesse contexto, ressalta-se a importância da realização de testes que viabilizem a confirmação e segregação de cultivares sensíveis e tolerantes ao estresse salino, como forma de otimizar o rendimento de cultivares que sejam tolerantes e que possam ser recomendadas para em regiões áridas e semiáridas, predispostas a este estresse.

BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS (BPCP)

As bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) compreendem um grupo de microrganismos benéficos às plantas devido à capacidade de colonizarem a superfície das raízes, rizosfera, filosfera e tecidos internos das plantas e produzirem substâncias que promovem o crescimento vegetal (DAVISON, 1988; KLOEPFER et al., 1989). Essas bactérias incluem as denominadas de diazotróficas ou fixadoras de N₂, que em associação com diversas espécies de plantas e em diferentes graus de especificidade, recebem à classificação como bactérias associativas, endofíticas, ou simbióticas ou

podem ser de vida livre e apresentam a capacidade de fixar o nitrogênio atmosférico, tornando-o disponível para as plantas (HUNGRIA et al., 2007). Estas pertencem principalmente ao grupo das β -Proteobactérias e estão incluídas em diferentes gêneros, podendo ser de vida livre, estar associados a espécies vegetais, ou ainda, estabelecer simbiose com leguminosas (SABINO, 2007; MOREIRA et al., 2010).

Dada a habilidade destas bactérias em converter nitrogênio atmosférico em amônia, que pode ser utilizada pela planta, elas são também consideradas promotoras de crescimento vegetal. A capacidade destas bactérias de sobreviver em ambientes deficientes em nitrogênio pode promover o enriquecimento seletivo da rizosfera (DOBBELAERE et al., 2003). Em ecossistemas naturais, a fixação biológica do nitrogênio (por diazotróficas de vida livre, associativas e simbióticas) é considerada a fonte mais importante de nitrogênio que varia de 0 a 60 Kg heq/ano (CLEVELAND et al., 1999). Diversos trabalhos têm demonstrado que a inoculação com bactérias diazotróficas pode promover o melhor crescimento da planta hospedeira. Embora os mecanismos de ação das BPCPs ainda não estejam bem esclarecidos, inúmeros benefícios estão associados ao aumento de massa radicular, nutrição nitrogenada, aumento na eficiência de absorção de nutrientes do solo (BASHAN et al., 2004), produção de substâncias reguladoras do crescimento vegetal (DOBBELAERE et al., 2003) como auxinas (AIA), giberelinas e citocininas, as quais são relatadas por contribuir com a melhoria da nutrição mineral e utilização de água pelas plantas (BAZZICALUPO; OKON, 2000), fixação biológica do nitrogênio e solubilização de fosfatos inorgânicos (VESSEY, 2003; HARA; OLIVEIRA, 2004).

Dentre estas substâncias reguladoras de crescimento supramencionadas merece destaque a auxina, também denominada de ácido-indol-3 acético, que é um hormônio vegetal responsável por regular vários processos celulares e de desenvolvimento dos vegetais (KENDE; ZEEVAART, 1997). Este hormônio é produzido no meristema apical das plantas, tendo a função de promover o crescimento de raízes e caules através do alongamento celular (CENTELLAS et al., 1999). A produção de AIA varia de acordo com os gêneros e espécies de bactérias. Ahmad et al. (2008), em testes quantitativos

para produção de AIA, observaram maior produção por isolados de *Pseudomonas* sp., seguido por espécies de *Bacillus* e *Azotobacter*.

A inoculação com bactérias diazotróficas de vida livre tais como: *Azotobacter*, *Pseudomonas* e *Azospirillum*, promoveu o aumento da produção do arroz em 20-55% (YANNI, EL FATTAH 1999; MIRZA et al., 2006; BALANDREAU 2002). Nessa mesma cultura, uma cepa de *Burkholderia* promoveu o aumento da biomassa da planta em até 69% (KENNEDY et al. 2004). De acordo com German (2000), ao inocular plantas de feijão com *Azospirillum brasiliense* estirpe Cd, houve estímulo do crescimento e aumento do acúmulo de massa seca e da superfície específica das raízes. Em um trabalho realizado por Dardanelli et al., (2008) foi observado que a inoculação com *Azospirillum brasiliense* promoveu ramificação de raízes em mudas de feijão e aumento da secreção de genes *nod*, bem como a indução da produção de flavonoides.

As plantas estão constantemente sujeitas a condições severas de estresses ao longo do seu ciclo de vida, tais como: baixas e altas temperaturas, salinidade, seca ou inundação, estresse oxidativo, intoxicação por metais pesados e ataques de patógenos, entre outros (MAHAJAN & TUTEJA, 2005). Nesse contexto, Creus et al., (1998); (2004) observaram que plantas tratadas com bactérias foram beneficiadas no seu crescimento, por apresentarem potencial hídrico mais elevado do que as plantas não inoculadas, quando submetidas a condições de estresse hídrico, indicando melhor regulação do balanço hídrico. Han & Lee, (2005) indicaram o potencial de aplicação dessas bactérias em plantas sob condições de estresse, tendo em vista a ação destas em promover maior tolerância aos efeitos negativos causados pelo estresse, garantindo maior fotossíntese e abertura estomática.

A inoculação de plantas de trigo com *Bacillus thuringiensis* AZP2 e *Paenibacillus polymyxa* B, resultou na sobrevivência dessas plantas em 43% e 23% respectivamente, quando expostas a condições severas de estresse hídrico (TIMMUSK et al. 2014). Adicionalmente, a inoculação com *Bacillus* sp. (estirpes SF3 e SF4) e *Achromobacter* sp. (estirpe SF2) em mudas de girassol, sob condições de estresse, resultou em aumento no crescimento da parte aérea e das raízes (WANG et al. 2012),. De acordo com Jha et al. (2011), as bactérias *Brachybacterium saurashtrense* e *Pseudomonas* sp., isoladas de

Salicornia brachiata, promoveram o crescimento desta cultura em condições de estresse salino. Em plantas de rabanete (*Raphanus sativus*), Yildirim; Turan & Donmez (2005), relataram a tolerância ao estresse salino promovido pelas rizobactérias *Staphylococcus kloosii* e *Kocuria erythromyxa*. Segundo Figueredo et al. (2008) rizobactérias promotoras crescimento de plantas induzem a resistência sistêmica (IST), promovem o crescimento de plantas sob estresses abióticos através da produção de diversos antioxidantes, resultando na degradação de espécies reativas de oxigênio. Santos et al. (2014) constataram o potencial de bactérias diazotróficas associadas ao sisal (*Agave sisalana* Perrine ex engelm) em promover o crescimento de plantas de pepino (*Cucumis sativus*) em condições de casa de vegetação. Estes mesmos autores confirmaram para a maioria destes isolados bacterianos, a produção de AIA, sideróforos, a redução do acetileno, como indicativo do potencial de fixação biológica de nitrogênio, a produção de exopolissacarídeos e da enzima ACC deaminase. Estes estudos ilustram o potencial de BPCP, incluindo as diazotróficas, para a promoção do crescimento e a maior tolerância de plantas a estresses abióticos, abrindo oportunidades para os estudos visando a exploração racional destas para uma agricultura sustentável, incluindo agricultura em situações de estresse salino e hídrico.

REFERÊNCIAS

- ABREU, B.C.E. **Análise fisiológica, bioquímica e proteômica de respostas ao estresse salino em plantas de feijão de corda [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]** 153p. Tese (Doutorado)- Universidade Federal do Ceará. Fortaleza- CE, 2012.
- ABROL, I.P.; YADAV, J.S.P.; MASSOUD, F.I. Salt-affected soils and their management. **Food and Agriculture Organization of the United Nations, Soils Bull.** 39, Rome, Italy, 1988.
- AHMAD, F.; AHMAD, I.; KHAN, M.S. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. **Microbiological Research**, Pavia, v.163, p.173-181, 2008.
- AYERS, R. S.; WESTCOT, D. w. A. qualidade da água na agricultura. **FAO Irrigação e Drenagem**, Revisado. 218p, 1991.
- ARAÚJO, C. A. S.; RUIZ, H. A.; CAMBRAIA, J.; NEVES, J. C. L.; FREIRE, M. B. G. S.; FREIRE, F. J. Seleção varietal de *Phaseolus vulgaris* quanto à tolerância ao estresse salino com base em variáveis de crescimento. **Revista Ceres, Viçosa**, v. 57, n.1, p. 132-139, 2010.
- AYERS, R. S.; WESTCOT, D. W. A qualidade de água na agricultura. 2.ed. Campina Grande: UFPB, 1999. 153p. **Estudos de Irrigação e Drenagem**, 1999.
- BALANDREAU, J. The spermosphere model to select for plant growth promoting rhizobacteria. In: Kennedy IR, Choudhury ATMA, editors. **Biofertilisers in action**. Canberra: Rural Industries Research and Development Corporation; 2002. P. 55-63, 2002.
- BASHAN, Y.; HOLGUIN, G.; DE-BASHAN, L.E. *Azospirillum*-plant relationship: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). **Canadian Journal of Microbiology**. V.50, n.8, p.521-577, 2004.
- BAYUELOS, J.; CRAIG, R.; LYNCH, J. Salinity tolerance of *Phaseolus* species during germination and early seedling growth. **Crop Science**, v.42, p.1584-1594, 2002.
- BAZZICALUPO, M.; OKON, Y. Associative and endophytic symbiosis. In: PEDROSA, F.; HUNGRIA, M.; YATES, M.G.; NEWTON, W.E., eds. **Nitrogen fixation: From molecules to crop productivity**. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, p.409-410, 2000.
- BERNARDO, S. **Manual de irrigação**, 6. 11g .Viçosa: UFV, 596. P 1996.
- BEZERRA, S.J.; WILLADINO, L.; CAMARA, R.T. Crescimento de calos embriogênicos de milho submetidos ao estresse salino. **Scientia Agricola**, v.58, n.2, p.259-263, 2001.

BOHN, H.L.; McNEAL, B.L.; O'CONNOR, G.A. **Soil Chemistry**. New York, John Willey & Sons, 341p, 1985. **Botany**, v.55, n.396, p.307-319, 2004.

BRITO, B.E.M.; FERNANDES, D.P.; GHEYI, R.H.; MELO, S.A.; CARDOSO, F. A.J.; FILHO, S.S.W. Sensibilidade de variedades e híbridos de citrange à salinidade na formação de porta-enxertos. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias** v.3, n.4, p.343-353, 2008.

CENTELLAS, A.Q.; FORTES, G.R.L.; MÜLLER, N.T.G.; ZANOL, G.C.; FLORES, R.; GOTTINARI, R.A. Efeito de auxinas sintéticas no enraizamento *in vitro* da macieira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.2, p.181-186, 1999.

CLEVELAND, C.C., TOWNSEND, A.R., SCHIMEL, D.S., FISHER, H., HOWARTH, R.W., HEDIN, L.O., PERAKIS, S.S., LATTY, E.F., Von Fischer, J.C., Elseroad, A. and Wasson, M.F. **Biogeochemical Cycle**, v.13, p.623–645, 1999.

COELHO, J.B. M.; BARROS, M.F.C.; NETO, E.B.; CORREA, M.M. Comportamento hídrico e crescimento do feijão vigna cultivado em solos salinizados. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.17, n.4, p.379-385, 2013.

COSTA, P.H.; SILVA, J.V.; BEZERRA, M.A.; ENÉAS-FILHO, J.; PRISCO, J.T.; GOMES-FILHO, E. Crescimento e níveis de solutos inorgânicos em cultivares de *Vigna unguiculata* submetidos à salinidade. **Revista Brasileira de Botânica**, v.26, p.289-297, 2003.

CREUS, C.M; SUELDO, R.J.; BARASSI, C.A. Water relations in *Azospirillum* inoculated wheat seedlings under osmotic stress. **Canadian Journal of Botany**, v.76, p.238-244, 1998.

CREUS, C.M; SUELDO, R.J.; BARASSI, C.A. Water relations and yield in *Azospirillum*-inoculated wheat exposed to drought in the field. **Canadian Journal of Botany**, v.82, p.273-281, 2004.

DANTAS, J.P.; MARINHO, F.J.L.; FERREIRA, M.M.M.; NUNES, M. S. A.; QUEIROZ, M. F.; SANTOS, P. T. A. Efeitos do estresse salino sobre a germinação e produção de sementes de caupi. **Agropecuária técnica**, v. 24, n.2, 2003.

DARDANELLI, M.S.; CÓRDOBA, F.J.F.; ESPUNY, M.R.; CARVAJAL, M.A.R.; DIAZ, M.E.S.; SERRANO, A.M.G.; OKON, Y.; MEGIAS, M. Effect of *Azospirillum brasilense* coinoculated with Rhizobium on *Phaseolus vulgaris* flavonoids and Nod factor production under salt stress. **Soil Biology & Biochemistry**, v.40, p.2713-2721, 2008.

DAVISON, J. Plant beneficial bacteria. **Bio/Technology**, v.6, p.282-286, 1988.

DEMIRAL, M.A. Comparative response of two olive (*Olea europaea* L.) cultivars to salinity. Turkish. **Journal of Agriculture and Forestry**, v.29, p.267-274, 2005.

DIAS, N.S. **Manejo da fertirrigação e controle da salinidade em solo cultivado com melão rendilhado sob ambiente protegido**. Piracicaba: ESALQ/USP. 2004. 110p. (Tese de Doutorado).

DOBBELAERE, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. *Crit. Rev. Plant Science*, v.22, p.107-149, 2003.

DUCA, M.; BÂRSAN, A. The modification of protein metabolism of sunflower plants under saline stress. *Romanian Agricultural Research*, v.16, p.5-16, 2001.

EMBRAPA- **Origem e História do feijão**. Disponível em: www.cnpaf.embrap.br/feijão/história.

FERREIRA, M.E.; TEIXEIRA, A.D.; ALFENAS, C.A.; MAFIA, G.R.; SIQUEIRA, S.L.; MAFFIA, A.L.; MOUNTEER, H.A. Rhizobacterial promotion of eucalypt rooting and growth. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.38, p.118-123, 2007.

FIGUEREDO, M.V.B.; BURITY, H.A.; MARTINEZ, C.R.; CHANWAY, C.P. Alleviation of drought stress in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by co-inoculation with *Paenibacillus polymyxa* and *Rhizobium tropici*. *Applied. Soil. Ecology*, v.40, p.182-188, 2008.

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

GERMAN, M.A.; BURDMAN, S.; OKON, Y.; KIGEL, J. Effects of *Azospirillum brasiliense* on root morphology of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under different water regimes. *Biology and Fertility of Soils*, v.32, p.259-264, 2000.

GRATTAN, S.R.; GRIEVE, C.M. Salinity – mineral relations in horticultural crops. *Scientia. Horticulturae*. V.78, p.127-157, 1999.

GRIGORE, M. N.; BOSCAIU, M. VICENTE, O. Assessment of the Relevance of Osmolyte Biosynthesis for Salt Tolerance of Halophytes under Natural Conditions, *The European Journal of Plant Science and Biotechnology*, v.5,n.2, p.12-19, 2011.

HAN, H.S.; LEE, K.D. Plant growth promoting rhizobacteria effect on antioxidant status, photosynthesis mineral uptake and growth of lettuce under soil salinity. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, v.1, p.210-215, 2005.

HARA, F.A.S.; OLIVEIRA, L.A. Características fisiológicas e ecológicas de isolados de rizobios oriundos de solos ácidos e álidos de Presidente Figueredo, Amazonas. *Acta Amazônica*, Manaus, v.34, n.2, p.343-357, 2004.

HASEGAWA, P.M; BRESSAN, R.A; ZHU, J.K. BOHNERT, H.J. Plant cellular and molecular responses to high salinity. Annual Ver Plant Physiology. **Plant Molecular Biology**, v.51, p.463-499, 2000.

HOLANDA, J.S.; AMORIM, J.R.A.; FERREIRA NETO, M.; HOLANDA, A.C. Qualidade da água para irrigação. In: GHEYI, H.R.; DIAS, N.S.; LACERDA, C.F. **Manejo da salinidade na agricultura: Estudos básicos e aplicados**. Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Salinidade. P.43-61. 2010.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. **A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja**: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro. Londrina: Embrapa, 2007.

IBGE. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e estatística, v.25, n.06, p.1-88, 2013.

IZZO, R. NAVARI-IZZO, F.; QUARTACCI, F. Growth and mineral absorption in maize seedlings as affected by increasing NaCl concentrations. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.14, p.687-699, 1991.

JHA, B.; GONTIA, I.; HARTMANN, A. The roots of the halophyte *Salicornia brachiata* are a source of new halotolerant diazotrophic bacteria with plant growth-promoting potential. **Plant Soil**, v.356, p.265-277, 2012.

JUNIOR, J.A.L.; SILVA, AL.P. Estudo do processo de salinização para indicar medidas de prevenção de solos salinos. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer-Goiânia, v.6, n.11; p.2. Universidade Federal Rural da Amazônia-UFRA, 2010.

KENDE, H.; ZEEVAART, J.A.D. The five "classical" plant hormones. **The Plant Cell**, Rockville, v. 9, p. 1197-1210, 1997.

KENNEDY, I. R.; CHOUDHURY, A. T. M. A.; KECSKES, M. L. Free-living bacterial diazotrophs in crop-farming systems: can their potential for plant growth promotion be betterexploited? **Soil Biol Biochemistry**. V.36, p.1229-44, 2004.

KHAN, N.; ANSARI, M. H.; KHAN, R. M. Effect of phytohormones on growth and yield of Indian mustard. Indian J. **Plant Physiology**, v.7, p.75-78, 2002.

KIM, Y.; ARIHARA, J.; NAKAYAMA, T., NAKAYAMA, N.; SHIMADA, S.; USUI, K. Antioxidative responses and their relation to salt tolerance in *Echinochloa oryzicola vasing* and *Steraia viridis* (L.) Beauv. **Plant Growth Regul**, v.44, p.87-92, 2004.

KLOEPPER, J.W.; LIFSHITZ, R.; ZABLOTOWICZ, R.M. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. **Trends in Biotechnology**. V.7, p.39-43, 1989.

KOHLER, J., HERNÁNDEZ, J.A., CARAVACA, F., ROLDÁN, A. Induction of antioxidant enzymes is involved in the greater effectiveness of a PGPR versus AM fungi with respect to increasing the tolerance of lettuce to severe salt stress. **Environmental and Experimental Botany**, v.65, p.245-252, 2009.

LIMA, V.L.A. **Efeitos da qualidade da água de irrigação e da fração de lixiviação sobre a cultura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em condições de lisímetro de drenagem.** 1998. 87 f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1998.

MADKOUR, A.M.; SMITH, L.T.; SMITH, G.M. Preferential Osmolyte Accumulation: a Mechanism of Osmotic Stress Adaptation in Diazotrophic Bacteria Plant Growth. **Applied and Environmental Microbiology**, v.56, n.9, p.2876-288, 1990.

MAHAJAN, S.; TUTEJA, N. Cold, salinity and drought stresses: Na overview. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.444, p.139-158, 2005.

MATTHEW, A.J.; HASEGAWA, P.M. **Plant Abiotic Stress**, Blackwell Publishing, p.38-58, 2005.

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

McNEIL, S.D.; NUCCIO, M.L.; HANSON, A.D. Betaines and related osmoprotectants. Targets for metabolic engineering of stress resistance. **Plant Physiology**, v.120, p.945-949, 1999.

MEDEIROS, F.R.P; DUARTE, N.S.; UYEDA, A.C.; SILVA, F.F.E.; MEDEIROS, F.J. Tolerância da cultura do tomate à salinidade do solo em ambiente protegido. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.16, n.1, p.51–55, 2012.

MEDEIROS, J.F.; DIAS, N.S.; BARROS, A.D. Manejo da irrigação e tolerância do meloeiro a salinidade da água de irrigação. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.3, p.242-247, 2008.

MEDEIROS, J.F.; SILVA, C.C.M.; SARMENTO, H.D.; BARROS, D.A. Crescimento do meloeiro cultivado sob diferentes níveis de salinidade, com e sem cobertura do solo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.11, n.3, p.248-255, 2007.

MELONI, D.A.; OLIVA, M.A.; MARTINEZ, C.A.; CAMBRAIA, J. Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. **Environmental and Experimental Botany**, v.49, n.1, p.69-76, 2003.

MIRZA, M.S.; MEHNAZ, S.; NORMAND, P.; PRIGENT-COMBARET, C.; MOËNNE-LOCCOZ, Y.; BALLY, R. Molecular characterization and PCR detection of a nitrogen-fixing *Pseudomonas* strain promoting rice growth. **Biology and Fertility Soils**, v.43, p.163–170, 2006.

MONTEIRO, C.C. **Análise bioquímica do mutante hormonal de tomateiro *Never ripe (Nr)* submetido aos estresses por cádmio e salinidade.** 120p. Dissertação (Mestrado)–Escola Superior de agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba, SP, 2010.

MOREIRA, F.M.S.; SILVA, K.; NÓBREGA, R.S.A.; CARVALHO, F. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, v.1, n.2, p.74-99, 2010.

MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant, Cell and Environment**, v.25, p.239-250, 2002.

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

NOBRE, G.R.; GHEYI, R.H.; CORREIA, G.K.; SOARES, L.A. F.; ANDRADE, O.L. Crescimento e floração do girassol sob estresse salino e adubação nitrogenada. **Revista Ciência Agrônômica**, v.41, n.3, p.358-365, 2010.

OLIVEIRA, A.B.; ALENCAR, N.L. M.; PRISCO, J.T.; GOMES-FILHO, E. Accumulation of organic and inorganic solutes in NaCl-stressed sorghum seedlings from aged and primed seeds. **Scientia Agricola**, v.68, p.632-637, 2011.

RAVIKUMAR, S. Prospects of marine biofertilizers for saline soil crop cultivation
ENVIS CENTRE Newsletter
2008. <http://www.envismadrasuniv.org/nl200082%20articles%20saline.html>.

RAHMAN, M.S.; MATSUMURO, T.; MIYAKE, H.; TAKEOKA, Y. Salinity-induced ultrastructural alternations in leaf cells of rice (*Oryza sativa* L.). **Plant Production Science** v.3, p.422-429, 2000.

REBOUÇAS, M.A.A.; FAÇANHA, J.G.V.; FERREIRA, L.G.R.; PRISCO, J.T. Crescimento e conteúdos de N, P, K e Na em 3 cultivares de algodão sob condições de estresse salino. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v.1, n.1, p.79-85, 1989.

RHOADES, J.D.; KANDIAH, A.; MASHALI, A.M. **Uso de águas salinas para produção agrícola. Campina Grande: UFPE**, 117p. Estudos FAO Irrigação e Drenagem, 48, 2000.

RIBEIRO, M.R. Manejo da salinidade na agricultura: Estudos básicos e aplicados. ISBN 978-85-7563-489-9, **cap. 2 Origem e classificação dos solos afetados por sais**. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Fortaleza-Ce, 2010.

SABINO, D.C.C. **Interação planta-bactéria diazotrófica na cultura do arroz** (Tese de doutorado). 71p. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica-RJ. 2007.

SANTANA, M.J., CARVALHO, J.A., SILVA, E.L., MIGUEL, D.S. Efeito da irrigação com água salina em um solo cultivado com o feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, v.27, p.443-450, 2003.

SANTOS, A.F.J.; MARTINS, C.Y.S.; SANTOS, P.O.; CORRÊA, E.B.; BARBOSA, H.R.; SANDOVAL, A.P.S.; OLIVEIRA, L.M.; SOUZA, J.T.; SOARES, A.C.F. Diazotrophic bacterial associated with sisal (*Agave*

sisalana Perrine ex Engelm): potential for plant growth promotion. **Plant and Soil**, v.385, n.12, p.37-48, 2014.

Secretaria do Estado da Agricultura e do Abastecimento- SEAB. Departamento de Economia Rural. **Feijão**: análise da conjuntura agropecuária Outubro de 2012. Disponível em: http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/file\deral\Prognostico\feijão_2012_13.pdf.

SANTOS, R.V. **Correção de um solo salino-sódico e absorção de nutrientes pelo feijoeiro *Vigna* (*Vigna unguiculata* L. Walp)**. Piracicaba (Tese de Doutorado) – ESALQ, 1995.

SHANNON, M.C. Adaptation of plants to salinity. **Advances in Agronomy**, San Diego, v.60, p.75-120, 1997.

SHEREEN, A.; ANSARI, R.; NAQVI, S.S.M.; SOOMRO, A.Q. Effect of salinity on *Rhizobium* sp., nodulation and growth of soybean (*Glycine max.* L.). **Pakistan Journal of Botany**, Pakistan, v.30, n.1, p.75- 81, 1998.

SOUZA, M.R. de. **Comportamento do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L. CV Eriparza) submetido a diferentes níveis de salinidade da água de irrigação**. 1995. 94p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SUDHIR, P.; MURTHY, S.D.S. Effects of salt stress on basic processes of photosynthesis. **Photosynthetica**, v.42, p.481-486, 2004.

SZABOLCS, I. Retrospects of soil salinity for the 21st century. In: world congress of soil science, 15. Acapulco. **Proceedings** Acapulco: Mexico University, p.123-141, 1994.

The Food and Agriculture Organization of the United Nations (**FAO**). Extent and Causes of Salt-affected Soils in Participating Countries. FAO-Land and Plant nutrition management service. Disponível em: <http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush/topic2.htm#top>, 2008.

The Food and Agriculture Organization of the United Nations (**FAO**) (2002) Crops and drops: making the best use of water for agriculture. FAO, Rome, Italy, <http://www.fao.org/docrep/w5146e/w5146e0a.htm>.

TIMMUSK, S. ABD EL-DAIM, I. A.; COPOLOVICI, L.; TANILAS, T.; KA'NNASTE, A.; BEHERS, L.; NEVO, E.; SEISENBAEVA, G.; STENSTRO, E.; NIINEMETS, U. Drought-Tolerance of Wheat Improved by Rhizosphere Bacteria from Harsh Environments: Enhanced Biomass Production and Reduced Emissions of Stress Volatiles. **PLoS ONE**, v.9, n.5, p.1-13, 2014.

TOBE, K.; LI, X.; OMASA, K. Seed germination and growth of a halophyte, *Halimolobos capsicum* (Chenopodiaceae). **Annals of Botany**, v.85, p.391-396, 2000.

USDA-ARS. Research databases. Bibliography on salt tolerance. George E. Brown, Jr. Salinity Lab. US Dep. Agric. Res. Serv. Riverside, CA. <http://www.ars.usda.gov/docs.htm docid=8908>, 2008.

VIANA, S.B.A., FERNANDES, P.D., GHEYI, H.R., SOARES, F.A.L., CARNEIRO, P.T. Índices morfológicos e de produção de alface sob estresse salino. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.8, p.23-30, 2004.

VIEIRA, C.; JUNIOR, T.; BORÉM, A. *Feijão*. 2. 18g. Viçosa: UFV, 600p, 2006.

VESSEY, J.K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant and Soil**, v.255, p.571-586, 2003.

WANG, C-J.; YANG, W.; WANG, C.; GU, C.; NIU, D-D.; LIU, H.X.; YUN WANG, Y.; GUO, J.H. Induction of Drought Tolerance in *Cucumber* Plants by a Consortium of Three Plant Growth Promoting Rhizobacterium Strains. **PloS ONE**, v.7, n.12, p. 10, 2012.

WANG, Y.; NIL, N. Changes in chlorophyll, ribulose biphosphate carboxylase-oxygenase, glycine betaine content, photosynthesis and transpiration in *Amaranthus tricolor* leaves during salt stress. **Journal of Horticultural Science Biotechnology**, v.75, p.623-627, 2000.

WHITEMORE, J. **Saline and sodic soils**. Ed. 7 p. Mimeografado. 1975.

YANNI, Y.G.; EL-FATTAH, F.K.A. Towards integrated biofertilization management with free living and associative dinitrogen fixers for enhancing rice performance in the Nile delta. **Symbiosis**, v.27, p.319-331, 1999.

YILDRIM, E.M.; TURAN, M.F. DONMEZ. Mitigation of salt stress in radish (*Raphanus sativus*) by plant growth promoting rhizobacteria. **Romanian Biotechnological Lett**, v.3,p.3933-3943, 2008.

ZHU, J.K. Salt and drought stress signal transduction in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v.53, p.247-273, 2002.

CAPITULO 1

Tolerância à salinidade em *Phaseolus vulgaris* L. inoculado com bactérias promotoras de crescimento oriundas do semiárido da Bahia

**Tolerância à salinidade em *Phaseolus vulgaris* L. inoculado com bactérias
diazotróficas do semiárido da Bahia**

Eliane de Souza Silva, Ana Cristina Fermino Soares, Hans Raj Gheyi, Thiago Alves Santos de Oliveira, Adailson Feitoza de Jesus dos Santos, Elizabeth Amélia Alves Duarte

RESUMO

Avaliamos a tolerância a NaCl em quatro cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) e selecionamos, *in vitro*, a cultivar BRS Ametista (mais sensível) e Estilo (mais tolerante) ao estresse salino para avaliação do efeito de bactérias diazotróficas na tolerância de plantas a salinidade (NaCl). A concentração de 60 mM de NaCl causou estresse salino as plântulas. Em casa de vegetação fez-se um experimento com delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 10 x 2 x 2+ 2, com 10 isolados de bactérias, 2 cultivares de feijão, em solo com e sem 60 mM de NaCl e as testemunhas não inoculadas, e cinco repetições. As plantas foram colhidas aos 45 dias após a germinação e avaliadas quanto ao número de folhas, comprimento das raízes e massa fresca e seca da parte aérea e das raízes. *R. miluonense* (isolados 1 e 2) e *B. megaterium* promoveram o aumento do número de folhas no feijão, em condições de estresse. O comprimento das raízes e a produção de massa fresca da parte aérea da cultivar BRS Estilo foram superiores nas plantas tratadas com *B. licheniformis* (2) e *R. miluonense* (1), nessas condições de estresse. Estas bactérias apresentam o potencial para promoção de crescimento e indução de tolerância das plantas ao estresse salino.

Palavras-chave: estresse salino, leguminosa, promoção de crescimento

**Salinity tolerance in *Phaseolus vulgaris* L. inoculated with diazotrophcs bacteria
from the semiarid of Bahia**

ABSTRACT

The NaCl tolerance in four common bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) and cultivars BRS Ametista (more sensitive) and Estilo (more tolerant) to salt stress were selected *in vitro*, for evaluation of the effect by diazotrophic bacteria on tolerance of bean plants to

salt conditions (NaCl). The concentration of 60 mM NaCl caused salt stress to bean seedlings under *in vitro* conditions. Based on this result, an experiment was conducted under greenhouse conditions, with a completely randomized design in a factorial design of 10 x 2 x 2 + 2 (10 isolates of diazotrophic bacteria, two bean cultivars, absence and presence of NaCl and the controls with and without salt), with five replications. Plants were harvested at forty-five days after germination, and were evaluated for number of leaves, root length and fresh and dry weight of shoots and roots. *R. miluonense* (isolates 1 and 2) and *B. megaterium*, promoted an increase in the number of leaves in bean plants under stress condition. *B. licheniformis* and *R. miluonense* promoted the increase in root length and fresh mass production of the aerial part of bean cultivar BRS Estilo under salt stress conditions. These bacteria have the potential for growth promotion and salinity tolerance in plants.

Keywords: salt stress, legumes, growth promotion

INTRODUÇÃO

A salinidade do solo causa perdas na produção de diversas culturas, devido a alterações na fisiologia da planta, induzidas por esse estresse, levando à redução da absorção de água, nutrientes e do crescimento vegetal (Singh et al., 2011). A recuperação de áreas salinizadas para a produção agrícola com técnicas de manejo sustentável e que sejam eficientes e de baixo custo, ainda é um desafio para a agricultura. Nesse contexto de busca por sistemas produtivos mais sustentáveis, e de produção agrícola em ambientes sob condições de estresse, a exemplo de déficit hídrico e estresse salino, as interações benéficas entre micro-organismos e plantas e o papel destas na tolerância das plantas a condições de estresse têm sido o foco de diversos trabalhos científicos (Rodriguez & Redman, 2008).

A maioria dos trabalhos reporta ao isolamento e identificação de bactérias com potencial de promoção de crescimento e outras características envolvidas na tolerância a fatores abióticos como o estresse salino (Barua et al., 2012; Nabti et al., 2010; Jha et al., 2011; Santos et al., 2012; Upadhyay et al., 2012). Entretanto, o maior desafio ainda é o estudo do efeito destas bactérias, isoladas e em consórcio, no crescimento e tolerância a estresses abióticos em culturas de interesse agrônômico, a exemplo do feijão comum.

No Brasil o feijão comum representa 80% da produção de feijões, com destaque para o grupo comercial carioca (Del Peloso & Melo, 2005). Os esforços dos programas de

melhoramento são direcionados para lançamento de cultivares com caracteres agronômicos (produtividade, precocidade, resistência a doenças e adaptação a colheita mecânica direta) e qualidade comercial como tamanho, forma e cor (Del Peloso et al., 2004; Faria et al., 2008; Melo, 2011; Pereira et al., 2012). Contudo, algumas características importantes desta cultura, a exemplo da produtividade, são afetadas pelo estresse salino, devido ao desequilíbrio nutricional, déficit hídrico e toxidez (Pennings & Callaway, 1992), assim como outros fatores que influenciam no desenvolvimento celular: processo de fotossíntese, síntese de proteínas e metabólitos (Esteves & Suzuki, 2008).

Santos et al., (2014) descreveram bactérias diazotróficas associadas a cultura do sisal na região semiárida da Bahia com tolerância à salinidade, a deficiência hídrica e características fisiológicas associadas à promoção de crescimento de plantas. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a tolerância a salinidade de quatro cultivares de feijão comum, tipo carioca, selecionar duas variedades contrastantes em termos de tolerância a salinidade, e avaliar características relacionadas à promoção do crescimento, sob condições de estresse salino com a inoculação do feijão com bactérias consideradas tolerantes a esse estresse abiótico.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi dividido em dois experimentos, sendo o primeiro realizado em condições *in vitro* com quatro cultivares de feijão ('BRS Ametista', 'BRS Notável', 'BRS Estilo' e 'Pérola'), para a seleção de duas cultivares contrastantes quanto aos parâmetros analisados e a condição de salinidade aplicada. O segundo experimento foi realizado em casa de vegetação para avaliar o efeito de bactérias diazotróficas na promoção de crescimento e/ou tolerância ao estresse salino aplicado a ambas as cultivares de feijão.

Tolerância de feijão a salinidade (*in vitro*)

Sementes das cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) 'BRS Ametista', 'BRS Notável', 'BRS Estilo' e 'Pérola', cedidas pela Embrapa Arroz e Feijão, foram submetidas a testes de germinação sob diferentes concentrações de NaCl (0, 40, 60 80 e 160 mM), com delineamento experimental inteiramente casualizado e arranjo fatorial 4

x 5, com seis repetições. As sementes foram desinfestadas superficialmente transferidas para tubos de ensaio contendo 10 mL do meio ágar-água a 0,6%, contendo NaCl nas concentrações supramencionadas e incubados a temperatura ambiente (28 ± 2 °C), sob luz fluorescente. Este ensaio foi avaliado diariamente quanto à emissão da radícula e germinação, por um período de sete dias. Após este período, as plântulas foram coletadas e avaliadas quanto ao comprimento da radícula, do caule e a massa fresca total. Os dados foram analisados pelo teste de Scott-Knott a 0,05% de probabilidade.

Isolados bacterianos e preparo de inóculo

Foram testados dez isolados bacterianos oriundos da rizosfera e tecidos de plantas de sisal (*Agave sisalana* Perrine ex Engelm) (Tabela 1), da coleção de culturas da UFRB, as quais já tinham sido avaliadas quanto a presença dos genes *nifH*, características associadas à promoção de crescimento vegetal e tolerância a estresses abióticos (Santos et al., 2014).

Tabela 1. Bactérias isoladas de diferentes tecidos vegetais e da rizosfera de plantas de sisal no município de Conceição de Coité, Bahia, Brasil

Bactérias	Nº Acesso (GenBank)	Ambiente de isolamento
<i>Bacillus licheniformis</i> (1)	KR094742	Solo rizosférico
<i>Bacillus licheniformis</i> (2)	KR094339	Folha
<i>Bacillus licheniformis</i> (3)	KR093740	Solo rizosférico
<i>Bacillus megaterium</i>	KR094748	Folha
<i>Bacillus subtilis</i>	KR094743	Folha
<i>Burkholderia cepacia</i>	KR094772	Solo rizosférico
<i>Celullomonas pakistanensis</i>	KR094754	Solo rizosférico
<i>Enterobacter oryzae</i>	KR094761	Caule
<i>Rhizobium miluonense</i> (1)	KR094765	Raiz
<i>Rhizobium miluonense</i> (2)	KR094766	Raiz

Para o preparo do inóculo, as bactérias foram cultivadas em meio caldo nutriente por 48 h, sob agitação de 150 rpm e a temperatura de 28 ± 2 °C. Após este período, as culturas foram centrifugadas por 10 min a 6.000 rpm e ressuspensas em solução salina (0,85% NaCl). Em seguida fez-se a leitura da absorbância dessas suspensões em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 600 nm, e as mesmas foram diluídas com solução salina esterilizada até a obtenção da densidade óptica de 0,5.

Plantio e crescimento de cultivares de feijão inoculadas com bactérias em solo salinizado e não salinizado

Para o estudo do efeito das bactérias no crescimento do feijão comum em solo salino foram definidos em testes preliminares com feijão germinado *in vitro*. A concentração de 60 mM de NaCl correspondente a condutividade elétrica (CE) de 6 dS m⁻¹, a qual causa estresse no feijão, e as cultivares BRS Estilo e BRS Ametista, consideradas contrastantes em termos de tolerância a salinidade. O experimento foi conduzido em casa de vegetação em delineamento experimental inteiramente casualizado e esquema fatorial de 10 x 2 x 2 + 2, (10 isolados bacterianos x 2 cultivares de feijão x presença e ausência de NaCl, com 2 testemunhas, ambas sem bactérias, com e sem sal) e quatro repetições.

O solo foi coletado em área de pastagem na profundidade de 0 a 20 cm, no campus de Cruz das Almas da UFRB e caracterizado quimicamente no Laboratório de Irrigação e Salinidade situado no Departamento de Engenharia Agrícola da Universidade Federal de Campina Grande-PB (Tabela 2).

Tabela 2. Caracterização química do solo coletado em área de pastagem, no campus de Cruz das Almas da UFRB, na profundidade de 0 a 20 cm

pH	Al	H	Ca	Mg	Ca + Mg	K	C	M.O.	N	P*	C.E.sus	C.E. ext	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻	P.S.**
			cmol _c /Kg			%			mg/100		mmhos/cm				
5,12	0,6	1,0	1,9	1,57	3,47	0,1	1,13	1,94	0,11	1,31	0,11	0,54	2,75	0,9	22,66

pH em H₂O: relação 1:2,5; pH em KCl: relação 1:2,5 ; C.E. sus= Condutividade elétrica - mmhos/cm (suspensão solo-água); C.E. ext = Condutividade elétrica - mmhos/cm (extrato de saturação); P* = Fósforo assimilável; **Porcentagem de saturação; Parâmetros de Carbonato(ausente) e de Sulfato (presente).

O solo foi peneirado em peneira de malha 2,5 mm e colocado em vasos plásticos com capacidade para 3 L. Para a saturação do solo nos vasos foi utilizada a metodologia descrita por Richards, (1954), considerando o resultado do extrato de saturação (Tabela 2). Nos vasos dos tratamentos com solo salinizado a solução de NaCl foi adicionada para a obtenção do extrato de saturação no solo igual a 6 dSm⁻¹, equivalente a 60 mM. Após a saturação os vasos foram pesados e esperou-se um período de 5-10 dias até que atingissem a capacidade de campo. Nos vasos dos tratamentos sem estresse salino, foram adicionados 680 mL de água destilada.

As sementes de feijão de ambas as cultivares (BRS Estilo e BRS Ametista) foram desinfestadas superficialmente, inoculadas por imersão na suspensão bacteriana (concentração ajustada para O.D. 600 nm= 0,5) por 30 minutos e semeadas nos vasos

com e sem NaCl. A irrigação foi realizada exclusivamente com água destilada para evitar a alteração da concentração de sal no solo, com turnos de regas para manter a umidade na capacidade de campo.

As plantas foram avaliadas quinzenalmente quanto ao número de folhas, o diâmetro e a altura do caule e foram coletadas aos 45 dias após a semeadura, sendo avaliados o comprimento da raiz, o peso da matéria fresca e seca da raiz e da parte aérea. Para os parâmetros de crescimento do feijão que apresentaram diferença significativa na comparação dos tratamentos com bactéria e os controles, calculou-se o aumento em porcentagem do comprimento da raiz e massa fresca da parte aérea. Os dados foram submetidos à análise de variância (Teste F) e as médias foram agrupadas pelo teste de Scott Knott a 0,05% de probabilidade utilizando o programa Sisvar 5.3 (FERREIRA, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tolerância das cultivares de feijão a condições de salinidade *in vitro*

Nos testes *in vitro* em meio ágar-água com NaCl observou-se que, de modo geral, a cultivar BRS Estilo apresentou melhor comportamento, tanto na condição normal de salinidade quanto nas dosagens de 60 e 80 mM de NaCl. O comprimento da radícula não permitiu diferenciar as cultivares em termos de possível tolerância a salinidade. O comprimento do caulículo e produção de massa fresca permitiram separar as cultivares, a partir das dosagens de NaCl abaixo de 80 mM. Foi selecionada a dosagem de 60 mM de NaCl para os experimentos com as plantas inoculadas com as bactérias diazotróficas por ser considerada uma dosagem que induziu estresse e permitiu visualizar diferenças entre as cultivares BRS Estilo e BRS Ametista. O resumo da análise de variância para as variáveis estudadas encontra-se na tabela 3.

Tabela 3. Resumo da análise de variância, valores de quadrados médios para as variáveis: comprimento de radícula (CR), comprimento do caule (CC) e peso fresco da plântula (PFP)

FV	GL	CR	CC	PFP
-----Valores quadrados médios-----				
Concentração	4	7,86*	55,29**	3,67*
Cultivar	3	188,04**	503,51*	0,11**
Con. x cultivar	12	7,96**	20,63**	0,02**
CV (%)		38,23	40,66	19,09

* e ** significativo a 0,05 e a 0,01% de probabilidade respectivamente pelo Teste Scott Knott

Os dados foram analisados pelo teste de agrupamento de Scott Knott uma vez que as curvas de regressão não se adequaram a nenhum modelo com explicação biológica (Tabela 4).

Tabela 4. Efeito da salinidade no comprimento da radícula, do caulículo e na produção de massa fresca de de plântulas de diferentes cultivares de feijão germinadas *in vitro*, em meio agar-água com NaCl.

Cultivares	Concentração de NaCl (mM)				
	0	40	60	80	160
Comprimento da radícula (cm)					
Ametista	5,10 b	2,85 b	2,15 a	1,50 a	0,43 a
Estilo	8,75 a	3,80 b	2,80 a	2,30 a	0,55 a
Notável	6,15 b	3,05 b	2,90 a	1,90 a	0,46 a
Perola	5,55 b	5,05 a	2,65 a	1,30 a	0,50 a
Comprimento do caulículo (cm)					
Ametista	8,35 c	6,80 c	2,80 c	2,05 b	0,83 a
Estilo	12,55 a	8,15 a	8,10 a	5,35 a	1,05 a
Notável	11,15 b	7,35 b	5,55 b	3,85 a	0,72 a
Perola	8,55 c	9,45 a	3,50 c	2,00 b	0,80 a
Massa fresca total das plântulas (g)					
Ametista	1,31 a	1,08 b	0,73 b	0,65 a	0,60 a
Estilo	1,23 a	1,09 b	1,02 a	0,78 a	0,50 a
Notável	1,26 a	0,97 b	0,74 b	0,69 a	0,45 a
Perola	1,28 a	1,40 a	0,84 b	0,67 a	0,53 a

Para o comprimento do caulículo houve diferença significativa entre as cultivares germinadas em condições de 40, 60 e 80 mM de NaCl (Tabela 4). Com 40 mM de NaCl as cultivares BRS Estilo e Pérola diferiram das demais, apresentando maior comprimento do caulículo. A cultivar BRS Ametista apresentou o menor crescimento, sendo esta considerada a mais sensível a salinidade e a BRS Estilo considerada a mais tolerante. Estas duas cultivares foram selecionadas para os testes em solo salinizado em condições de casa de vegetação.

Avaliação do potencial das bactérias em promover tolerância ao estresse salino em plantas de feijão cultivadas em vaso

Não foram observados resultados significativos para a interação entre bactérias e salinidade, referente à massa fresca e seca das raízes e massa seca da parte aérea do feijoeiro. Entretanto, a inoculação com as bactérias promoveu efeito significativo quanto ao número de folhas nas plantas cultivadas em solo salinizado e não salinizado,

como pode ser observado na interação bactéria, salinidade e dias de crescimento da planta (Tabela 5). No início do crescimento da planta (15 dias), não foram observados efeitos da salinidade e nem da inoculação de bactérias em termos do número de folhas. Com 30 dias de cultivo as plantas tratadas com *Bacillus licheniformis* (isolados 2 e 3), *B. megaterium*, *B. subtilis* e *Rhizobium miluonense* (isolados 1 e 2), em condições de estresse salino apresentaram o número de folhas superior ao controle e, estatisticamente igual ao número de folhas das plantas cultivadas em solo sem salinidade (Tabela 5).

Tabela 5. Número de folhas em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), cultivado em solo salino e não salino e inoculadas com bactérias diazotróficas, aos 15, 30 e 45 dias após a germinação

Dias	15		30		45	
Bactérias	Condutividade Elétrica (dS m ⁻¹)*do Solo					
	0	6	0	6	0	6
	-----N° de Folhas-----					
Controle	4,88 aA	4,34 aA	8,88 aA	4,75 bB	14,00 aA	3,00 cB
<i>Bacillus licheniformis</i> (1)	5,00 aA	5,00 aA	9,00 aA	6,14 bB	15,57 aA	10,00 aB
<i>B. licheniformis</i> (2)	4,75 aA	5,00 aA	7,50 aA	8,00 aA	12,00 bA	7,50 bB
<i>B. licheniformis</i> (3)	5,00 aA	4,63 aA	8,29 aA	7,75 aA	13,57 aA	8,00 bB
<i>B. megaterium</i>	5,00 aA	4,50 aA	9,38 aA	8,13 aA	13,25 aA	10,88 aB
<i>B. subtilis</i>	5,00 aA	4,88 aA	7,86 aA	7,25 aA	12,14 bA	9,88 aB
<i>Burkholderia cepacia</i>	5,00 aA	3,63 aA	7,13 aA	6,13 bA	12,43 bA	7,67 bB
<i>Cellulomonas pakistanensis</i>	5,00 aA	4,33 aA	9,13 aA	6,00 bB	12,43 bA	8,67 bB
<i>Enterobacter oryzae</i>	4,86 aA	4,86 aA	9,14 aA	6,14 bB	13,29 aA	10,29 aB
<i>Rhizobium miluonense</i> (1)	5,00 aA	5,00 aA	8,25 aA	8,00 aA	13,29 aA	10,40 aB
<i>R. miluonense</i> (2)	5,00 aA	4,50 aA	8,63 aA	7,17 aA	13,88 aA	9,40 aB

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas, para o mesmo período de crescimento, não diferem entre si pelo teste F e seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 0,01% de significância.

* 6 dS m⁻¹ = 60 mM de NaCl

Aos 45 dias de avaliação verificou-se que todos os isolados bacterianos promoveram aumento do número de folhas nas plantas de feijão, com destaque para as bactérias *Bacillus licheniformis* (isolado 3), *B. subtilis*, *Enterobacter oryzae*, e *R. miluonense* (isolados 1 e 2), na presença do estresse salino. Ressalta-se ainda que as plantas tratadas com as bactérias para todos os isolados bacterianos apresentaram maior número de folhas, quando comparadas ao controle sem bactéria (Tabela 5). Na ausência do estresse os isolados *Bacillus licheniformis* (2), *B. subtilis*, *Burkholderia cepacia* e *Cellulomonas pakistanensis* causaram a redução no número de folhas, quando comparados ao tratamento sem bactéria (controle) e aos tratamentos com os demais isolados bacterianos. Porém, tal redução no número de folhas influenciado por estas bactérias

não foi observado nas plantas cultivadas em solo salinizado. Este feito causado pela *Burkholderia* foi observado em um estudo com feijão (*Phaseolus vulgaris*) com *B. phymatum* GR01N cuja ação simbiótica promoveu o aumento da tolerância ao sal, além de atuar na fixação biológica de nitrogênio (Talbi et al. 2013). Sob condições de estresse hídrico e salino é comum ocorrerem adaptações morfológicas das plantas, caracterizando uma forma de minimizar as perdas de água por transpiração; dentre essas adaptações se destacam reduções no tamanho e no número de folhas (Fageria, 1989).

Updhyay et al. (2011) relataram maior produção da parte aérea e massa seca de plantas também após 45 dias de co-inoculação com *Bacillus pumilus* e *B. coagulans* e *B. pumilus*, *Enterobacter* Sp. e *Bacillus coagulans*. Estes autores só observaram efeito de tolerância à salinidade com a co-inoculação de um consórcio de bactérias e atribuíram esse efeito da redução na absorção de Na⁺ pela planta à produção de exopolissacarídeos (EPS) pelas bactérias e o aumento na população destas na rizosfera. Os EPS formam ligações com o Na⁺ impedem a sua absorção pelas plantas e também favorecem o aumento da população de bactérias na rizosfera (Updhyay et al., 2011). Os dez isolados bacterianos avaliados no presente trabalho são produtores de EPS (Santos et al., 2014).

Para o comprimento das raízes houve efeito significativo apenas para a interação cultivar e bactéria. Conforme observado no estudo *in vitro* das quatro cultivares (Tabela 4), o comprimento da raiz não permitiu diferenciar o efeito do estresse salino. Essa observação se confirmou neste estudo com o crescimento das plantas de feijão em solo salinizado e não salinizado. Entretanto, observou-se um efeito benéfico das bactérias no comprimento de raízes para a cultivar BRS Estilo (Tabela 6).

Na cultivar BRS Estilo a inoculação com *Bacillus licheniformis* (isolados 1 e 2), *Bacillus subtilis*, *Enterobacter oryzae*, *Rhizobium miluonense* (1 e 2) promoveu o maior comprimento da raiz, quando comparado ao controle, com incrementos variando de 38,3% a 65%. A cultivar Ametista não respondeu de forma significativa à inoculação com as bactérias. Estes isolados bacterianos são produtores de ácido indoleacético (Santos et al., 2014), um regulador de crescimento de plantas que estimula o alongamento celular.

Estes isolados bacterianos são produtores de ácido indoleacético (Santos et al., 2014), um regulador de crescimento de plantas que estimula o alongamento celular.

Tabela 6. Comprimento da raiz em (cm) de plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), cultivadas em solo salino e não salino e inoculado com bactérias diazotróficas

Bactérias	Ametista	Incremento (%)	Estilo	Incremento (%)
Controle	29,93aB	-*	39,18bA	-*
<i>Bacillus licheniformis</i> (1)	37,00 aB	-	54,18 aA	38,28
<i>B. licheniformis</i> (2)	32,12 aB	-	64,66 aA	65,03
<i>B. licheniformis</i> (3)	23,78 aB	-	42,02 bA	-
<i>B. megaterium</i>	25,31 aB	-	48,06 bA	-
<i>B. subtilis</i>	25,93 aB	-	55,87 aA	42,59
<i>Burkholderia Cepacia</i>	33,50 aB	-	52,16 bA	-
<i>Cellulomonas pakistanensis</i>	35,64 aB	-	46,28 bA	-
<i>Enterobacter oryzae</i>	24,92 aB	-	63,75 aA	62,71
<i>Rhizobium miluonense</i> (1)	26,33 aB	-	64,50 aA	64,62
<i>R. miluonense</i> (2)	31,70 aB	-	55,50 aA	41,65

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas não diferem entre si pelo teste F (comparação entre as cultivares) e seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott Knott, ambos a 5% de significância. *O aumento em porcentagem foi calculado apenas quando houve diferença significativa na comparação entre as plantas tratadas com as bactérias e o controle.

Não foi quantificada a população bacteriana na rizosfera das plantas. Entretanto, a inoculação da cultivar BRS Estilo apresentou respostas significativas para o crescimento da planta, demonstrando que houve efeito destas no crescimento das plantas e tolerância destas a salinidade. Tem sido relatado o acúmulo de íons inorgânicos em concentrações elevadas nas células bacterianas, mantendo dessa forma a integridade celular, possibilitando a sobrevivência destes em solos salinos e sódicos (Stamford et al., 2005).

Os isolados bacterianos não promoveram efeito significativo na produção de massa fresca da parte aérea das plantas de feijão cultivadas em solo não salinizado (Tabela 7).

Este efeito benéfico fez com que a produção de massa fresca da parte aérea das plantas não diferisse no cultivo em solo salino em comparação ao cultivo em solo não salinizado. Não houve efeito positivo das bactérias no crescimento do feijão, quando cultivado em solo não salinizado e nem efeito deletério destas. Pode-se sugerir um efeito de aumento da tolerância ao estresse salino promovido por estes isolados bacterianos.

O aumento na produção de biomassa pode ocorrer pela melhoria na nutrição da planta ou por alterações fisiológicas, enzimáticas e bioquímicas induzidas pelas bactérias promotoras de crescimento (Han & Leu, 2005; Updhyay et al., 2011).

Tabela 7. Efeito da inoculação de bactérias diazotróficas, no rendimento em porcentagem na massa fresca da parte aérea em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), cultivares BRS Ametista e BRS Estilo

Bactérias	0 CE*	Incremento (%)	6 CE	Incremento (%)
Controle	10,34 aA	-**	3,35 cB	-**
<i>Bacillus licheniformis</i> (1)	9,72 aA	-	8,34 bA	148,95
<i>B. licheniformis</i> (2)	10,06 aA	-	13,34 aA	298,21
<i>B. licheniformis</i> (3)	10,77 aA	-	4,70 cB	40,20
<i>B. megaterium</i>	8,66 aA	-	7,05 cA	110,45
<i>B. subtilis</i>	12,68 aA	-	5,24 cB	56,42
<i>Burkholderia Cepacia</i>	10,83 aA	-	6,31 cB	88,35
<i>Cellulomonas pakistanensis</i>	10,76 aA	-	8,03 bA	139,70
<i>Enterobacter oryzae</i>	10,65 aA	-	4,47 cB	33,43
<i>Rhizobium miluonense</i> (1)	12,98 aA	-	5,77 cB	72,24
<i>R. miluonense</i> (2)	11,63 aA	-	9,80 bA	192,54

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott e seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste F a 0,01% de significância. * CE = Condutividade Elétrica (dS m⁻¹)*do Solo; **O aumento em porcentagem para aumento da massa fresca da parte aérea foi calculado apenas quando houve diferença significativa entre as bactérias e a testemunha.

Bactérias diazotróficas podem produzir osmólitos como a prolina, glutamato e trialose, com os exudatos radiculares que promovem o crescimento dessas bactérias e, dessa forma apresentar mecanismos de osmoregulação que promovem a melhoria da produção agrícola nas regiões semiáridas e áridas (Madkour et al., 1990). Bactérias produtoras de EPS, quando inoculadas em plântulas de trigo causaram a redução na absorção de Na⁺ minimizando o estresse salino e ainda promovendo o crescimento da planta (Ashraf et al., 2004).

No presente trabalho, constatou-se um efeito benéfico de bactérias diazotróficas na tolerância de plantas de feijão a salinidade, mas sem efeito significativo na produção de massa seca da planta de feijão.

CONCLUSÃO

- 1- *R. miluonense* (isolados 1 e 2), *B. megaterium* e *B. licheniformis* (isolado 2) apresentam potencial como bactérias promotoras de crescimento e indutoras de tolerância ao estresse salino em feijão comum.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES pela concessão da bolsa de estudos da primeira autora, ao CNPq e FAPESB pelo apoio financeiro e, a EMBRAPA arroz e feijão que cedeu às sementes das cultivares utilizadas neste trabalho.

LITERATURA CITADA

- Ashraf, M.; Hasnain, S.; Berge, O.; Mahmood, T. Inoculating wheat seedlings with exopolysaccharide-producing bacteria restricts sodium uptake and stimulates plant growth under salt stress. *Biology and Fertility of Soils*, v.40, p.157-162, 2004.
- Barua, S., Tripathia, S., Chakrabortyb, A., Ghoshc, S., Chakrabartia, K. Characterization and crop production efficiency of diazotrophic bacterial isolates from coastal saline soils. *Microbiological Research*, v.167, p.95-102, 2012.
- Del Peloso & Melo. Potencial de rendimento da cultura do feijoeiro comum. Embrapa. Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, 131p. 2005.
- Del Peloso, M. J.; Melo, L. C.; Faria, L. C.; Costa, J. G. C.; Rava, C. A.; Carneiro, G. E. S.; Soares, D. M.; Diaz, J. L. C.; Abreu, A. F. B.; Faria, J. C.; Sartorato, A.; Silva, H. T.; Bassinelo, P. Z.; Zimmermann, F. J. P. BRS Pontal: new common bean cultivar with Carioca grain type. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v.4 p.369-371, 2004.
- Esteves, B. S.; Suzuki, M. S. Efeito da salinidade sobre as plantas. *Oecologia Brasiliensis*, v.12, p.662-679, 2008.
- Ferreira, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia (UFLA)*, v.35, p.1039-1042, 2011.
- Fageria, N. K. Solos tropicais e aspectos fisiológicos das culturas. Brasília: Embrapa DPU. 1989, Documento, 18, p.425.
- Faria, L. C.; Del Peloso, M. J.; Melo, L. C.; Costa, J. G. C.; Rava, C. A.; Carneiro, G. E. S.; Díaz, J. L. C.; Faria, J. C.; Silva, H. T.; Sartorato A, Silva HT, Bassinelo PZ; Trovo, J. B. F. BRS Cometa: a carioca common bean cultivar with erect growth habit. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v.8, p.167-169, 2008.

- Han, H. S.; Lee, K. D. Plant growth promoting rhizobacteria effect on antioxidant status, photosynthesis mineral uptake and growth of lettuce under soil salinity. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, v.1, p.210-215, 2005.
- Jha, B.; Gontia, I.; Hartmann, A. The roots of the halophyte *Salicornia brachiata* are a source of new halotolerant diazotrophic bacteria with plant growth-promoting potential. *Plant Soil*, v.356, p.265-277, 2011.
- Madkour, A. M.; Smith, L.T.; Smith, G. M. Preferential osmolyte accumulation: a mechanism of osmotic stress adaptation in diazotrophic bacteria. *Plant Growth. Applied and Environmental Microbiology*, v.56, p.2876-288, 1990.
- Melo, L. C.; Del Peloso, M. J.; Pereira, H. S.; Faria, L. C.; Costa, J. G. C.; Díaz, J. L. C.; Rava, C. A.; Wendland, A.; Abreu, A. F. B. Common bean cultivar with Carioca grain, upright growth and high yield potencial. *Crop Breeding and Applied Biotchnology*, v.10, p.377-379, 2011.
- Nabti, E.; Sahnoune, M.; Ghoul, M.; Fischer, D.; Hofmann, A.; Rothballer, M.; Schmid, M.; Hartmann, A. Restoration of growth of durum wheat (*Triticum durum* var. waha) under saline conditions due to inoculation with the rhizosphere bacterium *Azospirillum brasilense* NH and extracts of the marine alga *Ulva lactuca*. *Journal of Plant Growth Regulation*, v.29, p.6-22, 2010.
- PenningS, S. C.; Callaway, R. M. Salt Marsh plant zonation: the relative importance of competition and physical factors. *Ecology*, v.73, p.681-690, 1992.
- Pereira, H. S.; Wendland, A.; Melo, L. C.; Del Peloso, M. J.; Faria, L. C.; Costa, J. G. C.; Nascente, A. S.; Díaz, J. L. C.; Carvalho, H. W. L.; Almeida, W. M.; Melo, C. L. P.; Costa, A. F.; Posse, S. C. P.; Souza, J. F. Abreu, A. F. B.; Magaldi, M. C. S.; Guimarães, C. M.; Oliveira, J. P. BRS Notável: a médium- early-maturing, disease-resistant Carioca common bean cultivar with high yield potential. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v.12, p.220-223, 2012.
- Richards, L. A. *Diagnosis and improvement of saline and alkali soils*. Washington: US Department of Agriculture, 1954.160p. *Agriculture Handbook*.

- Rodriguez, R.; Redman, R. More than 400 million years of evolution and some plants still can't make it on their own: plant stress tolerance via fungal symbiosis. *Journal Experimental Botany*, v.59, p.1109-14, 2008.
- Santos, A. F. J.; Martins, C. Y. S.; Santos, P. O.; Corrêa, E. B.; Barbosa, H. R.; Sandoval, A. P. S. Oliveira, L. M.; Souza, J. T.; Soares, A. C. F. Diazotrophic bacterial associated with sisal (*Agave sisalana* Perrine ex Engelm): potential for plant growth promotion. *Plant and Soil*, v.385, p.37-48, 2014.
- Santos, I. B.; Lima, D. R. M.; Barbosa, J. G.; Oliveira, J. T. C.; Freire, F. J.; Kuklinsky-Sobral, J. Bactérias diazotróficas associadas a raízes de cana-de-açúcar: solubilização de fosfato inorgânico e tolerância à salinidade. *Bioscience Journal*, v.28, p.142-149, 2012.
- Singh J.S., Pandey V.C., Singh D.P. Efficient soil microorganisms: a new dimension for sustainable agriculture and environmental development. *Agriculture, Ecosystem and Environment*, v.140, p.339-353, 2011.
- Stamford, N.P.; Stamford, T.L.M.; Andrade, D.E.G.T.; Michereff, S.J. Microbiota dos Solos Tropicais. In: Michereff, S. J.; Andrade, D.E.G.T. Menezes, M. (eds). *Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais*. Recife, PE. p.61-92, 2005.
- Talbi, C.; Argandoña, M.; Salvador, M.; Alché, J. D.; Vargas, C.; Eulogio J. Bedmar, E. J.; Delgado, M. J. *Burkholderia phymatum* improves salt tolerance of symbiotic nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris*. *Plant Soil*, v.367, p.673-685, 2013.
- Upadhyay, S. K.; Singh, J. S.; Saxena, A. K.; Singh, D. P. Impact of PGPR inoculation on growth and antioxidant status of wheat under saline conditions. *Plant Biology*, v.14, p.605-11, 2012.
- Upadhyay, S. K.; Singh, J. S.; Singh, D. P. Exopolysaccharide-producing plant growth-promoting rhizobacteria under salinity condition. *Pedosphere*, v.21, p.14-22, 2011.

CAPITULO 2

Bactérias diazotróficas isoladas e em consórcio na tolerância de plantas de feijão *Phaseolus vulgaris* L. a salinidade

Bactérias diazotróficas isoladas e em consórcio na tolerância de feijão *Phaseolus vulgaris* L. a salinidade

Eliane de Souza Silva, Ana Cristina Fermina Soares, Hans Raj Gheyi, Antonia Edina de Souza Silva, Elizabeth Amélia Alves Duarte, Adailson Feitoza de Jesus dos Santos

Resumo

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) constitui o alimento básico para a maioria da população brasileira. Contudo, a salinidade dos solos afeta a produtividade desta cultura. Neste trabalho, avaliou-se o efeito isolado e em consórcio de bactérias diazotróficas sobre a cultivar de feijão BRS Estilo, em solo salino. As bactérias *Bacillus licheniformis* (isolado 2), *B. subtilis*, e *Rhizobium miluonense* (isolados 1 e 2) foram inoculadas isoladamente e em consórcio, no feijão, em condições de casa de vegetação, em solo salinizado e não salinizado. Houve efeito significativo entre as bactérias e a salinidade. O consórcio entre *Rhizobium miluonense* (2) e *B. licheniformis* (2), promoveu aumento de 25% no comprimento da raiz em solo salino, seguidos dos consórcios *R. miluonense* (1) e o isolado (2) de *B. licheniformis* e *R. miluonense* (1) com o *B. subtilis*, promovendo aumentos de 7%, 54% e 6,90% respectivamente. Para massa seca da raiz, na ausência do estresse, os melhores tratamentos foram com *B. licheniformis* (isolado 2) e o consórcio entre *R. miluonense* (isolado 1) e *B. subtilis*, promovendo aumentos de 19,44% e 18,75% respectivamente. As bactérias mostraram-se mais eficientes quando inoculadas em consórcio, promovendo tolerância ao estresse e promoção de crescimento.

Palavras-chave: estresse, microorganismos, leguminosa, promoção de crescimento

Diazotrophic bacteria isolated and in consortium for salinity tolerance of beans

Phaseolus vulgaris L.

Abstract

The common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is the staple food for most of the population. However, the salinity of the soil affects the productivity of the crop. In this work, was evaluated the isolated effect and consortium diazotrophs on the bean cultivar BRS Estilo, grown in saline and non-saline soil. The bacteria *Bacillus licheniformis* (isolated 2), *B. subtilis*, and *Rhizobium miluonense* (isolates 1 and 2) were inoculated alone and in consortium, in beans, home conditions of vegetation in salinated soil and not salinated. Significant differences were observed between bacteria and salinity. The consortium between *Rhizobium miluonense* (isolate 2) and *B. licheniformis* (isolate 2), promoted an increase of 25% in root length, under salt stress conditions, followed by the consortia of *R. miluonense* (isolate 1) with *B. licheniformis* (isolate 2), and of *R. miluonense* (isolate 1) with *B. subtilis*, promoting increases of 7%, 54% and 6.90% respectively. For root dry mass in the absence of stress, the best treatments were with *B. licheniformis* (isolate 2) the consortium of *R. miluonense* (isolate 1) and *B. subtilis*, promoting increases of 19.44% and 18.75 % respectively. The bacteria were more efficient when inoculated in a consortium, promoting tolerance to stress and growth promotion of bean plants.

Key words: stress, microorganisms, legumes, growth

INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor e consumidor mundial de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.), com uma produção anual superior a três milhões de toneladas, que corresponde a praticamente 20% da produção mundial, sendo colhida em cerca de quatro milhões de hectares (Conab, 2013). Assim como o feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp), guandu (*Cajanus cajan* (L.) Mills.), o feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) são constituintes importantes da dieta brasileira, devido ao nível de proteínas, alto teor de carboidratos e importante fonte de ferro (Borém & Carneiro, 1999). No entanto, assim como outras culturas, a produtividade do feijão vem sendo prejudicada em decorrência da salinidade dos solos.

A salinidade do solo é caracterizada por dois aspectos: baixos potenciais osmóticos e altas concentrações de Na^+ e outros íons específicos (Cl^- , SO_4^{-2} , HCO_3^- , etc.), que podem ser tóxicos às plantas (Toppa & Brambilla, 2011). Com relação a solos salino, Freire; Freire (2007) os caracteriza pelo acúmulo de sais em horizontes ou camadas próximas à superfície. Segundo os autores, estes solos possuem em alguma de suas camadas, condutividade elétrica do extrato de pasta saturada superior a 4 dS m^{-1} . Sendo considerado um dos principais fatores limitantes da produtividade em leguminosas em regiões áridas e semiáridas, o estresse salino acarreta efeitos nocivos diretos em numerosas espécies de plantas (Lluch et al., 2007). Nesse contexto, Singleton & Bohlol (1984) relatam a redução na produtividade das culturas, a influencia na nodulação e no teor de nitrogênio total em plantas leguminosas.

Segundo Mayak et al. (2004), as principais estratégias para melhorar o cultivo em solos salinos, resumem-se ao uso de melhoramento tradicional, utilização da engenharia genética para produção de plantas transgênicas halotolerantes e aplicação de rizobactérias halotolerantes e promotoras do crescimento de plantas (PGPR).

A informação sobre PGPR halotolerantes ainda é limitada. Alguns exemplos de PGPR reportadas por melhorarem a tolerância das plantas a salinidade, incluem *Azospirillum halopraeferens* (Reinhold et al., 1987), *Salitolerans swaminathania* (Loganathan & Nair, 2004), *Azospirillum brasilense* estirpe NH (Nabti et al., 2007), *Burkholderia phymatum* estirpe GR01 (Talbi et al., 2012), *Rhizobium* (Zahran, 1999), *Pseudomonas putida* e *Enterobacter cloacae* (Nadeem et al., 2013) e *Bacillus subtilis* (Zhang et al., 2008).

A co-inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Rhizobium tropici* em plantas de feijão sob estresse salino em cultivo hidropônico promoveu o melhor desenvolvimento radicular, fixação de nitrogênio, produção de flavonóides e alívio dos efeitos negativos causados pelo NaCl (Dardanelli et al., 2008). Segundo Mayak et al. (2004) o tratamento com a bactéria *Achromobacter piechaudii*, aumentou significativamente o peso da matéria seca de mudas de tomateiro cultivados em 172 mM de NaCl. De acordo com estes autores, a bactéria causou uma redução nos níveis de etileno, mas não reduziu o conteúdo de sódio e promoveu aumentos no conteúdo de potássio e fósforo, que devem ter contribuído para o alívio do estresse.

A co-inoculação de bactérias diazotróficas em plantas cultivadas sob estresse salino, pode auxiliar as mesmas na tolerância ao estresse, e promover incrementos na produtividade das culturas. O presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito isolado e consorciado de bactérias diazotróficas na tolerância a salinidade em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.).

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa de vegetação do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, campus de Cruz das Almas, BA. Para este estudo utilizou-se a cultivar de feijão BRS Estilo e quatro bactérias diazotróficas identificadas a nível de espécie como: *Rhizobium miluonense* (isolado 1 e 2), ambos obtidos de tecidos internos de raiz de sisal, *Bacillus licheniformis* (isolado 2) e *Bacillus subtilis*, ambos obtidos de tecidos internos de folhas de sisal (Santos et al., 2014). Todas as bactérias foram inoculadas isoladamente e cada um dos isolados de *Rhizobium* foi consorciado com *Bacillus licheniformis* (isolado 2) e *Bacillus subtilis*. O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições, oito tratamentos e os controles sem inoculações das bactérias.

Preparo do inoculo

As bactérias foram cultivadas em meio caldo nutriente durante 48 h, sob temperatura de 28 ± 2 °C e agitação orbital de 150 rpm. Para o preparo do inoculo, as culturas foram centrifugadas por 10 min a 6.000 rpm e ressuspensas em solução salina (0,85%). Em

seguida, fez-se a leitura da absorvância das suspensões bacterianas em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 600 nm, e as suspensões foram diluídas em solução salina até a obtenção da densidade óptica de 0,5 (O.D.600nm= 0,5).

Desinfestação das sementes

As sementes de feijão cultivar BRS Estilo foram desinfestadas superficialmente, por imersão em álcool 70% (1 min), hipoclorito de sódio (2 min) e três lavagens seguidas com água destilada esterilizada. Em seguida, as sementes foram imersas na suspensão bacteriana (O.D.600nm= 0,5) por 30 minutos. As sementes inoculadas foram semeadas nos vasos contendo o solo salinizado e não salinizado.

Indução da salinidade do solo

O solo foi coletado em área de pastagem, no campus de Cruz das Almas da UFRB na profundidade de 0 a 20 cm e caracterizado quimicamente no Laboratório de Irrigação e Salinidade situado no Departamento de Engenharia Agrícola da Universidade Federal de Campina Grande-PB. Para indução da salinidade, determinou-se a saturação e as características químicas do solo (Tabela 1).

Tabela 1. Caracterização química do solo coletado em área de pastagem, no campus de Cruz das Almas da UFRB na profundidade de 0 a 20 cm

pH	Al	H	Ca	Mg	Ca + Mg	K	C	M.O.	N	P*	C.E.sus	C.E. ext	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻	P.S.**
			cmol _c /Kg			%			mg/100	mmhos/cm					
5,12	0,6	1,0	1,9	1,57	3,47	0,1	1,13	1,94	0,11	1,31	0,11	0,54	2,75	0,9	22,66

pH em H₂O: relação 1:2,5; pH em KCl: relação 1:2,5 ; C.E. sus= Condutividade elétrica - mmhos/cm (suspensão solo-água); C.E. ext = Condutividade elétrica - mmhos/cm (extrato de saturação); P* = Fósforo assimilável; **Porcentagem de saturação; Parâmetros de Carbonato(ausente) e de Sulfato (presente).

Foram adicionados 4 kg de solo em vasos de plástico, e foi preparada a solução de NaCl para garantir que o extrato de saturação no solo fosse igual a 6 dSm⁻¹, equivalente a 60 mM. Os vasos para os tratamentos com solo salinizado foram saturados com a referida solução e para os tratamentos com solo não salino, os vasos foram saturados com água destilada. Após a saturação, os vasos foram pesados e esperou-se um período de 5 a 10 dias até que atingissem a capacidade de campo, para implantação do

experimento (Richards, 1954). A irrigação foi realizada apenas com água destilada, para evitar a alteração da concentração de sal pré-estabelecida.

As plantas foram cultivadas em solo salinizado e não salinizado, por um período de 50 dias. Após esse período as plantas foram coletadas, sendo avaliados os seguintes parâmetros: comprimento da raiz, massa fresca e seca de raiz e parte aérea e a área foliar, utilizando o aparelho Win Dias. Para os parâmetros de crescimento do feijão que apresentaram diferença significativa, quando comparados os tratamentos com bactéria em relação aos controles, calculou-se o aumento em porcentagem para o comprimento e massa seca da raiz. As plantas também foram avaliadas quinzenalmente para as principais características morfológicas de crescimento: número de folhas, diâmetro e altura do caule. Os dados foram analisados no programa Sisvar (Ferreira, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para número de folhas, diâmetro e altura do caule, houve efeito significativo apenas para a interação sal x dias (Tabela 2).

Tabela 2. Efeito da salinidade no número de folhas, diâmetro e altura das plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar BRS Estilo, cultivada em solo salino e não salino. Avaliação aos 15 e 30 dias

Dias	0 CE *	6 CE*
Número de folhas		
15	9,24 bA	5,77 bB
30	27,02 aA	14,42 aB
Diâmetro do caule		
15	0,36 bA	0,30 bB
30	0,52 aA	0,41 aB
Altura da planta (cm)		
15	11,84 bA	8,18 bB
30	25,79 aA	12,48 aB

Médias seguidas pelas mesmas minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste F a 0,01% de probabilidade. * CE = Condutividade Elétrica (dS m⁻¹)*do Solo

Em ambas as avaliações (15 e 30 dias), os valores referentes ao número de folhas, diâmetro e altura da planta foram superiores nas plantas sem estresse salino. Provavelmente, isto se deve aos efeitos diretos do estresse salino sobre os processos de divisão e expansão celular (Munns, 2008). Quando submetidas ao estresse salino, diversas culturas apresentam alterações morfológicas e anatômicas e reduzem a

transpiração como alternativa para manter a absorção de água, sendo uma dessas alterações, a redução do número de folhas (Silva et al., 2008). Além da redução no número de folhas, a redução no diâmetro do caule também vem sendo observada por diversos autores, em outras culturas (Beckmann-Cavalcante et al., 2008). Como observado por Andrade et al. (2013) feijão-caupi, cultivar ‘Quarentinha’, aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) (Silva et al. 2000) e milho (*Zea mays* L.) (Oliveira et al., 2009).

O contato de raízes com o ambiente salino contribui com a absorção do sal, interferindo no crescimento do diâmetro do caule. Como consequência, ocorre o comprometimento do desenvolvimento e rendimento de fitomassa das plantas.

Para o comprimento e a massa seca da raiz houve efeito da interação bactéria x sal (Tabelas 3 e 4).

Tabela 3. Efeito da interação bactéria x sal, no comprimento da raiz em (cm) de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar BRS Estilo, cultivado em solo salino e não salino e inoculado com bactérias diazotróficas

Bactérias	0 CE	Aumento (%)	6 CE	Aumento (%)
Controle	41,00 bA	-*	37,60 cA	-*
<i>Bacillus licheniformis</i> (2)	44,40 bA	-	36,00 cB	-
<i>Bacillus subtilis</i>	44,00 bA	-	33,00 cB	-
<i>R. miluonense</i> (1) + <i>B. licheniformis</i>	52,20 aA	27,41%	40,40 bB	7,54%
<i>R. miluonense</i> (1) + <i>B. subtilis</i>	48,40 aA	18,14%	40,20 bB	6,90%
<i>R. miluonense</i> (2)	44,00 bA	-	35,60 cB	-
<i>R. miluonense</i> (2) + <i>B. licheniformis</i>	44,20 bA	-	47,00 aA	25%
<i>R. miluonense</i> (2) + <i>B. subtilis</i>	48,00 aA	17,07%	34,80 cB	-
<i>Rhizobium miluonense</i> (1)	47,60 aA	16,19%	33,00 cB	-

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott e seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste F a 0,05% de probabilidade. *O aumento em porcentagem no comprimento das raízes foi calculado apenas quando houve diferença significativa entre as bactérias e a testemunha. * CE = Condutividade Elétrica (dS m⁻¹)*do Solo.

Na presença do estresse salino, apenas o consórcio *R. miluonense* (2) + *B. licheniformis* (2) diferiu dos demais tratamentos, com 25% de aumento no comprimento da raiz. *R. miluonense* (1) + *B. licheniformis*(2), e *R. miluonense* (1) + *B. subtilis* também foram benéficos ao crescimento da raiz, com aumento de 7,54% e 6,90% respectivamente, comparados ao controle. Na ausência do estresse salino, *Rhizobium miluonense* (1) proporcionou aumento em até 16,19% e os consórcios *Rizobium miluonense* (2) + *B. subtilis*, *R. miluonense* (1) + *B. Licheniformis* (2), e *R. miluonense*

(1) + *B. subtilis*, proporcionaram um aumento do comprimento das raízes em 17,07; 27,41; e 18,14% respectivamente.

O desdobramento da interação sal x bactérias indica que na maioria dos tratamentos houve diferença significativa entre a ausência e presença do estresse. Entretanto, para o consórcio *R. miluonense* (2) + *B. licheniformis* (2) não foi observada diferença entre a condição com e sem estresse salino. Este é um resultado significativo, visto que estes isolados em associação promovem o mesmo efeito no comprimento das raízes nas plantas com e sem o estresse.

Bactérias com atividade de ACC deaminase (1-aminociclopropano-1-carboxilato) reduzem os níveis de estresse causado por etileno na planta, resultando na promoção do crescimento da planta (Glick et al., 2007). Acido-índol-acético (AIA) e ACC deaminase estimulam o crescimento das raízes de forma coordenada (Glick et al., 2007). Todos os isolados testados apresentaram produção de AIA e a maioria deles apresentou atividade de ACC Deaminase.

O crescimento das raízes é mais afetado que o da parte aérea, na presença do sal, possivelmente devido ao estresse causado pelo etileno que interfere na atividade metabólica e processos fisiológicos nas raízes e também devido ao contato mais próximo com o sal (Mayak et al., 2004). Bal et al. (2003) sugerem que é de se esperar que a utilização de bactérias com várias características de promoção de crescimento vegetal deve auxiliar no aumento da produtividade das culturas de forma mais sustentável e estes devem ser os motivos para proteger a planta dos efeitos inibitórios do sal no seu crescimento, como foi observado para o arroz inoculado com bactérias tolerantes a salinidade.

Os dados referentes à interação significativa para a variável massa seca das raízes podem ser visualizados na tabela 4.

O estresse afetou negativamente o desenvolvimento das plantas, com redução de massa seca das raízes. Entretanto, não houve efeito significativo da inoculação com bactérias na produção de massa de raiz.

Na ausência do sal, *Bacillus licheniformis* (2), *R.miluonense* (2) e os consórcios *R. miluonense* (1) + *B. subtilis* e *R. miluonense* (2) + *Bacillus subtilis*, diferiram dos demais tratamentos e também das plantas controles, contribuindo em 19,44 e 16,67% (Tabela 4).

Tabela 4. Efeito da interação bactéria x sal, na produção de massa seca (g) da raiz de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar BRS Estilo, cultivado em solo salino e não salino e inoculado com bactérias diazotróficas

Bactérias	0 CE	Aumento (%)	6 CE	Aumento (%)
Controle	1,44bA	-*	0,49aB	-*
<i>Bacillus licheniformis</i> (2)	1,72aA	19,44	0,44aB	-
<i>Bacillus subtilis</i>	1,32bA	-	0,42aB	-
<i>R. miluonense</i> (1)+ <i>B. subtilis</i>	1,71aA	18,75	0,41aB	-
<i>R. miluonense</i> (1)	1,40bA	-	0,42aB	-
<i>R. miluonense</i> (1)+ <i>B. licheniformis</i> (2)	1,09cA	-	0,48aB	-
<i>R. miluonense</i> (2)+ <i>Bacillus subtilis</i>	1,54aA	6,94	0,70aB	-
<i>R. miluonense</i> (2)	1,68aA	16,67	0,62aB	-
<i>R. miluonense</i> (2)+ <i>B. licheniformis</i> (2)	1,47bA	2,08	0,44aB	-

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott e seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste F a 5% de significância.*O aumento em porcentagem no aumento de massa seca das raízes foi calculado apenas quando houve diferença significativa entre as bactérias e a testemunha.* CE = Condutividade Elétrica (dS m⁻¹)*do Solo; **O aumento em porcentagem para massa fresca da parte aérea foi calculado apenas quando houve diferença significativa entre as bactérias e a testemunha.

Para os consórcios, a contribuição foi de 18,75 e 6,94% para massa seca das raízes de feijão respectivamente.

Estudando estresse salino em feijoeiro, Beckmann-Cavalcante (2008) observou que com aumento da salinidade de 0,0 para 7,5 dSm⁻¹, houve redução para massa seca das raízes em *Phaseolus vulgaris*, quando comparado com *Vigna unguiculata*. Parida (2004), afirma que o estresse causado pelo aumento de Na⁺ e Cl⁻ em determinadas plantas, faz com que esses elementos sejam acumulados em maior quantidade nas folhas, seguidos pelas raízes. Nesse contexto, há redução significativa tanto no comprimento como na fitomassa de raízes de culturas submetidas ao cultivo sob estresse salino.

Para massa fresca e seca da parte aérea não houve efeito significativo das interações, havendo efeito apenas para o fator isolado sal, com uma média de 17,42g de massa fresca e 1,87g de massa seca das plantas cultivadas em condições de estresse salino. Enquanto em solo não salinizado, as médias obtidas foram de 36,95g e 4,57g de massa fresca e seca respectivamente.

Coelho et al. (2013) observaram redução na biomassa seca da parte aérea do feijão *Vigna* em solos salinizados. Estudando a qualidade fisiológica de sementes de arroz tratadas com solução salina, Larré et al., (2011) verificaram redução significativa de matéria seca da parte aérea na presença de 100 mM do NaCl.

Avaliou-se a área foliar fotossinteticamente ativa, a área foliar não ativa (afetada) e a área foliar total. Na presença de salinidade, a área foliar fotossinteticamente ativa foi de 543,53 cm² e sem sal foi de 1605,17 cm². O estresse salino causou redução na área foliar fotossintetizante das plantas. Entretanto, na quantidade de área foliar não fotossintetizante, observou-se um efeito benéfico da bactéria *Bacillus subtilis*, e os consórcios *R. mluonense* (2) + *B. licheniformis* (2) e *R. mluonense* (2) + *B. subtilis*, proporcionando menor quantidade de área foliar não ativa, o que evidencia o potencial das mesmas neste caso, em minimizar os efeitos fitotóxicos e as doenças, já que em condições de estresse as plantas encontram-se mais vulneráveis (Tabela 5).

Na presença do estresse, algumas bactérias diferiram entre si em termos de seus efeitos na diminuição da área foliar fotossinteticamente inativa. Sem o sal, as plantas ficam menos suscetíveis a doenças e apresentam menor quantidade de área foliar não fotossintetizante (Tabela 5).

Tabela 5. Efeito da interação (bactéria x sal), para área foliar fotossinteticamente inativa (AFFI) em (cm²) em folhas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), cultivar BRS Estilo, cultivado em solo salino e não salino e inoculado com bactérias diazotróficas

Bactérias	0 CE*	6 CE*
Controle	3,13 aB	52,62 aA
<i>Bacillus licheniformis</i> (2)	8,06 aB	86,19 aA
<i>Bacillus subtilis</i>	27,72 aA	19,13 bA
<i>Rhizobium miluonense</i> (1)	2,47 aB	52,51 aA
<i>R. miluonense</i> (2)	7,59 aB	61,65 aA
<i>R. miluonense</i> (1)+ <i>B. licheniformis</i> (2)	10,54 aB	73,94 aA
<i>R. mluonense</i> (1)+ <i>B. subtilis</i>	0,83 aB	70,43 aA
<i>R. mluonense</i> (2)+ <i>B. licheniformis</i> (2)	6,41 aA	22,80 bA
<i>R. mluonense</i> (2)+ <i>B. subtilis</i>	12,92 aA	37,11 bA

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott e seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste F a 0,01% de probabilidade. * CE = Condutividade Elétrica (dS m⁻¹)*do Solo

Os motivo pelo qual as plantas inoculadas com estes microrganismos apresentaram menor área foliar fotossinteticamente inativa, em condição do estresse salino, não estão claramente elucidados na literatura. Contudo, a capacidade de estímulo do crescimento das plantas pode ocorrer por mecanismos diretos, através da fixação de nitrogênio ou produção de fitormônios e por mecanismos indiretos, atuando no antagonismo contra patógenos ou resistência a drogas. Podem ainda aumentar os níveis de AIA (ácido-indol-acético) e citocininas, reduzir os níveis de etileno na planta, aumentar a resistência

à doenças aumentando a produtividade das culturas ou produzindo substâncias análogas aos fitohormônios (Luzzivoto, 2008).

Apenas o fator salinidade apresentou efeito significativo para a avaliação de área foliar total, com 596,46 cm² para as plantas sob estresse salino e 1614,02 cm² para as plantas sem estresse. As plantas cultivadas em solo salino apresentaram redução da área foliar total, visto que o estresse salino afeta diretamente características morfológicas das plantas. Araújo et al. (2010) também observaram decréscimo na área foliar de variedades de feijoeiro (*Phaseolis vulgaris* L.), com o incremento da salinidade nas soluções. Existem relatos de que a redução no crescimento foliar das plantas submetidas à salinidade deve-se aos efeitos osmóticos da aplicação do sal, provocando efeitos similares aos observados em plantas sob estresse hídrico (Munns, 2008).

CONCLUSÕES

O estresse salino influenciou significativamente todas as variáveis estudadas, havendo redução no crescimento na presença do estresse.

As bactérias mostraram-se mais eficientes quando inoculadas em consórcio, promovendo tolerância ao estresse e promoção de crescimento.

Os consórcios entre *R. miluonense* (2) e *B. licheniformis* (2) promoveram o comprimento das raízes sob a salinidade, bem como reduziram a área foliar fotossinteticamente não ativa, assim como o consórcio entre *R. mluonense* (2) e *B. subtilis* para esta última variável. Sendo o consórcio com estes isolados bacterianos considerado promissor para promoção de crescimento e tolerância de plantas de feijão a salinidade.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES pela concessão da bolsa de estudos da primeira autora, ao CNPq e FAPESB pelo apoio financeiro.

LITERATURA CITADA

- Andrade, J. R.; Maia, Junior, S. O.; Silva, P. F.; Barbosa, J. W. S.; Nascimento, R.; Sousa, J. S. Crescimento inicial de genótipos de feijão Caupi submetidos a diferentes níveis de água salina. *Agropecuária Científica no Semiárido*, v. 9, n. 4, p. 38- 43, 2013.
- Beckmann-Cavalcante, M. Z.; Cavalcante, I. L. H.; Cavalcante, L. F.; Souza, G. B.; Santos, J. B.; Souza, M. S. M. Growth and water consumption of two bean species under irrigation with saline water. *Scientia Agraria*, v. 9, n. 3, p. 349-355, 2008.
- Borém, A.; Carneiro, J.E.S. A cultura. In: Vieira, C.; Paula, J. R., T. J.; Borém, A. (ed.). *Feijão: Aspectos gerais e cultura no estado de Minas Gerais*. Viçosa: UFV, 1999. p.13-17.
- Coelho, M. B. J.; Barros, C. F. M.; Neto, B. E.; Correa, M. M. Comportamento hídrico e crescimento do feijão *Vigna* cultivado em solos salinizados. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*. v.17, n.4, p.379–385, 2013.
- Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB). *Aperfeiçoamento da safra brasileira: Grãos, oitavo levantamento, maio 2013*. Brasília, DF, 2013.
- Ferreira, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia (UFLA)*, v.35, p.1039-1042, 2011.
- Freire, M. B. G. S.; Freire, F. J. Fertilidade do solo e seu manejo em solos afetados por sais. In: *Fertilidade do Solo*. Novais, R. F.; Alvarez, V. V. H.; Barros, N. F.; Fontes, R. L. F.; Cantarutti, R. B.; Neves, J. C. L. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, cap.16, p. 929-954, 2007.
- Gu, C. T.; Wang, E. T.; Tian, C. F.; Han, T. X.; Chen, W. F.; Sui, X. H.; Chen, W. X. *Rhizobium miluonense* sp. nov., a symbiotic bacterium isolated from Lespedeza root nodules. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, v. 58, p. 1364–1368, 2008. .< <http://Doi10.1099/ijs.0.656661-0>.
- Larré, C. F.; Moraes, D. M.; Lopes, N. F. Qualidade fisiológica de sementes de arroz tratadas com solução salina e 24-epibrassinolídeo. *Revista Brasileira de Sementes*, v. 33, n.1, p. 86 - 94, 2011. .< <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-31222011000100010>.
- Lluch, C. Tejera, N. Herrera-Cervera, J. A.; Lopez, M. Barranco-Gresa, J. R. Palma, F.J.; Gozalvez, M. Iribarne, C.; Moreno, E.; Ocana, A. Saline stress tolerance in legumes. *Lotus Newsletter*, v.37, p.76-77, 2007.
- Loganathan, P.; Nair, S. *Swaminathania salitolerans* gen. nov., sp. nov., a salt-tolerant, nitrogen-fixing and phosphate solubilizing bacterium from wild rice (*Porteresia coarctata* Tateoka). *International Journal Systematic Evolutionary Microbiology*, v.54, p.1185–1190, 2004.

- Mayak, S.; Tirosh, T.; Glick, B.R. Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. *Plant Physiology Biochemistry*, v.42, p.565– 572. 2004. <http://doi:10.1016/j.plantsci.2003.10.025>.
- Munns, R.; Tester, M. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, v.59, p.651-681, 2008.
- Nabti, E.; Sahnoune, M.; Adjrad, S.; Van, Dommelen A, Ghoul, M.; Schmid, M, Hartmann, A. A halophilic and osmotolerant *Azospirillum brasilense* strain from Algerian soil restores wheat growth under saline conditions. *Engineering in Life Science*. v.7, n.4, p.354–360, 2007.
- Nadeem, S. M.; Zahir, Z. A.; Naveed, M.; Nawaz, S. Mitigation of salinity induced negative impact on the growth and yield of wheat by plant growth-promoting rhizobacteria in naturally saline conditions. *Annual Microbiology*, v.63, n.1, p.225–32, 2013. <http://doi:10.1007/s13213-012-0465-0>.
- Oliveira, F. A.; Medeiros, J. F.; Oliveira, M. K. T.; Lima, C. J. G. S.; Junior, A. B. A.; Amâncio, M. G. Desenvolvimento inicial do milho pipoca irrigado com água de diferentes níveis de salinidade. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v.4, n.2, p.149-155, 2009.
- Parida, A.K.; Das, A.B.; Mitra, B. Effects of salt on growth, ion accumulation photosynthesis and leaf anatomy of the mangrove, *Bruguiera parviflora*. *Trees - Structure and Function*, v.18, p.167–174. 2004.
- Reinhold, B.; Hurek, T.; Fendrik, I.; Pot, B.; Gillis, M.; Kersters, K.; Thielemans, S.; Deley, J. *Azospirillum halopraeferens* sp. nov., a nitrogen-fixing organism associated with roots of Kallar grass (*Leptochloa fusca* (L.) (Kunth). *International Journal of Systematic Bacteriology*, v.37, p.43–51, 1987.
- Santos, A.F.J.; Martins, C.Y.S.; Santos, P.O.; Corrêa, E.B.; Barbosa, H.R.; Sandoval, A.P.S.; Oliveira, L.M.; Souza, J.T.; Soares, A.C.F. Diazotrophic bacterial associated with sisal (*Agave sisalana* Perrine ex Engelm): Potential for plant growth promotion. *Plant and Soil*, v.385, n.12, p.37-48, 2014. <http://Doi 10.1007/s11104-014-2202-x>.
- Silva, F. A. M.; Melloni, R.; Miranda, J. R. P.; Carvalho, J. G. Efeito do estresse salino sobre a nutrição mineral e o crescimento de mudas de Aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) cultivadas em solução nutritiva. *Cerne*, v. 6, n. 1, p. 52-59, 2000.
- Silva, S. M. S.; Alves, A. N. A.; Gheyi, H. R.; Beltrão, N. M.; Severino, L. S.; Soares, F. A. L. Desenvolvimento e produção de duas cultivares de mamoneira sob estresse salino. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* v.12, n.4, p.335–342, 2008.
- Singleton, P.W.; Bohlool, B. B. Effect of salinity on nodule formation by soybean. *Plant Physiology*, v.74, n.1, p.72–76, 1984. <http://doi:10.1104/pp. 74.1.72>.
- Souza, R. P.; Machado, E. C.; Silveira, J. A. G.; Ribeiro, R. V. Fotossíntese e acúmulo de solutos em feijoeiro caupi submetido à salinidade. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.46, p.587-592, 2011.

Talbi, C.; Argandoña, M.; Salvador, M.; Alché, J. D.; Vargas, C.; Eulogio J. Bedmar, E. J.; Delgado, M. J. *Burkholderia phymatum* improves salt tolerance of symbiotic nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris*. *Plant Soil*, v.367, p.673–685, 2012.

Toppa, B. V. E. Brambilla. P. W. O melhoramento de plantas e a salinidade dos solos. *Revista Verde*, v.6, n.1, p. 21 – 25, 2011. <http://revista.gvaa.com.br>.

Zahran HH. Rhizobium-legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate. *Microbiology Molecular Biology Review*, v.63, p.968–89, 1999.

Zhang, H.; Kim, M. S.; Sun, Y.; Dowd, S. E.; Shi, H.; Pare, P. W. Soil bacteria confer plant salt tolerance by tissue-specific regulation of the sodium transporter HKT1. *Molecular Plant Microbe Interact*, v.21, n.6, p. 737–744, 2008. <http://doi:10.1094/MPMI-21-6-0737>.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A salinidade limita a produtividade de inúmeras culturas, e tem maior predominância nas regiões áridas e semiáridas. Os efeitos deletérios compreendem os efeitos tóxicos e osmóticos, influenciando negativamente o crescimento de plantas como observado no presente trabalho. A inoculação de plantas com bactérias halotolerantes pode aumentar a tolerância destas ao estresse salino. Estes microorganismos também atuam na promoção do crescimento das plantas, por diversos mecanismos a exemplo da fixação biológica do nitrogênio, produção de ácido indole acético (AIA), solubilização de fosfato e produção de hormônios reguladores de crescimento.

Alguns isolados utilizados neste trabalho aliviaram os efeitos causados pelo estresse salino. *B. licheniformis* (isolado 2) promoveu incrementos no comprimento de raízes, da cultivar BRS Estilo. Assim como os *R. miluonense* (isolados 1 e 2), promoveram o aumento do número de folhas, com e sem o estresse, comprimento da raiz da cultivar BRS Estilo e a fitomassa fresca da parte aérea de ambas as cultivares.

O efeito de bactérias na promoção do crescimento de plantas e tolerância a estresses abióticos pode ser incrementado pelo consórcio dessas bactérias, devido ao efeito sinérgico destas. No presente trabalho, as bactérias promoveram tolerância ao estresse e promoção de crescimento do feijão, quando inoculadas em consórcio. Este

proporcionou o melhor crescimento das raízes e aumento de massa seca das plantas de feijão.

Os consórcios entre *Rhizobium miluonense* (2) e *B. licheniformis* (2); *R. miluonense* (1) e *B. licheniformis* (2); *R. miluonense* (1) e *B. subtilis*, promoveram aumento do comprimento das raízes na presença do estresse salino. Estes consórcios podem ser utilizados no cultivo do feijão em solos salinizados. Contudo, sugere-se que a associação destes isolados com *Rhizobium tropici* pode favorecer além de tolerância ao estresse salino, maior eficiência na nodulação e na fixação biológica do nitrogênio, com o melhor crescimento da planta e aumento na produtividade da cultura.