

**MÍSIA SOUZA VIEIRA**

**BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS DA SERINGUEIRA PROMOVEM O CONTROLE DE  
*Sclerotinia sclerotiorum* E O CRESCIMENTO DO FEIJOEIRO COMUM  
(*Phaseolus vulgaris* L.)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientadora: Marisa Vieira de Queiroz

Coorientador: Maurício Dutra Costa

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2022**

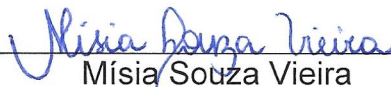
MÍSIA SOUZA VIEIRA

**BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS DA SERINGUEIRA PROMOVEM O CONTROLE DE  
*Sclerotinia sclerotiorum* E O CRESCIMENTO DO FEIJOEIRO COMUM  
(*Phaseolus vulgaris* L.)**

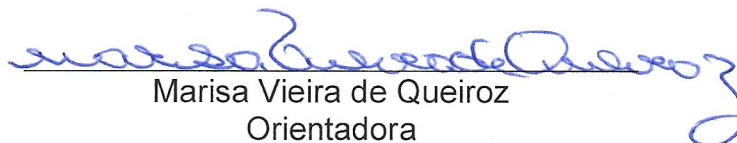
Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 18 de fevereiro de 2022.

Assentimento:



Mízia Souza Vieira  
Autora



Marisa Vieira de Queiroz  
Orientadora

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

V658b  
2022  
Vieira, Mísia Souza, 1994-  
Bactérias endofíticas da seringueira promovem o controle de *Sclerotinia sclerotiorum* e o crescimento do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) / Mísia Souza Vieira. – Viçosa, MG, 2022.

1 dissertação eletrônica (51 f.): il. (algumas color.).

Inclui apêndice.

Orientador: Marisa Viera de Queiroz.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Microbiologia, 2022.

Referências bibliográficas: f. 34-41.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2022.599>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Bactérias endofíticas. 2. Plantas - Crescimento. 3. Controle biológico. 4. Feijão - Crescimento. I. Queiroz, Marisa Viera de, 1964-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Microbiologia. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola. III. Título.

CDD 22. ed. 579.51785

## AGRADECIMENTOS

A Deus por ser imutável, cumprindo suas promessas em minha vida, por ter me dado o sustento em tudo que necessitei, pelo Seu cuidado comigo ao longo desse período, pela força e sabedoria que Ele me concedeu.

À minha base, minha família. Aos meus pais Marilena e João Celso, meus irmãos Luís Otávio e Mércia, minhas avós Martinha e Alice, meus tios e tias, meus sinceros agradecimentos pelas orações, os ensinamentos, os cuidados, por entenderem minha ausência em alguns momentos e por acreditarem em meu potencial. Agradeço também a Duda, Rafa e Aninha pelos momentos de descontração, crises de risos, maratona de séries e filmes. Não tenho palavras para descrever a importância de vocês em minha vida e para que eu fosse capaz de concluir esse trabalho.

Agradeço também as minhas amigas Aline, Amanda e Larissa, por estarem comigo há tanto tempo, mesmo longe se fizeram presente. À minha amiga Dam pela amizade desde a graduação, pelo tempo que moramos juntas e por ter trazido a amizade do Gabriel e Samuel. Obrigada pela amizade de vocês, por compartilharem comigo momentos importantes, pelo apoio de sempre e pelas orações. À Bianca que conheci no início do mestrado, mas parece que conheço há uma vida! Bi, obrigada pelo companheirismo, pelos conselhos, por me tirar do sedentarismo, por tantos almoços juntas, cafés, pão de queijo do Escola e sopas pra aguentar o gelo daquela república! Ao Condé do Boné pela amizade e companheirismo, por me fazer gostar de Fórmula 1, por fazer pizza pra gente e todo carinho que sempre teve comigo.

A Alexia, Helbert e Leandro Cardoso pelo apoio e força principalmente nesse último ano do mestrado, por sempre me ouvirem em momentos de desespero e surtos. Às meninas da república pela companhia nesses 2 anos, noites de dominó mexicano e os encontros de comidas, em especial Pâmela e Muri pela amizade de vocês, pela companhia pra cozinhar, assistir BBB, ir na feirinha e no mercado Escola.

A professora Marisa Queiroz, pela orientação, confiança, e conhecimento passados durante o mestrado. Ao professor Maurício Costa pela co-orientação, pela ajuda e por se colocar à disposição sempre que precisei e aos demais professores e servidores do Departamento de Microbiologia. Ao Antônio Carlos pela ajuda fornecida para a execução dos experimentos em casa de vegetação. Ao professor José Eustáquio do Departamento de Agronomia por disponibilizar a casa de vegetal. Aos

colegas dos laboratórios de Genética Molecular de Microrganismos e Bactérias, Leandro, Mirele, Raíssa, Rafael, Ediones, Thiago, Lucas M., Jéssica Assis, Giarlã, Hanna e Patrícia entre outros, meus agradecimentos pelo companheirismo e por compartilhar seus conhecimentos. A Kali, Vanessa e Tomás por toda ajuda e apoio desde que eu entrei pro laboratório. Vocês foram essenciais no meu crescimento profissional e pessoal.

Por fim, deixo meus agradecimentos à Universidade Federal de Viçosa pela oportunidade de realizar a pós-graduação, à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa de estudos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

## RESUMO

VIEIRA, Mísia Souza, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2022. **Bactérias Endofíticas da Seringueira Promovem o Controle de *Sclerotinia sclerotiorum* e o Crescimento do Feijoeiro Comum (*Phaseolus vulgaris* L.).** Orientadora: Marisa Vieira de Queiroz. Coorientador: Maurício Dutra Costa.

O manejo de doenças e a produtividade dependem muitas vezes do uso de fertilizantes e agroquímicos, gerando poluição dos solos e da água e degradação ambiental. Além disso, os agroquímicos afetam o microbioma do solo e, simultaneamente, selecionam patógenos resistentes devido a sua aplicação excessiva. Assim, há uma demanda por estratégias alternativas, como o emprego de bactérias endofíticas promotoras de crescimento para o aumento da produtividade de diferentes culturas, como o feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*), e para o controle de doenças de plantas. Neste trabalho, bactérias endofíticas do caule, folhas e raízes de seringueiras da floresta Amazônica foram identificadas e testadas quanto ao antagonismo ao fitopatógeno *Sclerotinia sclerotiorum*, causador do mofo-branco, e a capacidade de promoção de crescimento do feijoeiro comum. Foram avaliadas 84 bactérias e foram identificados representantes dos gêneros *Achromobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Ochrobactrum*, *Paenibacillus*, *Stenotrophomonas* e *Tsukamurella*. Os isolados 18 (18B22C-AM - *Bacillus* sp.), 140 (140B5F-AM – *Bacillus* sp.), 174 (174B28R-AM – *Bacillus* sp.) e 201 (201B16R-AC – *Bacillus* sp.) foram eficientes no controle *in vitro* de *S. sclerotiorum*, e nesses isolados foram identificados genes de lipopeptídeos, como bacilomicina A, fengicina, iturina A e surfactina. Os isolados 18, 174 e 201 foram eficientes no controle de *S. sclerotiorum* em plantas de feijoeiro comum. A avaliação dos mecanismos de promoção de crescimento *in vitro* revelou que os isolados 18, 140 e 174 fixam nitrogênio em meio FNB e os isolados 140 e 174 produzem sideróforos em meio sólido Casaminoácidos (CAA) contendo CAS (cromo azurol S). Todos os isolados promoveram aumento na massa seca da raiz do feijoeiro comum e os isolados 18, 174 e 201 promoveram aumento da massa seca da parte aérea. Portanto, os resultados encontrados demonstram o potencial das bactérias endofíticas de seringueiras para o desenvolvimento de bioinoculantes para o controle do fitopatógeno *S. sclerotiorum* e para a promoção do crescimento do feijoeiro comum.

Palavras-chave: Endófitos. Promoção de crescimento. Controle biológico. Feijão.

## ABSTRACT

VIEIRA, Mísia Souza, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2022. **Rubber Tree Endophytic Bacteria Promote *Sclerotinia sclerotiorum* Control and Growth in Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.)**. Adviser: Marisa Vieira de Queiroz. Co-advisor: Maurício Dutra Costa.

Disease management and productivity often depend on the use of fertilizers and agrochemicals, leading to the pollution of soils and water, environmental degradation. In addition, chemicals affect the microbiome of the soil and, simultaneously, select resistant pathogens due to excessive chemical application. Thus, there is a demand for alternative strategies, such as the use of endophytic growth-promoting bacteria to increase the productivity of different crops, such as common bean (*Phaseolus vulgaris*), and to control plant diseases. In this work, endophytic bacteria from the stem, leaves and roots of rubber trees from the Amazon rainforest were identified, and tested for antagonism to the plant pathogen *Sclerotinia sclerotiorum* and the growth-promoting capacity of common bean. Eighty-four bacteria were evaluated and representatives of the genera *Achromobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Ochrobactrum*, *Paenibacillus*, *Stenotrophomonas* and *Tsukamurella* were identified. Isolates 18 (18B22C-AM - *Bacillus* sp.), 140 (140B5F-AM - *Bacillus* sp.), 174 (174B28R-AM - *Bacillus* sp.) and 201 (201B16R-AC - *Bacillus* sp.) were efficient in the *in vitro* control of *S. sclerotiorum*, and lipopeptide genes such as bacillomycin A, fengicin, iturin A and surfactin were identified in these isolates. Isolates 18, 174 and 201 were efficient in controlling of *S. sclerotiorum* in common bean plants. The evaluation of *in vitro* growth promotion mechanisms revealed that isolates 18, 140 and 174 fix biological nitrogen in FNB medium and isolates 140 and 174 produce siderophores in Casamino Acids (CAA) solid medium containing CAS (chrome azurol S). All isolates promoted an increase in common bean root dry mass and isolates 18, 174 and 201 promoted an increase in shoot dry mass. Therefore, the results found demonstrate the potential of rubber tree endophytic bacteria for the development of bioinoculants for the control of the phytopathogen *S. sclerotiorum* and for the promotion of common bean growth.

Keywords: Endophytic bacteria. Growth promotion. Biological control. Common bean.

## SUMÁRIO

<b>1. Introdução</b>	<b>9</b>
<b>2. Material e métodos</b>	<b>13</b>
2.1. Microrganismos, cultivar de feijoeiro comum, condições de cultura e manutenção das culturas	13
2.2. Identificação molecular das bactérias endofíticas de seringueira	13
2.3. Avaliação do potencial antagônico <i>in vitro</i> de bactérias endofíticas da seringueira a <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	14
2.3.1. Difusão de metabólitos em meio de cultura	14
2.3.2. Produção de compostos voláteis (COV)	15
2.4. Avaliação do potencial de biocontrole <i>in planta</i> de bactérias endofíticas da seringueira a <i>S. sclerotiorum</i>	15
2.5. Identificação da presença de genes que codificam lipopeptídeos	16
2.6. Avaliação <i>in vitro</i> da presença dos mecanismos de promoção de crescimento	16
2.6.1. Solubilização de fosfato	16
2.6.2. Fixação de nitrogênio	17
2.6.3. Produção de ácido indol-3-acético (AIA)	17
2.6.4. Produção de sideróforos	17
2.7. Avaliação da promoção de crescimento vegetal em mudas de feijoeiro comum	17
2.8. Análise de dados	18
<b>3. Resultados</b>	<b>18</b>
3.1. Identificação molecular das bactérias endofíticas de seringueira	19
3.2. Avaliação do potencial antagônico <i>in vitro</i>	23
3.2.1. Difusão de metabólitos em meio de cultura	23
3.2.2. Produção de compostos voláteis	25
3.3. Avaliação do potencial antagônico de <i>Bacillus</i> spp. endofíticos da seringueira a <i>S. sclerotiorum</i> em feijoeiro comum	25
3.4. Identificação da presença de genes que codificam lipopeptídeos	26
3.5. Avaliação dos mecanismos de promoção de crescimento <i>in vitro</i>	26
3.6. Avaliação da promoção de crescimento vegetal <i>in vivo</i>	27
<b>4. Discussão</b>	<b>28</b>
<b>5. Referências</b>	<b>34</b>

## 1. Introdução

Devido ao crescimento populacional nos últimos anos e ao aumento da renda per capita, a demanda global por alimentos expandiu-se e deverá sofrer incrementos de 1,3 % a.a. até 2030 e as projeções de aumento da produção agrícola mundial são estimadas em 18 %, com a contribuição de 10 % da América Latina (OECD/FAO, 2021). Porém, a oferta de alimentos é significativamente afetada pelas mudanças climáticas (CONAB, 2021), e pelo desenvolvimento de doenças que afetam plantas e animais de interesse agrícolas e agropecuário.

Com isso, há ampliação no uso dos agroquímicos para controle de doenças e de fertilizantes, e ao mesmo tempo também de insumos biológicos na agricultura. A utilização de tais insumos cresceu para aumentar a produtividade das culturas e controlar fitopatógenos, visando a segurança alimentar e nutricional global (OECD/FAO, 2021), até como alternativa potencial para a substituição do uso dos agroquímicos.

Assim, o emprego de microrganismos em práticas agrícolas aumentou significativamente nos últimos anos como alternativa aos químicos utilizados (Adeleke *et al.*, 2021; Vasileva *et al.*, 2019). Além de causarem poluição do solo e da água e a degradação ambiental, provocando problemas à saúde humana e animal, os insumos químicos afetam o microbioma benéfico do solo (Chernov e Semenov, 2021; Rajkumar *et al.*, 2009) e, simultaneamente, seleciona linhagens resistentes dos patógenos devido a mutações *de novo* nos genes que codificam o sítio alvo ou nos principais genes de resistência (Hawkins *et al.*, 2019; Ogawa *et al.*, 2020).

Dentre as culturas de importância agrícola, o feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) apresenta destaque, por ser fonte de proteínas e estar presente na dieta diária da população de vários países, principalmente da América Latina, sobretudo da maioria da população brasileira. No entanto, essa cultura sofre com o ataque de patógenos que reduzem significativamente a sua produtividade, causando doenças tais como a antracnose, a ferrugem, a mancha-angular, o mofo-o branco, a murcha e o oídio (Juliatti *et al.*, 2015; Nunes *et al.*, 2017). Dentro deste cenário, diferentes pesquisas estão sendo realizadas visando o desenvolvimento de inoculantes biológicos que aumentem a produtividade da cultura e antagonizem fitopatógenos (Ferreira *et al.*, 2020; Martins *et al.*, 2018).

Entre os microrganismos empregados, as bactérias endofíticas são importantes ferramentas aplicadas à agricultura e à indústria e estudadas como alternativa promissora na biorremediação e no controle de doenças devido à produção de metabólitos secundários que controlam o crescimento de fitopatógenos e o aumento da produção de culturas de grande interesse econômico (Chebotar *et al.*, 2015).

Tais microrganismos possuem ciclo de vida bifásico alternado entre o solo e os tecidos vegetais (Afzal *et al.*, 2019). As mesmas colonizam principalmente os espaços intercelulares devido à abundância de nutrientes, e algumas também são capazes de colonizar intracelularmente (Pinski *et al.*, 2019). As sementes também podem ser colonizadas pelas bactérias endofíticas, permitindo a transmissão desses microrganismos de geração a geração (Chebotar *et al.*, 2015).

Na interação microrganismo endofítico-hospedeiro, os nutrientes e um ambiente estável aos microrganismos são fornecidos pela planta a qual se beneficia por meio da proteção contra fitopatógenos e promoção de crescimento que os endófitos conferem (Afzal *et al.*, 2019; Compant *et al.*, 2005; Elanchezhiyan *et al.*, 2018; Santos e Varavallo, 2011). Além disso, microrganismos endofíticos mantêm relacionamento estreito e duradouro com a planta devido à natureza de seu estilo de vida endofítico, isso pode fornecer às bactérias endofíticas a capacidade de recolonizar a superfície da planta e resistir a algumas situações de estresse abiótico e biótico no solo (Afzal *et al.*, 2019; Chebotar *et al.*, 2015).

Um dos mecanismos de proteção a fitopatógenos utilizado por microrganismos endofíticos envolve a produção de metabólitos secundários bioativos. Esses metabólitos podem estar diretamente envolvidos na antibiose e na defesa da planta, por vez, agindo indiretamente na promoção do crescimento vegetal (Azabou *et al.*, 2020; Maksimov *et al.*, 2020; Rong *et al.*, 2020; Zouari *et al.*, 2016). Dos produtos do metabolismo secundário, os biossurfactantes do grupo dos lipopeptídeos têm grande importância por serem capazes de alterar as propriedades físicas e químicas de interfaces (Sansinenea e Ortiz, 2011).

Lipopeptídeos são moléculas anfipáticas, ou seja, possuem parte hidrofóbica e outra hidrofílica. Assim, devido às suas propriedades de reduzir a tensão interfacial e formar micelas, os biossurfactantes podem modificar o comportamento interfacial e a relação de outras moléculas na interface e em solução (Van Hamme *et al.*, 2006). Por consequência, podem aumentar a biodisponibilidade e mobilidade de compostos orgânicos hidrofóbicos ou insolúveis em água (Götze e Stallforth, 2020; Singh *et al.*,

2007). Além disso, são capazes de lisar as membranas (Greber *et al.*, 2020; Ohadi *et al.*, 2020), tendo assim atividades antifúngica, antibiótica, anti-inflamatórias e citotóxicas (Götze e Stallforth, 2020).

O crescimento e o rendimento das plantas dependem essencialmente da produção de fitohormônios e biodisponibilidade de minerais que elas adquirem direta ou indiretamente do solo. A principal auxina (um fitohormônio) produzida por plantas e bactérias é o ácido indol-3-acético (AIA). Em plantas o AIA regula vários processos como aumento e divisão celular, diferenciação de tecidos e respostas à luz e quando em interação com as plantas, o AIA bacteriano tem o potencial de interferir em qualquer um desses processos, alterando de forma espaço-temporal o *pool* de auxinas da planta (Spaepen *et al.*, 2007).

Além de promoverem o crescimento das plantas por produzir/estimular a produção de fitohormônios, as bactérias endófitas facilitam a aquisição de recursos minerais como fósforo (P) e ferro que geralmente são menos biodisponíveis e a fixação de nitrogênio (Borah *et al.*, 2021).

O P é um macronutriente essencial para sustentar o crescimento ideal da planta e desempenha diferentes e importantes papéis moleculares na célula vegetal, tais como respiração, vias de transdução de sinais, atividade enzimática, reações redox e reações baseadas em fosforilação/desfosforilação. O P também é requerido no suporte a fotossíntese, fixação biológica de nitrogênio, formação de embriões e sementes (Srivastava *et al.*, 2018). Bactérias solubilizadoras de fosfato orgânico e/ou inorgânico, desempenham um papel importante na nutrição das plantas por tornar o P disponível para absorção pelas plantas, agindo como promotores de crescimento (Rodríguez e Fraga, 1999), visto que, o fosfato inorgânico (Pi), forma mais acessível para as plantas, raramente excedem 1–10  $\mu\text{m}$  em soluções de solo (Srivastava *et al.*, 2018).

Sob condições de estresse de ferro, os microrganismos podem produzir compostos de baixa massa molecular com alta afinidade pelo íon férrico, denominados sideróforos (Cueva-Yesquén *et al.*, 2020). A produção de sideróforos para quelação de ferro é uma característica importante em bactérias endofíticas, pois a biodisponibilidade do ferro é muito limitada devido à baixa solubilidade dos íons  $\text{Fe}^{3+}$ . Sideróforos são os agentes de ligação mais fortes de  $\text{Fe}^{3+}$  (Borah *et al.*, 2021).

O nitrogênio é um elemento essencial para biossíntese de aminoácidos e proteínas (Vejan *et al.*, 2016), que está presente em abundância no meio ambiente em sua forma

diatômica (N<sub>2</sub>), limitando sua absorção pelas plantas (Cueva-Yesquén *et al.*, 2020). Porém, células procarióticas desenvolveram mecanismo biológico que torna nitrogênio atmosférico (N<sub>2</sub>) biodisponível através do processo biológico de fixação de nitrogênio (Franche *et al.*, 2009). Entre estes procariontes que fixam N<sub>2</sub>, estão as bactérias endofíticas com potencial biotecnológico com aplicação na agricultura (Liu *et al.*, 2017; ALKahtani, 2020).

Ainda há poucos estudos acerca de bactérias endofíticas de seringueiras e do potencial biotecnológico desses microrganismos. Alguns estudos foram feitos de isolamento de bactérias endofíticas da seringueira (*Hevea brasiliensis*) (Abraham *et al.*, 2013), e demonstraram o potencial antagônico do isolado identificado como *Alcaligenes* sp. cepa EIL, bem como a indução de resistência sistêmica adquirida (Abraham *et al.*, 2013; 2015; 2019). Outra cepa endofítica ITBB B5-1 identificada como *Serratia marcescens* é capaz de secretar quitinase e β-1,3-glucanase tendo efeito antifúngico capaz de controlar a murcha de *Fusarium* em campo (Tan *et al.*, 2015). Hidayati *et al.* (2014) isolaram bactérias endofíticas também de seringueiras promotoras de crescimento e com capacidade de fixar nitrogênio, produzir ácido indol acético, giberelina e citocinina. Dentre 415 bactérias endofíticas isoladas de seringueiras, duas (*Enterobacter* AP6A3 e *Bacillus* ER212) foram capazes de reduzir o estresse salino em plântulas de seringueira e promover o crescimento (Khotchanalekha *et al.*, 2019).

O uso de bactérias endofíticas em práticas agrícolas para o tratamento de sementes ou mudas e outras ferramentas de controle pode resultar em efeito sinérgico contra um ou vários patógenos, levando à diminuição no uso de fertilizantes químicos e agroquímicos. Assim, este trabalho teve como objetivos identificar bactérias endofíticas da seringueira, avaliar o potencial no biocontrole de *Sclerotinia sclerotiorum* e na promoção do crescimento do feijoeiro comum.

## 2. Material e métodos

### 2.1. Microrganismos, cultivar de feijoeiro comum, condições de cultura e manutenção das culturas

Neste estudo foram analisadas bactérias endofíticas de seringueiras da floresta Amazônica do Brasil (Tabela S1). Essas bactérias foram isoladas em meio de cultura BDA contendo dois antibióticos, estreptomicina (12,5 mg/mL) e tetraciclina (12,5 mg/mL), durante testes que foram realizados para o isolamento de fungos (Figura S1). As coletas, os tipos de tecidos e os tratamentos realizados para desinfestação dos tecidos estão descritos em Araújo *et al.* (2018; 2020). As bactérias foram estocadas em glicerol 20 % (Kuklinsky-Sobral *et al.*, 2004) e fazem parte da bacterioteca do Laboratório de Genética Molecular de Microrganismos (LGMM) no Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO - Campus UFV - Viçosa / MG, Brasil).

O fitopatógeno utilizado nas análises foi *S. sclerotiorum* da coleção do LGMM. O cultivo para a obtenção dos inóculos ocorreu em meio Batata Dextrose Ágar (BDA) durante 7 dias a 25 °C em câmara de crescimento BOD.

Nos experimentos de avaliação de promoção de crescimento do feijoeiro comum e do controle da doença foi utilizada a cultivar Pérola.

### 2.2. Identificação molecular das bactérias endofíticas de seringueira

O DNA total das culturas puras foi extraído utilizando o kit *Wizard® Genomic DNA Purification Kit* (Promega) de acordo com as instruções do fabricante.

Fragmento de aproximadamente 1.400 pb da região 16S do rDNA foi amplificado por meio de reações de PCR (*Polymerase chain reaction*) usando os *primers* P027F e 1492R (Tabela S3). A reação foi realizada em um volume final de 25 µL contendo 50 ng de DNA da amostra, 25 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM dNTPs, 5 µM de cada *primer*, uma unidade da GoTaq® Green MasterMix 2X e água MilliQ usando termociclador Eppendorf Mastercycler (Eppendorf, Alemanha). As condições para PCR foram: etapa de desnaturação inicial a 94 °C por 7 minutos, seguido por 30 ciclos de desnaturação por 30 segundos a 94 °C, anelamento por 1 minuto e 30 segundos

a 55 °C, alongamento por 1 minuto e 30 segundos a 72 °C, seguido por alongamento final de 7 minutos a 72 °C.

Os produtos da PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose (1,5 %) contendo brometo de etídio (0,2 µl/ml) e enviados para o sequenciamento na Macrogen Inc. (Coréia). As sequências obtidas foram editadas usando o programa Geneious. A identificação das bactérias foi realizada por comparação com sequências de referências disponíveis no GenBank (NCBI - *National Center for Biotechnology Information*, USA). As sequências no formato FASTA das bactérias do presente estudo e linhagens tipo (Tabela S2) foram alinhadas usando MAFFT 6.0 (Kato e Hiroyuki, 2008). O alinhamento foi exportado para o *software* MEGA versão 11 e a árvore filogenética foi gerada usando o modelo Neighbor-Joining (NJ) com 1000 repetições *bootstrap* e enraizada com sequências de 16S rDNA de membros da família Enterobacteriaceae.

### **2.3. Avaliação do potencial antagônico *in vitro* de bactérias endofíticas da seringueira a *S. sclerotiorum***

#### **2.3.1. Difusão de metabólitos em meio de cultura**

A atividade antagônica das bactérias em ensaio de cultura pareada, foi realizado com as bactérias endofíticas que não eram do mesmo gênero/espécie, nem mesma planta e mesmo tecido. Também não foram testadas bactérias identificadas como patogênicas para o homem. As bactérias selecionadas foram inoculadas em um lado da placa de Petri contendo meio de cultura BDA à distância de 1,5 cm da borda. Após 48 horas, no lado oposto, foi inoculado um disco de 5 mm de diâmetro de micélio de *S. sclerotiorum* com 7 dias de crescimento. Para o controle foram usadas placas inoculadas com o fitopatógeno sem a presença de bactéria. O teste foi feito com 28 bactérias, com três repetições biológicas. As placas foram incubadas a temperatura de melhor crescimento de *S. sclerotiorum* (25 °C) até as placas de controle atingirem 3 cm de raio.

A porcentagem de inibição do crescimento (IC) micelial do fitopatógeno foi calculada aplicando a fórmula  $IC = [(C-T)/C] \times 100$ , em que C é o crescimento micelial radial do controle (mm) e T é o crescimento micelial radial nos tratamentos (bactéria + fungo fitopatogênico; mm).

### **2.3.2. Produção de compostos voláteis (COV)**

A produção de compostos voláteis (COV) foi avaliada de acordo com Azabou *et al.* (2020), com modificações. Utilizaram-se placas de Petri bicompartimentalizadas, contendo meio LB em uma partição e meio BDA na outra. No meio LB, inoculou-se o isolado bacteriano endofítico e, no meio BDA, foi inoculado um disco de 5 mm de diâmetro contendo micélio de *S. sclerotiorum* com 7 dias de crescimento. Para o controle negativo, placas foram inoculadas somente com fungo.

Todas as placas foram incubadas a temperatura de melhor crescimento do fitopatógeno (25 °C) e hermeticamente vedadas com parafilme. A inibição do crescimento micelial do fitopatógeno foi medido quando a colônia da placa controle atingiu 2 cm de raio. O cálculo de inibição foi feito como descrito no item 2.3.1.

### **2.4. Avaliação do potencial de biocontrole *in planta* de bactérias endofíticas da seringueira a *S. sclerotiorum***

Sementes de feijão foram desinfestadas em hipoclorito de sódio 0,5 % por 5 min, e lavadas em água destilada estéril por 3 vezes. Em seguida foram imersas, por 10 min, em solução salina 0,85 % (SS) ou em suspensão bacteriana (SB), DO ajustada para 0,8 a 600 nm dos isolados 18B22C-AM, 140B5F-AM, 174B28R-AM e 201B16R-AC.

Em vasos contendo 0,5 Kg de substrato Topstrato<sup>®</sup>, 5 sementes foram semeadas e após 4 dias foi realizado o desbaste para obtenção de plântulas uniformes que foram utilizadas para o experimento composto por 4 tratamentos descritos na Tabela 1. Cada tratamento conteve 5 plantas e 3 repetições biológicas. As plantas foram irrigadas para manter 60 % da capacidade de retenção de água. A inoculação do patógeno *S. sclerotiorum* foi realizada com discos da cultura de 5 mm x 5 mm aplicados nas folhas das plantas com 10 dias de idade.

**Tabela 1:** Tratamentos utilizados para avaliação do potencial antagônico de bactérias endofíticas da seringueira a *S. sclerotiorum* em feijoeiro comum.

Tratamentos	Descrição
1	SS
2	SS + Patógeno
3	SB
4	SB + Patógeno

SS – Sementes de feijão comum imersas em solução salina 0,85 % durante 10', SB – Sementes de feijoeiro comum imersas em suspensão bacteriana durante 10'.

A severidade da doença foi avaliada 4 dias após a inoculação do patógeno em duas folhas por planta, pela quantificação da área foliar lesionada por meio do programa Quant V.1.0 (Vale *et al.*, 2001) e expressa em percentagem de área lesionada.

## 2.5. Identificação da presença de genes que codificam lipopeptídeos

Reações de PCR foram realizadas com *primers* específicos para os genes de surfactina, iturina A, fengicina e bacilamicina A descritos na Tabela S3. Os produtos da PCR foram submetidos a eletroforese em gel de agarose a 1,5 % e o resultado registrado em fotodocumentador.

## 2.6. Avaliação *in vitro* da presença dos mecanismos de promoção de crescimento

### 2.6.1. Solubilização de fosfato

As bactérias foram cultivadas por 7 dias a 28 °C em placas contendo meio NBRIP (Nautiyal, 1999). Passado o período de incubação, as colônias de bactérias que formaram halo foram consideradas solubilizadoras de fosfato.

### **2.6.2. Fixação de nitrogênio**

A identificação de bactérias fixadoras de nitrogênio foi realizada em tubos de ensaio contendo meio FNB (Dobereiner, 1995). Foi feita a inoculação das bactérias pelo método de picagem e incubação por 7 dias a 28 °C. Após esse período, as colônias que formaram halo na superfície do meio e modificaram a cor do meio FNB para azul foram consideradas fixadoras de nitrogênio.

### **2.6.3. Produção de ácido indol-3-acético (AIA)**

As bactérias foram cultivadas em meio 1/10 TSA sem L-triptofano e após 24 h foram transferidas para placas contendo meio 1/10 TSA enriquecido com 5 mM de L-triptofano coberto por membrana de nitrocelulose e incubadas a 28 °C por 24 h. Após a incubação, as membranas foram removidas e saturadas com solução de Salkowski e incubadas à temperatura ambiente. Os isolados que formaram halo avermelhado na membrana entre 0,5 - 2 h foram considerados produtores de AIA (Cattelan, 1999).

### **2.6.4. Produção de sideróforos**

A produção de sideróforos foi avaliada segundo Caballero-Mellado *et al.* (2007) com modificações. As bactérias foram cultivadas em 50 mL de meio Casaminoácidos (CAA) líquido a 28 °C por 5 dias sob agitação contínua de 150 rpm. Após esse período, microgotas de 10 µl da cultura de células foram depositadas em meio CAA sólido acrescido de ¼ da solução CAS (cromo azurol S). Em seguida, as placas foram incubadas a 28 °C por 5 dias. Os isolados que converteram a cor azul da solução CAS para amarelo foram considerados produtores de sideróforos.

## **2.7. Avaliação da promoção de crescimento vegetal em mudas de feijoeiro comum**

Sementes de feijão foram desinfestadas e imersas nas soluções SS e SB conforme descrito no item 2.4, assim como, a seleção das plântulas que foram utilizadas para o experimento. A avaliação foi conduzida no período de agosto a setembro em delineamento inteiramente casualizado composto por 9 plantas por

bactéria. O controle foi composto por plântulas que foram imersas na solução SS e os tratamentos pelas plântulas que foram imersas na solução SB. As plântulas foram semeadas em vasos de 3 Kg contendo substrato Topstrato<sup>®</sup> e irrigadas para manter 60 % da capacidade da retenção de água.

Após 45 dias as plantas foram avaliadas quanto a altura da parte aérea, comprimento da raiz, número de folhas, massa fresca e massa seca. As medições foram realizadas com auxílio de régua. A altura da parte aérea foi medida a partir da base do caule. O peso foi medido com auxílio de balança de precisão, a parte aérea e a raiz foram cortadas em pedaços menores e pesados. Em seguida, para o peso da massa seca, a parte aérea e a raiz foram colocadas em sacos de papel e mantidos em estufa para secagem a 60 °C e pesados até atingirem peso constante.

## **2.8. Análise de dados**

Os testes do potencial antagônico e mecanismos de promoção de crescimento foram realizados três vezes com três repetições. Os valores foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott com 5 % de significância. As análises dos dados foram realizadas no programa R version 4.1.1 (2021-08-10) usando as bibliotecas base (R Core Team 2021) e os gráficos foram realizados utilizando a biblioteca ggplot2 v. 3.3.5 (Wickham, 2009).

### 3. Resultados

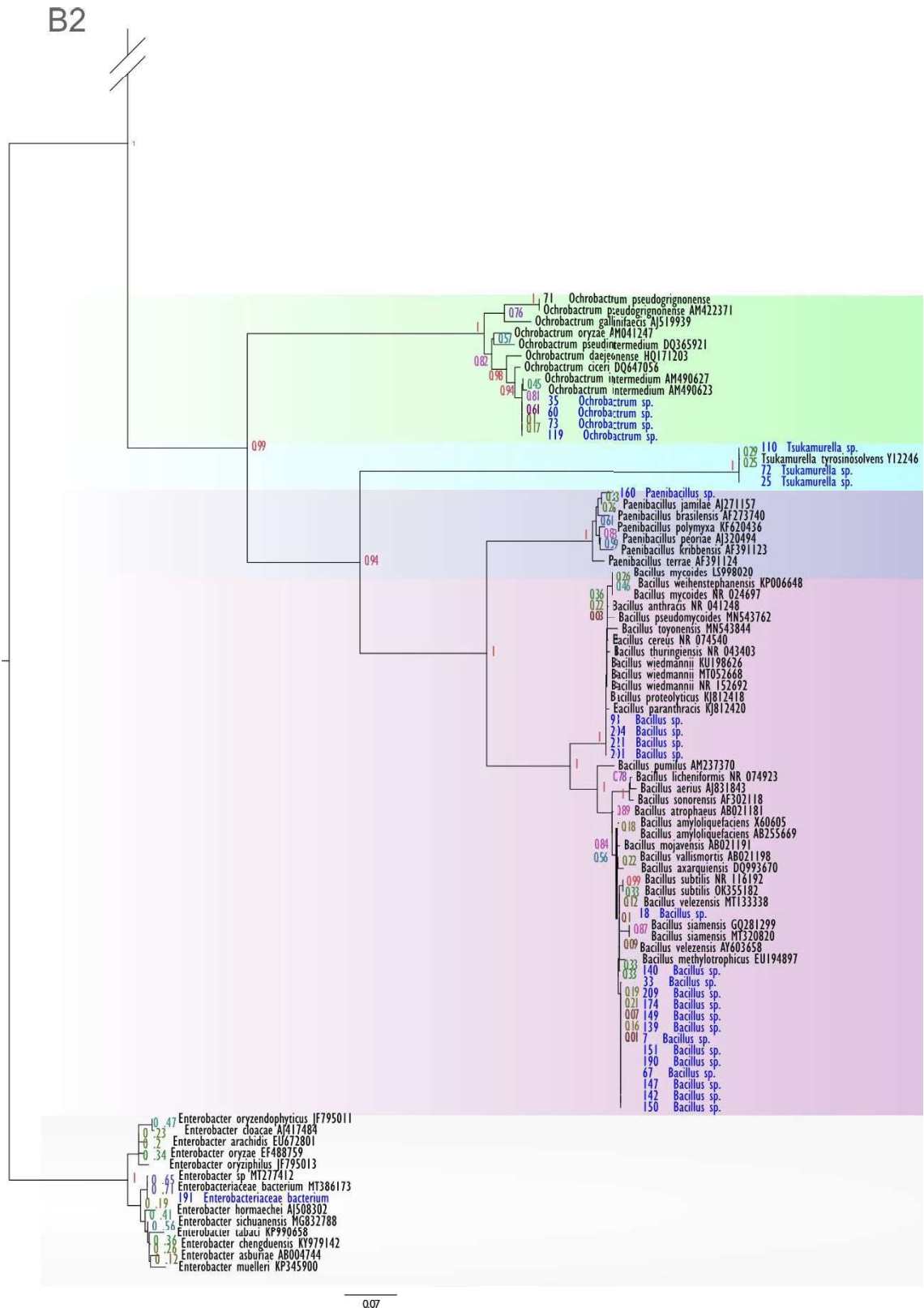
#### 3.1. Identificação molecular das bactérias endofíticas de seringueira

O total de 84 bactérias de caule, folhas e raízes de seringueiras do estado do Amazonas e Acre foram isoladas (Tabela S1). Destas, 57 tiveram o gênero identificado com base na sequência da região 16S do rDNA. Na análise pode ser observado a formação de oito *clusters* (Figura 1A), nos quais a maioria das bactérias foram identificadas como membros dos gêneros *Achromobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Ochrobactrum* e *Stenotrophomonas*, e em menor frequência identificou-se os gêneros *Enterobacter*, *Paenibacillus* e *Tsukamurella* (Figura 1A, B1 e B2).

Resultados obtidos a partir da análise filogenética da sequência da região 16S das espécies tipo e isolados de seringueira (Figura 1A, B1 e B2), indicou que 6 isolados (240B8F-AM, 52B14F-AC, 234B22C-AM, 112B20F-AM, 246B28F-AM e 43B20F-AM) estão proxicamente relacionados com alto suporte de *bootstrap* (100 %) com o isolado tipo de *Achromobacter spanius* (Figura 1A e B1). Em *Burkholderia*, os isolados 36B19R-AC e 89B7R-AC estão proxicamente relacionado com *B. metallica* e outros 4 isolados oriundos das raízes (8B9R-AC, 13B9R-AC e 180B1R-AC) e do caule (153B23C-AC) de seringueiras do Acre formaram um clado independente filogeneticamente relacionado com *B. lata* e *B. paludis*, que fazem parte do complexo *B. cepacia* (Bcc) (Figura 1A e B1). Todos os 17 isolados que pertencem ao gênero *Stenotrophomonas* são possíveis novas espécies (Figura 1A e B1). No clado pertencente ao gênero *Bacillus*, alguns isolados estão filogeneticamente relacionados com *B. proteolyticus* (93B10F-AM, 204B16R-AC, 221B29F-AM e 201B16R-AM) e *B. velezensis* (18B22C-AM), já outros isolados formaram um clado mais próximo de *B. methylotrophicus* (Figura 1A e B2). O isolado 71B14F-AC está mais relacionado com *Ochrobactrum pseudogrignonense* (*bootstrap* 100 %) e outros 4 isolados formaram um clado independente que se relaciona com *O. intermedium*. e três isolados (25B20F-AC, 72B28F-AM e 110B18F-AM) estão mais proxicamente relacionados com *Tsukamurella tyrosinosolvans*. Somente um isolado (191B22R-AC) agrupou com *Enterobacteriaceae bacterium* e um isolado (160B22R-AC) com o gênero *Paenibacillus*, mais próximo a *P. jamilae*. (Figura 1A e B2).







**Figura 1. A.** Árvore filogenética modelo Neighbor-Joining (NJ) baseada na comparação das sequências do gene 16S rDNA mostrando a posição das bactérias endofíticas de seringueiras da floresta Amazônica (fonte de cor azul) em relação as espécies de isolados tipos de bactérias pertencentes aos gêneros *Achromobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Ochrobactrum*, *Stenotrophomonas*, *Paenibacillus*, *Tsukamurella* e *Enterobacter*. A árvore foi enraizada com membros da família Enterobacteriaceae. Números dos nodos indicam percentagem de

ocorrência em 1000 *bootstrap*. **B1** e **B2** é a segregação da árvore A para facilitar a visualização dos clados e da identificação das bactérias.

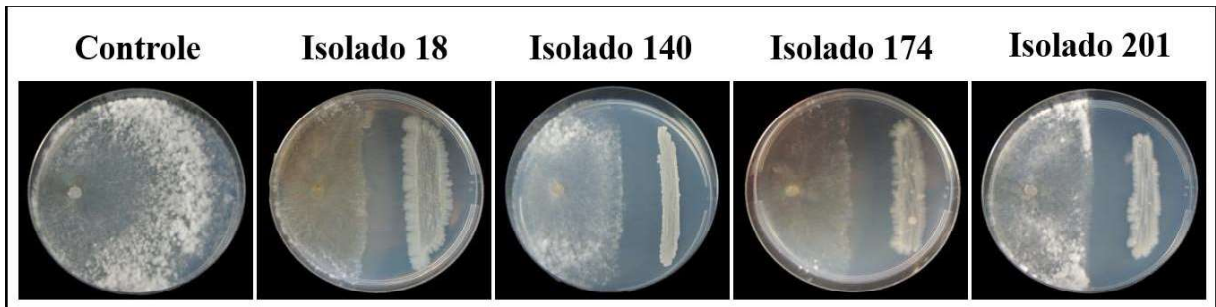
### **3.2. Avaliação do potencial antagonico *in vitro***

#### **3.2.1. Difusão de metabólitos em meio de cultura**

A atividade antagonica das bactérias foi avaliada em ensaio de cultura pareada. Dentre as 28 bactérias testadas (Figura S2), 4 (18B22C-AM – *Bacillus* sp, 140B5F-AM – *Bacillus* sp., 174B28R-AM – *Bacillus* sp., 201B16R-AC – *Bacillus* sp) reduziram mais de 50 % o crescimento do *S. sclerotiorum* (Tabela 2; Figura 2). Desta forma, estas quatro bactérias mais promissoras foram selecionadas para os próximos testes *in vitro* e *in planta*.

**Tabela 2.** Avaliação da inibição do crescimento (IC) de *S. sclerotiorum* por bactérias endofíticas da seringueira.

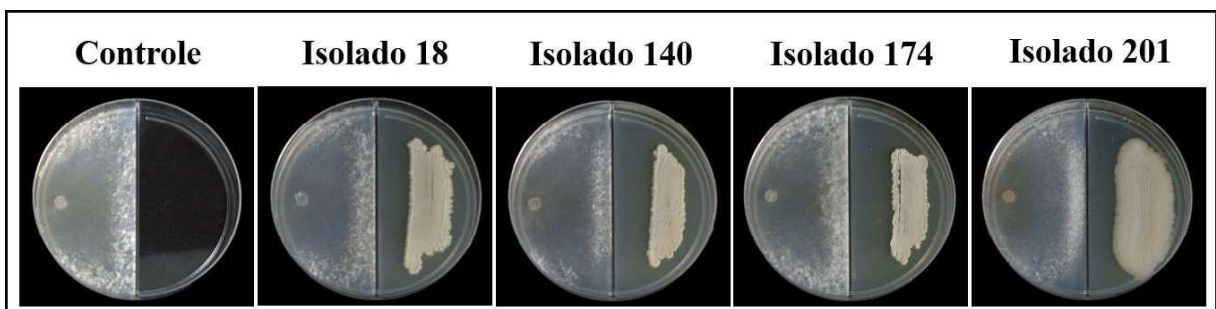
Média do IC	
Isolados	S.s
3	9
18	59
20	6,1
25	25
34	8,6
35	13,52
43	18,17
52	23,65
60	12,05
64	9,54
72	12,86
73	22
87	24,65
92	41
102	19,95
117	12,51
120	32,9
129	13,33
140	55,1
160	37,77
162	34
174	66,61
192	10,57
201	52,32
204	27,36
210	10,77
221	27,92
234	21,7



**Figura 2.** Antagonismo de bactérias endofíticas de seringueira pertencentes ao gênero *Bacillus* (Figura 1 e Tabela S2) a *S. sclerotiorum*.

### 3.2.2. Produção de compostos voláteis

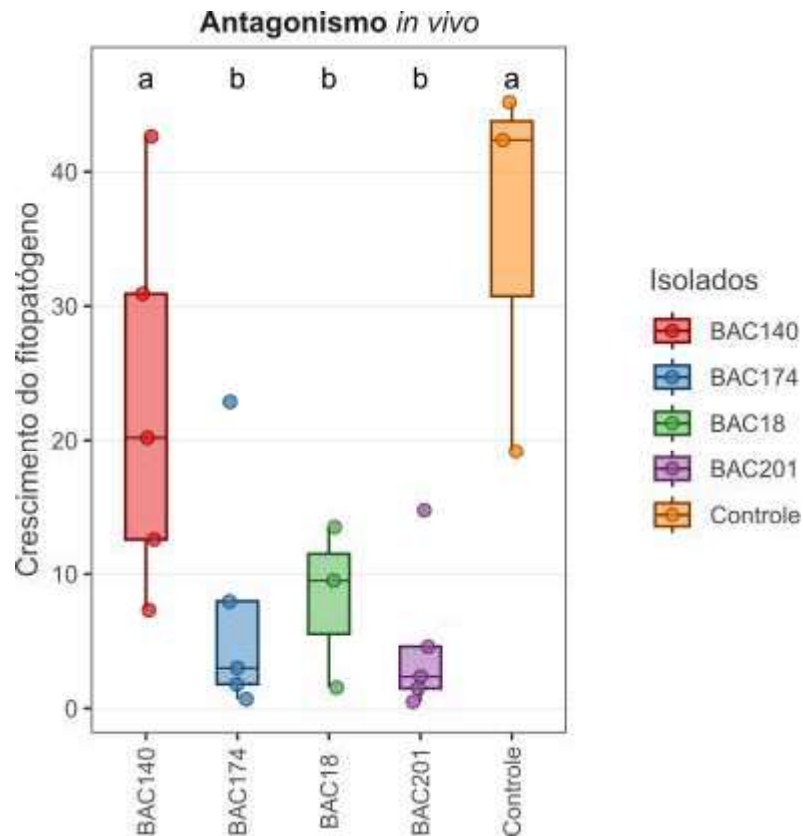
Nenhum dos isolados produziu compostos voláteis capazes de inibir o crescimento do *S. sclerotiorum* nas condições testadas (Figura 3).



**Figura 3.** Avaliação da produção de compostos voláteis por bactérias endofíticas de seringueira pertencentes ao gênero *Bacillus* (Figura 1 e Tabela S2) capazes de inibir *S. sclerotiorum*.

### 3.3. Avaliação do potencial antagônico de *Bacillus* spp. endofíticos da seringueira a *S. sclerotiorum* em feijoeiro comum

A atividade antagônica das bactérias foi avaliada em ensaio *in vivo* em feijoeiro comum mantido em temperatura controlada de 25 °C. As bactérias do gênero *Bacillus* (18B22C-AM, 174B28R-AM e 201B16R-AC) foram significativamente eficientes no controle do mofo branco no feijoeiro nas condições avaliadas (Figura 4; Figura S3).



**Figura 4.** Atividade antagônica de *Bacillus* spp. endofíticos da seringueira a *S. sclerotiorum* em feijoeiro comum. As bactérias 18B22C-AM (*B. velezensis*), 174B28R-AM (*Bacillus* sp.) e 201B16R-AC (*B. proteolyticus*) apresentaram efeitos significativos para a redução do mofo branco no feijoeiro comum. Tratamentos anotados com a mesma letra não apresentam diferença estatística pela análise de variância seguida pelo teste de Scott-Knott, ambos ao nível de 0.05 de probabilidade.

### 3.4. Identificação da presença de genes que codificam lipopeptídeos

Todos os isolados analisados apresentam pelo menos um dos genes pesquisados. O isolado 18 (18B22C-AM – *Bacillus* sp.) contém os genes que codificam para surfactina (srfAA), iturina A e bacilomicina A. O isolado 140 (140B5F-AM – *Bacillus* sp.) apresenta somente o gene para surfactina (srfAA) e o isolado 174 (174B28R-AM – *Bacillus* sp.) para o gene de surfactina (sfp). Já o isolado 201 apresenta o gene para a surfactina (srfAA) e o gene para a fengicina (Figura S4).

### 3.5. Avaliação dos mecanismos de promoção de crescimento *in vitro*

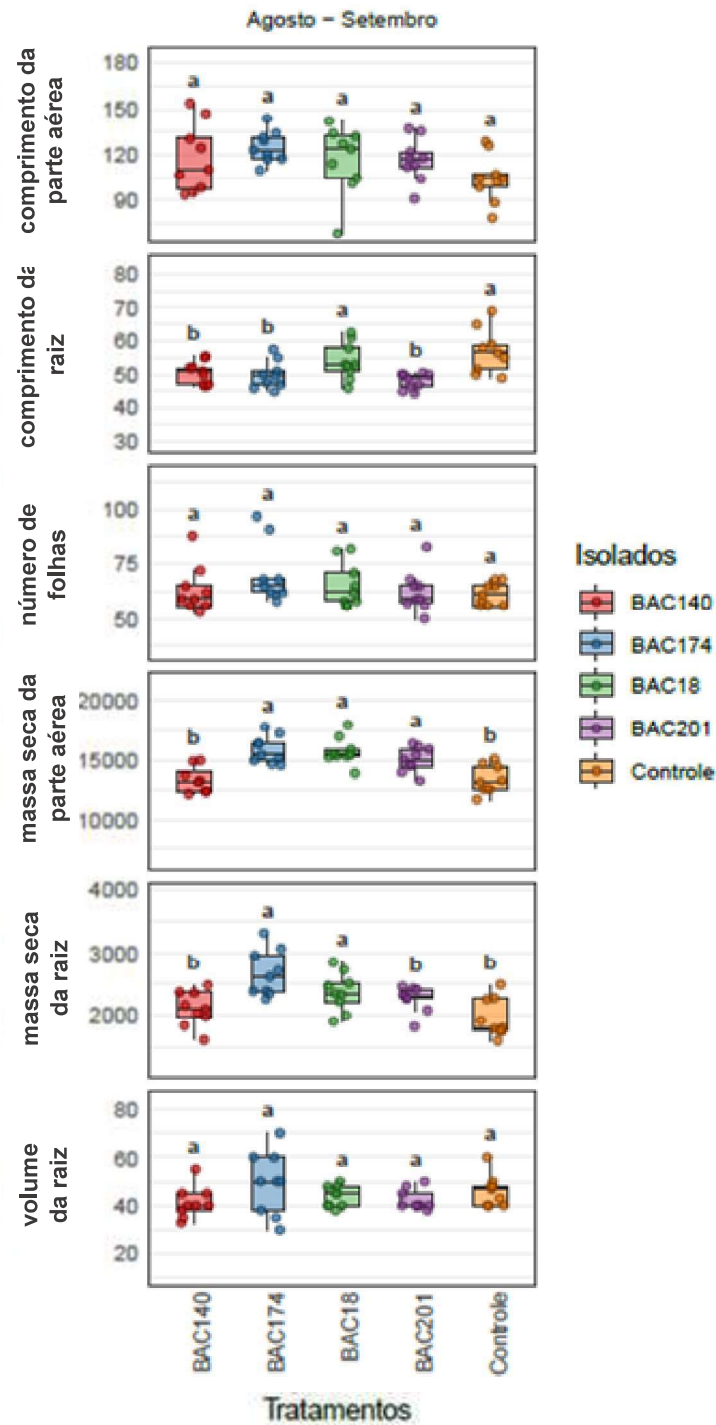
As bactérias avaliadas não solubilizaram fósforo e não produziram AIA nas condições testadas. Todas, exceto a bactéria 201 (201B16R-AC – *B. proteolyticus*)

apresentaram resultado positivo para fixação de nitrogênio biológico e somente as bactérias 140 (140B5F-AM – *Bacillus* sp.) e 174 (174B28R-AM – *Bacillus* sp.) produziram sideróforos (Figura S5).

### **3.6. Avaliação da promoção de crescimento vegetal *in vivo***

A massa seca das raízes do feijoeiro apresentou diferenças significativas quando tratadas com as bactérias 140 (140B5F-AM – *Bacillus* sp.), 174 (174B28R-AM – *Bacillus* sp.), 18 (18B22C-AM – *Bacillus* sp.) e 201 (201B16R-AC – *Bacillus* sp.), respectivamente, no experimento realizado entre fevereiro e março (Figura 5). Já no experimento realizado no período entre agosto e setembro, as mudas do feijoeiro apresentaram resultados significativos em relação ao controle com as suas sementes tratadas com as bactérias 174 (174B28R-AM – *Bacillus* sp.) e 18 (18B22C-AM – *Bacillus* sp.). Ainda em relação as variáveis relacionadas as raízes, não foram obtidos resultados significativos quanto ao comprimento e volume das raízes em nenhum dos períodos avaliados (Figura 5).

Em relação a parte aérea, as plantas cujas sementes foram tratadas com as bactérias 174 (174B28R-AM – *Bacillus* sp.), 18 (18B22C-AM – *Bacillus* sp.) e 201 (201B16R-AC – *Bacillus* sp.) no momento do plantio, no período de agosto a setembro, apresentaram valores de massa seca da parte aérea significativamente diferentes em relação as plantas cujas sementes não foram inoculadas por bactérias ou tratadas com a bactéria 140 (140B5F-AM – *Bacillus* sp.) (Figura 5). As plantas tratadas com as bactérias não apresentaram resultados significativos em relação ao comprimento da parte aérea e o número de folhas. Ainda em relação a parte aérea, não foi evidenciado resultados significativos em nenhuma das variáveis analisadas durante o período de fevereiro a março (Figura 5).



**Figura 5.** Atividade de promoção de crescimento do feijoeiro comum quando tratado com *Bacillus* spp. endofíticos da seringueira. Tratamentos anotados com a mesma letra não apresentam diferença estatística pela análise de variância seguida pelo teste de Scott-Knott, ambos ao nível de 0.05 de probabilidade.

#### 4. Discussão

Durante o isolamento de fungos endofíticos de seringueiras da floresta amazônica brasileira realizado por Araújo *et al.* (2018; 2020), em meio de cultura com a presença de dois antibióticos (estreptomicina e tetraciclina), foi observado o crescimento de bactérias endofíticas resistentes a esses antibióticos. Neste estudo, essas bactérias endofíticas foram identificadas com base na sequência do rDNA/rRNA 16S e analisadas quanto à capacidade de controle do fitopatógeno *S. sclerotiorum* e de promoção do crescimento do feijoeiro comum.

As bactérias endofíticas analisadas pertencem aos gêneros *Achromobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Ochrobactrum*, *Paenibacillus*, *Stenotrophomonas* e *Tsukamurella* (Figura 1 A, B1 e B2). Porém, para confirmação mais segura de uma espécie bacteriana é necessária a caracterização fenotípica e molecular adicional, visto que alguns isolados identificados como *Burkholderia* sp., *Bacillus* sp., *Stenotrophomonas* sp. e *Ochrobactrum* sp. podem ser espécies novas e a identificação da região 16S não permite chegar a nível de espécie devido à baixa resolução.

Os isolados 43 (43B20F\_AM), 52 (52B14F\_AC), 112 (112B20F\_AM), 234 (234B22C\_AM), 240 (240B8F\_AM), 246 (246B28F\_AM) agruparam com *A. spanius* (Figura 1A, B1 e B2), espécie também isolada de ambientes hospitalares (Nath *et al.*, 2020), bem como de solos (Thulasi *et al.*, 2018) e plantas (El-Gamal *et al.*, 2018).

As espécies *B. lata*, *B. paludis* e *B. metallica*, as quais alguns dos isolados do presente estudo estão filogeneticamente relacionadas, já foram descritas com atividades benéficas, como degradação de hidrocarboneto (Muccee *et al.*, 2021), potencial para promoção de crescimento vegetal (Da Silva *et al.*, 2012; Laha *et al.*, 2021; Riera *et al.*, 2017), produção de pioquelina (sideróforo) potencialmente eficaz no tratamento de infecções causadas por bactérias resistentes a antimicrobianos (ARB) (Ong *et al.*, 2016; 2017) e antagônicos a patógenos bacterianos (Riera *et al.*, 2018) e fúngicos (Barrera-Galicia *et al.*, 2021).

*Ochrobactrum pseudogrignonense*, espécie a qual o isolado 71 (71B14F-AC) está mais relacionado, é uma espécie descrita como tolerante a cobre sendo capaz de degradar o corante catiônico trifenilmetano Verde Malaquita (MG) considerado tóxico para organismos aquáticos e animais, incluindo humanos (Chaturvedi e Verma, 2015). Um isolado *O. pseudogrignonense* obtido da rizosfera de *Imperata cylindrica*

também foi descrito como promotor de crescimento de trigo em condições de estresse salino (Chakraborty *et al.*, 2019) e outro isolado da rizosfera de plantas de milho, foi capaz de solubilizar fosfato de rocha como bioestimulante importante no crescimento do milho (Silva *et al.*, 2021).

Outros quatro isolados, 35 (35B17F\_AC), 60 (60B28F\_AM), 73 (73B29C\_AM) e 119 (119B29C\_AM) se relacionaram com *O. intermedium*, espécie descrita como biorremediadora com potencial de aplicação no tratamento de lodo de petróleo capaz de degradar diferentes hidrocarbonetos (Bezza *et al.*, 2015). *O. intermedium* isolado de solos de áreas industriais também mostram potencial na remoção de poluentes metálicos (Sharma e Shukla, 2021).

O isolado 191 (191B22R-AC) foi identificado como da família *Enterobacteriaceae* e uma espécie do gênero *Enterobacter* já foi descrita como potencial promotora de crescimento vegetal, fixadoras de nitrogênio e solubilizadora de fosfato inorgânico (Hardoim *et al.*, 2013). O gênero *Tsukamurella* também já foi descrito como endofítico por Salam *et al.* (2017) que isolaram de *Dracaena cochinchinensis* (Lour.).

Somente um dos isolados, 160 (160B22R-AC), foi identificado como *Paenibacillus* sp., gênero já descrito como endofítico de diferentes hospedeiros e com potencial ação no controle biológico (Khan *et al.*, 2020a; Serrano *et al.*, 2021) e na promoção de crescimento vegetal (Bettencourt *et al.*, 2021; Khan *et al.*, 2020a). É possível que todos os 17 isolados que agruparam ao gênero *Stenotrophomonas* sejam novas espécies, visto que até o momento apenas 19 espécies foram identificadas e publicadas validamente (<https://lpsn.dsmz.de/genus/stenotrophomonas>). Outros trabalhos já relataram o isolamento de *Stenotrophomonas* endofíticas em diferentes culturas (Chen *et al.*, 2020; Egamberdieva *et al.*, 2021; Mitter *et al.*, 2019; Ulrich *et al.*, 2021; Zhu *et al.*, 2016).

Assim, como exemplificado nos parágrafos acima, as bactérias endofíticas de seringueiras nativas da floresta Amazônica brasileira identificadas podem apresentar funções biotecnológicas promissoras a serem exploradas em estudos futuros em diferentes contextos: agrícola, ambiental e para a saúde animal e humana. Como descrito acima, neste estudo foram avaliados os isolados pertencentes ao gênero *Bacillus* quanto ao controle do fitopatógeno *S. sclerotiorum* e a promoção de crescimento do feijoeiro comum.

Os isolados 18 (18B22C-AM - *Bacillus* sp.), 174 (174B28R-AM - *Bacillus* sp.) e 201 (201B16R-AC - *Bacillus* sp.) foram eficientes no controle de *S. sclerotiorum* no teste *in vitro* (cultura pareada). Esse resultado vai de acordo com o trabalho de Lopes *et al.* (2018), em que foram identificados isolados endofíticos com potencial de antagonismo contra *S. sclerotiorum*, incluindo isolados de *Bacillus*, que teve atividade antagônica alta, entretanto, esse antagonismo não foi analisado em plantas. Porém nossos isolados foram testados *in vivo* e foram eficientes no controle de *S. sclerotiorum*, assim como encontrado por Sabaté *et al.* (2018), em isolados de *Bacillus* spp. B19 e P12 e *B. amyloliquefaciens* B14, isoladas de solo, reduziram significativamente o mofo branco em feijoeiro.

Outros isolados de *Bacillus* também foram descritos como antagonistas a *S. sclerotiorum*, como *B. altitudinis* MS16 (Goswami e Deka, 2020) e *B. amyloliquefaciens* EZ1509 (Farzand *et al.*, 2020). Além disso, a linhagem EZ1509 produziu lipopeptídeos, surfactina, iturina e fengicina, assim como nossos isolados em que também foram encontradas regiões de codificação para surfactina, iturina A, fengicina e bacilomicina A, para o isolado 18; surfactina para o isolado 174 e o isolado 201 apresentou genes para surfactina, fengicina e bacilomicina A. Os resultados do presente estudo corroboram o estudo realizado por Alvarez *et al.* (2011), em que foram identificadas regiões de codificação de lipopeptídeos como surfactina, fengicina A e fengicina B em *B. amyloliquefaciens* cepa ARP23 e iturina A na cepa MEP218, os quais foram eficientes na inibição do crescimento de *S. sclerotiorum*.

Uma das formas das bactérias endofíticas promoverem o crescimento vegetal é facilitar a aquisição de recursos do meio em que se encontra, como nitrogênio, fósforo e ferro. As bactérias endofíticas 18 (18B22C-AM – *Bacillus* sp.), 140 (140B5F-AM – *Bacillus* sp.) e 174 (174B28R-AM – *Bacillus* sp.) foram capazes de fixação biológica de N, um dos elementos essenciais na nutrição das plantas e que geralmente se encontra em baixa biodisponibilidade no solo (Masclaux-Daubresse *et al.*, 2010). Os resultados do presente estudo estão de acordo com trabalhos anteriores que demonstraram a atividade diazotrófica de *Bacillus* endofíticos de outras plantas (Khan *et al.*, 2020b, 2020c).

As bactérias 140 e 174 nas condições testadas produziram sideróforos, compostos quelantes de metal de baixo peso molecular, assim há aumento na absorção de ferro e remediação de metais pesados (Saxena *et al.*, 2019). Diferentes espécies endofíticas de *Bacillus* foram descritas como produtoras de sideróforos

(Khan *et al.*, 2020b; Kushwaha *et al.*, 2020). Mas até o momento do relato desse estudo não houve qualquer trabalho que descrevesse *B. proteolyticus* e *B. methylotrophicus* como fixadoras de N e/ou produtoras de sideróforos, espécies as quais nossos isolados 201 e 140, respectivamente se relacionaram filogeneticamente.

Na avaliação *in vivo* de promoção de crescimento vegetal, as mudas do feijoeiro apresentaram valores de massa seca da raiz representativos quando as suas sementes foram tratadas com as bactérias 18 (18B22C-AM – *Bacillus* sp.) e 174 (174B28R-AM – *Bacillus* sp.). Ainda em relação as variáveis relacionadas as raízes, embora não tenham apresentado resultados significativos quanto ao comprimento e volume das raízes no período avaliado, é provável que as bactérias tenham atuado no desenvolvimento das raízes secundárias, o que garantiu que as plantas adquirissem a massa seca das raízes significativamente maiores que as plantas cujas sementes não foram tratadas pelas bactérias.

Em relação a parte aérea, as plantas cujas sementes foram tratadas com as bactérias 18 (18B22C-AM – *Bacillus* sp.), 174 (174B28R-AM – *Bacillus* sp.) e 201 (201B16R-AC – *Bacillus* sp.), apresentaram valores de massa seca da parte aérea significativamente maiores em relação ao controle. Embora, as plantas tratadas com as bactérias não tenham obtido resultados significativos em relação ao comprimento da parte aérea e o número de folhas, o resultado expressivo quanto a massa seca da parte aérea evidencia que as bactérias do gênero *Bacillus* (18, 174 e 201) possam ter favorecido o desenvolvimento da parte aérea do feijoeiro em relação ao diâmetro, bem como, com tendência ao maior investimento energético da planta em relação ao desenvolvimento de órgãos reprodutores e sementes (grãos) de feijão. Sendo assim, são necessárias avaliações em tempos maiores, de acordo com o ciclo da cultura.

Os resultados obtidos no presente estudo estão de acordo com o encontrado por Ferreira *et al.* (2018), em que bactérias isoladas de nódulos do feijoeiro, como alguns representantes do gênero *Bacillus* promoveram ganho de massa seca às raízes de feijão e à massa seca da parte aérea. Em relação ao número de folhas, não houve diferença dos tratamentos em relação ao controle, assim como visto por Ismail *et al.* (2021) em que foi avaliado o efeito dos extratos de endofíticos no crescimento também de *P. vulgaris*.

As diferenças significativas no antagonismo contra *S. sclerotiorum* e características/mecanismos para promoção de crescimento do feijoeiro e resultados de ganhos quanto a matéria seca das raízes e, nas condições de temperatura e

umidade de agosto a setembro, da parte aérea das plantas, as mesmas são potenciais ferramentas a serem utilizadas como alternativa para o controle biológico do mofo-branco e melhoramento da produção de feijão.

No entanto, fazem-se necessárias avaliações quanto a eficiência da inoculação dessas bactérias via plântulas no momento do plantio para a obtenção de maior produtividade, bem como avaliação dessas bactérias inoculadas nas plantas no campo, em diferentes condições edafoclimáticas em meio a concorrência do microbioma nativo e a longo prazo.

## 5. Referências

- ABRAHAM, A.; PHILIP, S.; JACOB, C. K.; JAYACHANDRAN, K. Novel bacterial endophytes from *Hevea brasiliensis* as biocontrol agent against *Phytophthora* leaf fall disease. **BioControl**, v. 58, n. 5, p. 675–684, 2013.
- ABRAHAM, A.; PHILIP, S.; JACOB, M. K.; NARAYANAN, S. P.; JACOB, C. K.; KOCHUPURACKAL, J. Phenazine-1-carboxylic acid mediated anti-oomycete activity of the endophytic *Alcaligenes* sp. EIL-2 against *Phytophthora meadii*. **Microbiological Research**, v. 170, p. 229–234, 2015.
- ABRAHAM, A.; PHILIP, S.; NARAYANAN, S. P.; JACOB, C. K.; SINDHU, R.; PANDEY, A.; SANG, B. I.; JAYACHANDRAN, K. Induction of systemic acquired resistance in *Hevea brasiliensis* (Willd. ex A.Juss.) Müll.Arg. by an endophytic bacterium antagonistic to *Phytophthora meadii* McRae. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 57, p. 796–805, 2019.
- ADELEKE, B. S.; BABALOLA, O. O.; GLICK, B. R. Plant growth-promoting root-colonizing bacterial endophytes. **Rhizosphere**, v. 20, 2021.
- AFZAL, I.; SHINWARI, Z. K.; SIKANDAR, S.; SHAHZAD, S. Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. **Microbiological Research**, v. 221, p. 36-49, 2019.
- ALKAHTANI, M. D. F. et al. Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic bacteria from desert plants and their application as bioinoculants for sustainable agriculture. **Agronomy**, v. 10, n. 9, p. 1–18, 2020.
- ALVAREZ, F.; CASTRO, M.; PRÍNCIPE, A.; BORIOLI, G.; FISCHER, S.; MORI, G.; JOFRÉ, E. The plant-associated *Bacillus amyloliquefaciens* strains MEP 218 and ARP 23 capable of producing the cyclic lipopeptides iturin or surfactin and fengycin are effective in biocontrol of sclerotinia stem rot disease. **Journal of Applied Microbiology**, v. 112, n. 1, p. 159–174, 2011.
- ARAÚJO, K. S.; BRITO, V. N.; VELOSO, T. G. R.; LEITE, T. S.; PEREIRA, O. L.; MIZUBUTI, E. S. G.; QUEIROZ, M. V. Diversity of culturable endophytic fungi of *Hevea guianensis*: A latex producer native tree from the Brazilian Amazon. **African Journal of Microbiology Research**, v. 12, n. 42, p. 953–964, 2018.
- ARAÚJO, K. S.; BRITO, V. N.; VELOSO, T. G. R.; LEITE, T. S.; ALVES, J. L.; JUNIOR, B. T. H.; MORENO, H. L. A.; PEREIRA, O. L.; MIZUBUTI, E. S. G.; QUEIROZ, M. V. Diversity and distribution of endophytic fungi in different tissues of *Hevea brasiliensis* native to the Brazilian Amazon forest. **Mycological Progress**, v. 19, n. 10, p. 1057–1068, 2020.
- AZABOU, M. C.; GHARBI, Y.; MEDHIOUB, I.; ENNOURI, K.; BARHAM, H.; TOUNSI, S.; TRIKI, M. A. The endophytic strain *Bacillus velezensis* OEE1: An efficient biocontrol agent against *Verticillium* wilt of olive and a potential plant growth promoting bacteria. **Biological Control**, v. 142, 2020.
- BARRERA-GALICIA, G. C.; PENICHE-PAVÍA, H. A.; PEÑA-CABRIALES, J. J.; COVARRUBIAS, S. A.; VERA-NÚÑEZ, J. A.; DÉLANO-FRIER, J. P. Metabolic footprints of *Burkholderia sensu lato* rhizosphere bacteria active against maize *Fusarium* pathogens†. **Microorganisms**, v. 9, n. 10, p. 1–20, 2021.

- BAYSAL, Ö.; LAI, D.; XU, H. H.; SIRAGUSA, M.; ÇALIŞKAN, M.; CARIMI, F.; SILVA, J. A. T.; TÖR, M. A Proteomic Approach Provides New Insights into the Control of Soil-Borne Plant Pathogens by *Bacillus* Species. **PLoS ONE**, v. 8, n. 1, 2013.
- BETTENCOURT, G. M. F.; DEGENHARDT, J.; DOS SANTOS, G. D.; VICENTE, V. A.; SOCCOL, C. R. Metagenomic analyses, isolation and characterization of endophytic bacteria associated with *Eucalyptus urophylla* BRS07-01 *in vitro* plants. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 37, n. 10, p. 1–16, 2021.
- BEZZA, F. A.; BEUKES, M.; CHIRWA, E. M. N. Application of biosurfactant produced by *Ochrobactrum intermedium* CN3 for enhancing petroleum sludge bioremediation. **Process Biochemistry**, v. 50, n. 11, p. 1911–1922, 2015.
- BORAH, M. et al. Comparative assessment of multi-trait plant growth-promoting endophytes associated with cultivated and wild *Oryza* germplasm of Assam, India. **Archives of Microbiology**, v. 203, n. 5, p. 2007–2028, 2021.
- CABALLERO-MELLADO, J.; ONOFRE-LEMUS, J.; ESTRADA-DE LOS SANTOS, P.; MARTÍNEZ-AGUILAR, L. The tomato rhizosphere, an environment rich in nitrogen-fixing *Burkholderia* species with capabilities of interest for agriculture and bioremediation. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 16, p. 5308–5319, 2007.
- CATTELAN, A. J. Métodos quantitativos para determinação de características bioquímicas e fisiológicas associadas com bactérias promotoras do crescimento vegetal. – Londrina: EMBRAPA SOJA, 1999. 36p.
- CHAKRABORTY, U.; CHAKRABORTY, B. N.; DEY, P. L.; CHAKRABORTY, A. P.; SARKAR, J. Biochemical responses of wheat plants primed with *Ochrobactrum pseudogrignonense* and subjected to salinity stress. **Agricultural Research**, v. 8, n. 4, p. 427–440, 2019.
- CHATURVEDI, V.; VERMA, P. Biodegradation of malachite green by a novel copper-tolerant *Ochrobactrum pseudogrignonense* strain GGUPV1 isolated from copper mine waste water. **Bioresources and Bioprocessing**, v. 2, n. 1, 2015.
- CHEBOTAR, V. K., MALFANOVA, N. VSHCHERBAKOV, A.V.; AHTEMOVA, G. A.; BORISOV, A. Y.; LUGTENBERG, B.; TIKHONOVICH, I. A. Endophytic bacteria in microbial preparations that improve plant development (review). **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 51, n. 3, p. 271–277, 2015.
- CHEN, J.; LI, N.; HAN, S.; SUN, Y.; WANG, L.; QU, Z.; DAI, M.; ZHAO, G. Characterization and bioremediation potential of nickel-resistant endophytic bacteria isolated from the wetland plant *Tamarix chinensis*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 367, n. 12, p. 1–7, 2020.
- CHERNOV, T. I.; SEMENOV, M. V. Management of Soil Microbial Communities: Opportunities and Prospects (a Review). **Eurasian Soil Science**, v. 54, n. 12, p. 1888–1902, 2021.
- CUEVA-YESQUÉN, L. G. et al. Multiple Plant Growth-Promotion Traits in Endophytic Bacteria Retrieved in the Vegetative Stage From Passionflower. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, 2021.

COMPANT, S.; DUFFY, B.; NOWAK, J.; CLÉMENT, C.; BARKA, E. A. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: Principles, mechanisms of action, and future prospects. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 9, p. 4951–4959, 2005.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Boletim de Monitoramento Agrícola**, Brasília, DF, v. 10, n. 7, 2021.

DA SILVA, K.; CASSETARI, A. S.; LIMA, A. S.; DE BRANDT, E.; PINNOCKD, E.; VANDAMME, P.; MOREIRA, F. M. S. Diazotrophic *Burkholderia* species isolated from the Amazon region exhibit phenotypical, functional and genetic diversity. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 35, n. 4, p. 253–262, 2012.

DOBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas. - Brasília: EMBRAPA - SPI: Itaguaí, RJ: EMBRAPA-CNPAB, 1995. 60p.

EGAMBERDIEVA, D.; ALIMOV, J.; SHURIGIN, V.; ALAYLAR, B.; WIRTH, S.; BELLINGRATH-KIMURA, S. D. Diversity and plant growth-promoting ability of endophytic, halotolerant bacteria associated with *Tetragonia tetragonioides* (Pall.) Kuntze. **Plants**, v.11, n. 49, p. 1-13, 2022.

ELANCHEZHIAN, K.; KEERTHANA, U.; NAGENDRAN, K.; PRABHUKARTHIKEYAN, S.R.; PRABAKAR, K.; RAGUCHANDER, T.; KARTHIKEYAN, G. Multifaceted benefits of *Bacillus amyloliquefaciens* strain FBZ24 in the management of wilt disease in tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 103, p. 92–101, 2018.

EL-GAMAL, M. S.; EL-GHANDOUR, I. A.; ABDEL-AZIZ, O. A.; MOUSA, A. M.; RADWAN, A. A.; ABDEL-MOGHIES, A. H. *In vitro* study to recognize the optimum conditions affecting the endophytic cellulase production. **Journal of Nuclear Technology in Applied Science**, v. 6, n. 1, p. 1–12, 2018.

FARZAND, A.; MOOSA, A.; ZUBAIR, M.; KHAN, A. R.; AYAZ, M.; MASSAWE, V. C.; GAO. Transcriptional profiling of diffusible lipopeptides and fungal virulence genes during *Bacillus amyloliquefaciens* EZ1509-mediated suppression of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Phytopathology**, v. 110, n. 2, p. 317–326, 2020.

FERREIRA, L. V. M.; CARVALHO, F.; ANDRADE, J. F. C.; MOREIRA, F. M. S. Growth promotion of common bean and genetic diversity of bacteria from Amazon pastureland. **Scientia Agricola**, v. 75, n. 6, p. 461–469, 2018.

FERREIRA, L. V. M.; CARVALHO, F.; ANDRADE, J. F. C.; OLIVEIRA, D. P.; MEDEIROS, F. H. V.; MOREIRA, F. M. S. Co-inoculation of selected nodule endophytic rhizobacterial strains with *Rhizobium tropici* promotes plant growth and controls damping off in common bean. **Pedosphere**, v. 30, n. 1, p. 98–108, 2020.

FRANCHE, C.; LINDSTRÖM, K.; ELMERICH, C. Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants. **Plant and Soil**, v. 321, n. 1–2, p. 35–59, 2009.

GOSWAMI, M.; DEKA, S. Isolation of a novel rhizobacteria having multiple plant growth promoting traits and antifungal activity against certain phytopathogens. **Microbiological Research**, v. 240, p. 126516, 2020.

GÖTZE, S.; STALLFORTH, P. Structure elucidation of bacterial nonribosomal lipopeptides. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 18, p. 1710–1727, 2020.

GREBER, K. E.; ROCH, M.; ROSATO, M. A.; MARTINEZ, M. P.; ROSATO, A. E. Efficacy of newly generated short antimicrobial cationic lipopeptides against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 55, 2020.

HAWKINS, N. J.; BASS, C.; NEVE, P. The evolutionary origins of pesticide resistance. **Biological Reviews**, v. 94, p. 135-155, 2019.

HARDOIM, P. R.; NAZIR, R.; SESSITSCH, A.; ELHOTTOVÁ, D.; KORENBLUM, E.; VAN OVERBEEK, L. S.; VAN ELSAS, J. D. The new species *Enterobacter oryziphilus* sp. nov. and *Enterobacter oryzendophyticus* sp. nov. are key inhabitants of the endosphere of rice. **BMC Microbiology**, v. 13, n. 1, 2013.

HIDAYATI, U.; CHANIAGO, I. A.; MUNIF, A.; SISWANTO; SANTOSA, D. A. Potency of Plant Growth Promoting Endophytic Bacteria from Rubber Plants (*Hevea brasiliensis* Mull. Arg.). **Journal of Agronomy**, 2014.

HSIEH, F. C.; LI, M. C.; LIN, T. C.; KAO, S. S. Rapid detection and characterization of surfactin-producing *Bacillus subtilis* and closely related species based on PCR. **Current Microbiology**, v. 49, n. 3, p. 186–191, 2004.

ISMAIL, M. A.; AMIN, M. A.; EID, A. M.; HASSAN, S. E.; MAHGOUB, H. A. M.; LASHIN, I.; ABDELWAHAB, A. T.; AZAB, E.; GOBOURI, A. A.; ELKELISH, A.; FOUDA, A. Comparative study between exogenously applied plant growth hormones versus metabolites of microbial endophytes as plant growth-promoting for *Phaseolus vulgaris* L. **Cells**, v. 10, n. 5, p. 1–26, 2021.

JULIATTI, F. C.; FIGUEIRÓ, A. A.; GARCIA, R. Á.; DOS SANTOS, J. B.; MACHADO, J. C.; POZZA, E. A.; JUNIOR, M. L.; CIVARDI, E. A.; JÚNIOR, T. J. P.; VIEIRA, R. F.; LEHNER, M. S.; LIMA, R. C.; FILHO, D. S. J. *Sclerotinia sclerotiorum* e mofo branco: Estudos básicos e aplicados. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 23, p. 159–194, 2015.

KATOH, K.; HIROYUKI, T. 2008. Recent developments in the MAFFT multiple sequence alignment program. **Briefings in Bioinformatics**, 9: 286–298.

KHAN, M. S.; GAO, J.; ZHANG, M.; CHEN, X.; ZHANG, M.; YANG, F.; DU, Y.; MOE, T. S.; MUNIR, I.; XUE, J.; ZHANG, X. Isolation and characterization of plant growth-promoting endophytic bacteria *Paenibacillus polymyxa* SK1 from *Lilium lacifolium*. **BioMed Research International**, 2020a.

KHAN, M. S.; GAO, J.; CHEN, X.; ZHANG, M.; YANG, F.; DU, Y.; MOE, T. S.; MUNIR, I.; XUE, J.; ZHANG, X. The endophytic bacteria *Bacillus velezensis* Lle-9, isolated from *Lilium leucanthum*, harbors antifungal activity and plant growth-promoting effects. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 30, n. 5, p. 668–680, 2020b.

KHAN, M. S.; GAO, J.; ZHANG, M.; CHEN, X.; MOE, T. S.; DU, Y.; YANG, F.; XUE, J.; ZHANG, X. Isolation and characterization of plant growth-promoting endophytic bacteria *Bacillus stratosphericus* LW-03 from *Lilium wardii*. **3 Biotech**, v. 10, n. 7, p. 1–15, 2020c.

KHOTCHANALEKHA, K. et al. Isolation and selection of plant growth promoting

endophytic bacteria associated with healthy hevea brasiliensis for use as plant growth promoters in rubber seedlings under salinity stress. **Chiang Mai Journal of Science**, v. 47, n. 1, p. 39–48, 2020.

KOUMOUTSI, A.; SAKSIRIRAT, W.; NA AYUTTHAYA, S. I.; SAKAI, K.; TASHIRO, Y.; OKUGAWA, Y.; TONGPIM, S. Structural and Functional Characterization of Gene Clusters Directing Nonribosomal Synthesis of Bioactive Cyclic Lipopeptides in *Bacillus amyloliquefaciens* Strain FZB42. **Journal of Bacteriology**, v. 186, n. 4, p. 1084–1096, 2004.

KUKLINSKY-SOBRAL, J.; ARAÚJO, W. L.; MENDES, R.; GERALDI, I. O.; PIZZIRANI-KLEINER, A. A.; AZEVEDO, J. L. Isolation and characterization of soybean-associated bacteria and their potential for plant growth promotion. **Environmental Microbiology**, v. 6, n. 12, p. 1244–1251, 2004.

KUSHWAHA, P.; KASHYAP, P. L.; SRIVASTAVA, A. K.; TIWARI, R. K. Plant growth promoting and antifungal activity in endophytic *Bacillus* strains from pearl millet (*Pennisetum glaucum*). **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 51, n. 1, p. 229–241, 2020.

LAHA, A.; BHATTACHARYYA, S.; SENGUPTA, S.; BHATTACHARYYA, K.; GUHARROY, S. Investigation of arsenic-resistant, arsenite-oxidizing bacteria for plant growth promoting traits isolated from arsenic contaminated soils. **Archives of Microbiology**, v. 203, n. 7, p. 4677–4692, 2021.

LIU, H. et al. Inner plant values: Diversity, colonization and benefits from endophytic bacteria. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. DEC, p. 1–17, 2017.

LOPES, K. B. A.; CARPENTIERI-PIPOLO, V.; FIRA, D.; BALATTI, P. A.; LÓPEZ, S. M. Y.; ORO, T. H.; PAGLIOSA, E. S.; DEGRASSI, G. Screening of bacterial endophytes as potential biocontrol agents against soybean diseases. **Journal of Applied Microbiology**, v. 125, n. 5, p. 1466–1481, 2018.

MAKSIMOV, I. V.; SINGH, B. P.; CHEREPANOVA, E. A.; BURKHANOVA, G. F.; KHAIRULLIN, R. M. Prospects and applications of lipopeptide-producing bacteria for plant protection (Review). **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 56, n. 1, p. 15–28, 2020.

MARTINS, S. A.; SCHURT, D. A.; SEABRA, S. S.; MARTINS, S. J.; RAMALHO, M. A. P.; MOREIRA, F. M. S.; DA SILVA, J. C. P.; DA SILVA, J. A. G.; MEDEIROS, F. H. V. Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) growth promotion and biocontrol by rhizobacteria under *Rhizoctonia solani* suppressive and conducive soils. **Applied Soil Ecology**, v. 127, p. 129–135, 2018.

MASCLAUX-DAUBRESSE, C.; DANIEL-VEDELE, F.; DECHORGNAT, J.; CHARDON, F.; GAUFICHON, L.; SUZUKI, A. Nitrogen uptake, assimilation and remobilization in plants: Challenges for sustainable and productive agriculture. **Annals of Botany**, v. 105, n. 7, p. 1141–1157, 2010.

MITTER, E. K.; KATAOKA, R.; FREITAS, J. R.; GERMIDA, J. J. Potential use of endophytic root bacteria and host plants to degrade hydrocarbons. **International Journal of Phytoremediation**, v. 21, n. 9, p. 928–938, 2019.

MUCCEE, F.; EJAZ, S.; RIAZ, N.; IQBAL, J. Molecular and functional analysis of naphthalene-degrading bacteria isolated from the effluents of indigenous tanneries.

**Journal of Basic Microbiology**, v. 61, n. 7, p. 627–641, 2021.

NATH, S.; SINHA, A.; SINGHA, Y. S.; DEY, A.; BHATTACHARJEE, N.; DEB, B. Prevalence of antibiotic-resistant, toxic metal-tolerant and biofilm-forming bacteria in hospital surroundings. **Environmental Health and Toxicology**, v. 35, n. 3, p. 1–18, 2020.

NAUTIYAL, C. S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. **FEMS Microbiology Letters**, v. 170, p. 265–270, 1999.

NUNES, C. S.; KURZ, V.; FIGUEIREDO, A. M. B.; TRAVI, M. R. Métodos de controle e pragas nas lavouras de feijão. p. 128–146, 2017. OECD/FAO. OECD-FAO Agricultural Outlook 2021-2030. **OECD Publishing**, Paris, 2021, <https://doi.org/10.1787/19428846-en>.

OGAWA, Y.; TOKUNAGA, E.; KOBAYASHI, O.; HIRAI, K.; SHIBATA, N. Current contributions of organofluorine compounds to the agrochemical industry. **iScience**, v. 23, sep. 2020.

OHADI, M.; FOROOTANFAR, H.; DEGHANNOUDEH, G.; ESLAMINEJAD, T.; AMERI, A.; SHAKIBAIE, M.; ADELI-SARDOU, M. Antimicrobial, anti-biofilm, and anti-proliferative activities of lipopeptide biosurfactant produced by *Acinetobacter junii* B6. **Microbial Pathogenesis**, v. 138, 2020.

ONG, K. S.; AW, Y. K.; LEE, L. H.; YULE, C. M.; CHEOW, Y. L.; LEE, S. M. *Burkholderia paludis* sp. nov., an antibiotic-siderophore producing novel *Burkholderia cepacia* complex species, isolated from Malaysian tropical peat swamp soil. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. DEC, p. 1–14, 2016.

ONG, K. S.; CHEOW, Y. L.; LEE, S. M. The role of reactive oxygen species in the antimicrobial activity of pyochelin. **Journal of Advanced Research**, v. 8, n. 4, p. 393–398, 2017.

PINSKI, A.; BETEKHTIN, A.; HUPERT-KOCUREK, K.; MUR, L. A. J.; HASTEROK, R. Defining the genetic basis of plant–endophytic bacteria interactions. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, p. 1–32, 2019.

RAJKUMAR, M.; AE, N.; FREITAS, H. Endophytic bacteria and their potential to enhance heavy metal phytoextraction. **Chemosphere**, v. 77, p. 153–160, 2009.

R Core Team. 2021. “R: A Language and Environment for Statistical Computing.” <https://www.Rproject.org/>.

RIERA, N.; HANDIQUE, U.; ZHANG, Y.; DEWDNEY, M. M.; WANG, N. Characterization of antimicrobial-producing beneficial bacteria isolated from Huanglongbing escape citrus trees. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 1–12, 2017.

RIERA, N.; WANG, H.; LI, Y.; LI, J.; PELZ-STELINSKI, K.; WANG, N. Induced systemic resistance against citrus canker disease by rhizobacteria. **Phytopathology**, v. 108, n. 9, p. 1038–1045, 2018.

RODRÍGUEZ, H.; FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnology Advances**, v. 17, n. 4–5, p. 319–339, 1999.

- RONG, S.; XU, H.; LI, L.; CHEN, R.; GAO, X.; XU, Z. Antifungal activity of endophytic *Bacillus safensis* B21 and its potential application as a biopesticide to control rice blast. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 162, p. 69–77, 2020.
- SABATÉ, D. C.; BRANDAN, C. P.; PETROSELLI, G.; ERRA-BALSELLS, R.; AUDISIO, M. C. Biocontrol of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary on common bean by native lipopeptide-producer *Bacillus* strains. **Microbiological Research**, v. 211, p. 21–30, 2018.
- SALAM, N.; KHIEU, THI-NHAN; LIU, MIN-JIAO; VU, THU-TRANG; CHU-KY, S.; QUACH, NGOC-TUNG; PHI, QUYET-TIEN; RAO, M. P. N.; FONTANA, A.; SARTER, S.; LI, WEN-JUN. Endophytic actinobacteria associated with *Dracaena cochinchinensis* Lour.: Isolation, diversity, and their cytotoxic activities. **BioMed Research International**, v. 2017, 2017.
- SANSINENEA, E.; ORTIZ, A. Secondary metabolites of soil *Bacillus* spp. **Biotechnol Lett**, v. 33, p. 523–1538, 2011.
- SANTOS, T. T.; VARAVALLO, M. A. Aplicação de microrganismos endofíticos na agricultura e na produção de substâncias de interesse econômico. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 32, n. 2, p. 199-212, 2011.
- SAXENA, A. K.; KUMAR, M.; CHAKDAR, H; ANUROOPA, N.; BAGYARAJ, D. J. *Bacillus* species in soil as a natural resource for plant health and nutrition. **Journal of Applied Microbiology**, v. 128, n. 6, p. 1583–1594, 2019.
- SERRANO, N. F. G.; FERREIRA, D.; RODRIGUES-FILHO, E.; TEIXEIRA, J. A.; DUBREUIL, J. D.; SOUSA, C. P. Purification and characterization of two new antimicrobial molecules produced by an endophytic strain of *Paenibacillus polymyxa*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 93, n. 3, p. 1-13, 2021.
- SHARMA, B.; SHUKLA, P. A comparative analysis of heavy metal bioaccumulation and functional gene annotation towards multiple metal resistant potential by *Ochrobactrum intermedium* BPS-20 and *Ochrobactrum ciceri* BPS-26. **Bioresource Technology**, v. 320, p. 124330, 2021.
- SILVA, U. C.; CUADROS-ORELLANA, S.; SILVA, D. R. C.; FREITAS-JÚNIOR, L. F.; FERNANDES, A. C.; LEITE, L. R.; OLIVEIRA, C. A.; DOS SANTOS, V. L. Genomic and Phenotypic Insights Into the Potential of Rock Phosphate Solubilizing Bacteria to Promote Millet Growth *in vivo*. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 1–17, 2021.
- SINGH, A.; VAN HAMME, J. D.; WARD, O. P. Surfactants in microbiology and biotechnology: Part 2. Application aspects. **Biotechnology Advances**, v. 25, p. 99–121, 2007.
- SPAEPEN, S.; VANDERLEYDEN, J.; REMANS, R. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 31, n. 4, p. 425–448, 2007.
- SRIVASTAVA, S. et al. Cellular and subcellular phosphate transport machinery in plants. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 7, p. 1–15, 2018.
- TAN, D.; FU, L.; HAN, B.; SUN, X.; ZHENG, P.; ZHANG, J. Identification of an endophytic antifungal bacterial strain isolated from the rubber tree and its application in the biological control of banana Fusarium wilt. **PLoS ONE**, v. 10, n. 7, p. 1–14, 2015.

THULASI, K.; JAYAKUMAR, A.; PILLAI, A. B.; SANKARAMANGALAM, V. K. G.; KUMARAPILLAI, H. Efficient methanol-degrading aerobic bacteria isolated from a wetland ecosystem. **Archives of Microbiology**, v. 200, n. 5, p. 829–833, 2018.

TURNER, S.; PRYER, K. M.; MIAO, V. P. W.; PALMER, J. D. Investigating deep phylogenetic relationships among cyanobacteria and plastids by small subunit rRNA sequence analysis. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 46, n. 4, p. 327–338, 1999.

ULRICH, K.; KUBE, M.; BECKER, R.; SCHNECK, V.; ULRICH, A. Genomic analysis of the endophytic *Stenotrophomonas* strain 169 reveals features related to plant-growth promotion and stress tolerance. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, 2021.

VAN HAMME, J. D.; SINGH, A.; WARD, O. P. Physiological aspects Part 1 in a series of papers devoted to surfactants in microbiology and biotechnology. **Biotechnology Advances**, v. 24, p. 604–620, 2006.

VASILEVA, E. N. et al. Endophytic microorganisms in fundamental research and agriculture. **Ecological genetics**, 2019;17(1). v. 17, n. 1, p. 19–32, 2019.

VEJAN, P. et al. Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability-A review. **Molecules**, v. 21, n. 5, p. 1–17, 2016.

WICKHAM, H. 2009. ggplot2 Elegant Graphics for Data Analysis. Vol. 35. July. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-98141-3>.

ZHU, X.; JIN, L.; SUN, K.; LI, S.; LI, X.; LING, W. Phenanthrene and pyrene modify the composition and structure of the cultivable endophytic bacterial community in ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam). **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 13, n. 11, 2016.

ZOUARI, I.; JLAIEL, L.; TOUNSI, S.; TRIGUI, M. Biocontrol activity of the endophytic *Bacillus amyloliquefaciens* strain CEIZ-11 against *Pythium aphanidermatum* and purification of its bioactive compounds. **Biological Control**, v. 100 p. 54–62, 2016.

## Material Suplementar

**Tabela S1:** Código dos isolados, origem e espécie hospedeira.

CÓDIGO DO ISOLADO	NÚMERO DA PLANTA	ÓRGÃO	ESTADO	IDENTIFICAÇÃO
2B23R_AC	23	Raiz	Acre	<i>Stenotrophomonas</i> sp.
3B28C_AM	28	Caule	Amazonas	<i>Stenotrophomonas</i> sp.
7B6C_AM	6	Caule	Amazonas	<i>Bacillus</i> sp.
8B9R_AC	9	Raiz	Acre	<i>Burkholderia</i> sp.
9B19F_AC	19	Folha	Acre	<i>Stenotrophomonas</i> sp.
11B18F_AM	18	Folha	Amazonas	<i>Stenotrophomonas</i> sp.
13B9R_AC	9	Raiz	Acre	<i>Burkholderia</i> sp.
18B22C_AM	22	Caule	Amazonas	<i>Bacillus</i> sp.
20B29C_AM	29	Caule	Amazonas	<i>Stenotrophomonas</i> sp.
23B3C_AM	3	Caule	Amazonas	Não identificado
25B20F_AC	20	Folha	Acre	<i>Tsukamurella</i> sp.
33B28R_AM	28	Raiz	Amazonas	<i>Bacillus</i> sp.
34B20C_AM	20	Caule	Amazonas	Não identificado
35B17F_AC	17	Folha	Acre	<i>Ochrobactrum</i> sp.
36B19R_AC	19	Raiz	Acre	<i>Burkholderia</i> sp.
43B20F_AM	20	Folha	Amazonas	<i>Achromobacter</i> sp.
52B14F_AC	14	Folha	Acre	<i>Achromobacter</i> sp.
57B28C_AM	28	Caule	Amazonas	<i>Stenotrophomonas</i> sp.
60B28F_AM	28	Folha	Amazonas	<i>Ochrobactrum</i> sp.
61B29F_AM	29	Folha	Amazonas	<i>Stenotrophomonas</i> sp.
64B19F_AM	19	Folha	Amazonas	<i>Stenotrophomonas</i> sp.
67B20R_AC	20	Raiz	Acre	<i>Bacillus</i> sp.
68B22R_AC	22	Raiz	Acre	Não identificado
69B22R_AC	22	Raiz	Acre	Não identificado
71B14F_AC	14	Folha	Acre	<i>Ochrobactrum</i> sp.
72B28F_AM	28	Folha	Amazonas	<i>Tsukamurella</i> sp.
73B29C_AM	29	Caule	Amazonas	<i>Ochrobactrum</i> sp.

74B8R_AC	8	Raiz	Acre	Não identificado
75B24F_AM	24	Folha	Amazonas	Não identificado
80B2C_AC	2	Caule	Acre	Não identificado
82B28F_AM	28	Folha	Amazonas	Não identificado
87B4R_AM	4	Raiz	Amazonas	<i>Stenotrophomonas</i> sp.
88B29C_AM	29	Caule	Amazonas	Não identificado
89B7R_AC	7	Raiz	Acre	<i>Burkholderia</i> sp.
92B2C_AC	2	Caule	Acre	Não identificado
93B10F_AM	10	Folha	Amazonas	<i>Bacillus</i> sp.
96B22R_AC	22	Raiz	Acre	Não identificado
102B23F_AM	23	Folha	Amazonas	<i>Stenotrophomonas</i> sp.
106B4F_AC	4	Folha	Acre	Não identificado
109B5C_AC	5	Caule	Acre	Não identificado
110B18F_AM	18	Folha	Amazonas	<i>Tsukamurella</i> sp.
111B4R_AM	4	Raiz	Amazonas	<i>Stenotrophomonas</i> sp.
112B20F_AM	20	Folha	Amazonas	<i>Achromobacter</i> sp.
117B4F_AC	4	Folha	Acre	Não identificado
119B29C_AM	29	Caule	Amazonas	<i>Ochrobactrum</i> sp.
120B17F_AC	17	Folha	Acre	Não identificado
123B25C_AM	25	Caule	Amazonas	Não identificado
129B5C_AC	5	Caule	Acre	<i>Stenotrophomonas</i> sp.
139B28R_AM	28	Raiz	Amazonas	<i>Bacillus</i> sp.
140B5F_AM	5	Folha	Amazonas	<i>Bacillus</i> sp.
142B20R_AC	20	Raiz	Acre	<i>Bacillus</i> sp.
147B23R_AC	23	Raiz	Acre	<i>Bacillus</i> sp.
149B20R_AC	20	Raiz	Acre	<i>Bacillus</i> sp.
150B28R_AM	28	Raiz	Amazonas	<i>Bacillus</i> sp.
151B20R_AC	20	Raiz	Acre	<i>Bacillus</i> sp.
153B23C_AC	23	Caule	Acre	<i>Burkholderia</i> sp.
156B23R_AC	23	Raiz	Acre	Não identificado
160B22R_AC	22	Raiz	Acre	<i>Paenibacillus</i> sp.
162B24F_AM	24	Folha	Amazonas	Não identificado
163B29C_AM	29	Caule	Amazonas	<i>Stenotrophomonas</i> sp.

171B4R_AM	4	Raiz	Amazonas	<i>Stenotrophomonas</i> sp.
174B28R_AM	28	Raiz	Amazonas	<i>Bacillus</i> sp.
180B1R_AC	1	Raiz	Acre	<i>Burkholderia</i> sp.
182B23R_AC	23	Raiz	Acre	Não identificado
190B23R_AC	23	Raiz	Acre	<i>Bacillus</i> sp.
191B22R_AC	22	Raiz	Acre	<i>Enterobacteriaceae</i> <i>bacterium</i>
192B24F_AC	24	Folha	Acre	<i>Stenotrophomonas</i> sp.
200B22R_AC	22	Raiz	Acre	Não identificado
201B16R_AC	16	Raiz	Acre	<i>Bacillus</i> sp.
204B16R_AC	16	Raiz	Acre	<i>Bacillus</i> sp.
209B28R_AM	28	Raiz	Amazonas	<i>Bacillus</i> sp.
210B16R_AC	16	Raiz	Acre	Não identificado
220B21C_AM	21	Caule	Amazonas	Não identificado
221B29F_AM	29	Folha	Amazonas	<i>Bacillus</i> sp.
223B3F_AC	3	Folha	Acre	<i>Stenotrophomonas</i> sp.
226B20F_AC	20	Folha	Acre	Não identificado
227B3F_AC	3	Folha	Acre	Não identificado
228B22R_AC	22	Raiz	Acre	Não identificado
229B22R_AC	22	Raiz	Acre	<i>Stenotrophomonas</i> sp.
234B22C_AM	22	Caule	Amazonas	<i>Achromobacter</i> sp.
236B5F_AM	5	Folha	Amazonas	Não identificado
240B8F_AM	8	Folha	Amazonas	<i>Achromobacter</i> sp.
246B28F_AM	28	Folha	Amazonas	<i>Achromobacter</i> sp.

**Tabela S2:** Código de acesso dos isolados de referência usados na filogenia.

ESPÉCIE	LINHAGEM TIPO	16S
<b><i>Achromobacter</i> spp.</b>		<b>Número de Acesso</b>
<i>A. marplatensis</i>	B2	EU150134
<i>A. spanius</i>	CCM7183	FM999732
<b><i>Bacillus</i> spp.</b>		<b>Número de Acesso</b>
<i>B. aerius</i>	24K	AJ831843
<i>B. amyloliquefaciens</i>	NBRC 15535	AB255669
<i>B. amyloliquefaciens</i>	ATCC 23350	X60605
<i>B. anthracis</i>	ATCC 14578	NR_041248
<i>B. atrophaeus</i>	JCM 9070	AB021181

<i>B. axarquiensis</i>	CIP 108772	DQ993670
<i>B. cereus</i>	ATCC 14579	NR_074540
<i>B. licheniformis</i>	ATCC 14580	NR_074923
<i>B. methylotrophicus</i>	CBMB205	EU194897
<i>B. mojavensis</i>	IFO15718	AB021191
<i>B. mycoides</i>	DSM 11821	NR_024697
<i>B. mycoides</i>	JC1004	LS998020
<i>B. paranthracis</i>	MCCC 1A00395	KJ812420
<i>B. proteolyticus</i>	MCCC 1A00365	KJ812418
<i>B. pseudomycooides</i>	DSM 12442	MN543762
<i>B. pumilus</i>	OS-70	AM237370
<i>B. siamensis</i>	PD-A10	GQ281299
<i>B. siamensis</i>	AUC	MT320820
<i>B. sonorensis</i>	NRRL B-23154	AF302118
<i>B. subtilis</i>	NRRL NRS-744	NR_116192
<i>B. subtilis</i>	T1	OK355182
<i>B. thuringiensis</i>	IAM 12077	NR_043403
<i>B. toyonensis</i>	BCT7112	MN543844
<i>B. vallismortis</i>	DSM 11031	AB021198
<i>B. velezensis</i>	CR-502T	AY603658
<i>B. velezensis</i>	LSRBMoFPIKRGCFTRI3 1	MT133338
<i>B. wiedmannii</i>	FSL W8-0169	NR_152692
<i>B. wiedmannii</i>	SX13.1LB	MT052668
<i>B. weihenstephanensis</i>	JAS 83/3	KP006648
<i>B. wiedmannii</i>	FSL W8-0169	KU198626

<b><i>Burkholderia</i> spp.</b>		<b>Número de Acesso</b>
<i>B. ambifaria</i>	AMMD	NR_024882
<i>B. andropogonis</i>	IBSBF199	KM083264
<i>B. anthina</i>	R-4183	AJ420880
<i>B. arboris</i>	R-24201T	AM747630
<i>B. caledonica</i>	CIP 107098	EU024157
<i>B. caribiensis</i>	MWAP64	Y17009
<i>B. caryophylli</i>	ATCC 25418	AB021423
<i>B. cenocepacia</i>	LMG 16656	NR_025013
<i>B. cepacia</i>	ATCC 25416	U96927
<i>B. contaminans</i>	LMG 23361	JX986975
<i>B. difusa</i>	R-15930T	AM747629
<i>B. dabaoshanensis</i>	GIMN1.004	FJ210816
<i>B. dolosa</i>	LMG 18943	JX986970
<i>B. fungorum</i>	CIP 107096	EU024155
<i>B. gladioli</i>	CIP 105410	EU024168
<i>B. glathei</i>	CIP 105421	EU024167
<i>B. glumae</i>	CIP 106418	EU024181

<i>B. graminis</i>	C4D1M	U96939
<i>B. lata</i>	383	NR_102890
<i>B. latens</i>	R-5630T	AM747628
<i>B. mallei</i>	ATCC 23344	AF110188
<i>B. metallica</i>	R-16017T	AM747632
<i>B. multivorans</i>	LMG 13010T	Y18703
<i>B. oklahomensis</i>	LMG 23618	HQ849092
<i>B. paludis</i>	MSh1	KT159931
<i>B. phenazinium</i>	ATCC 33666	AB021394
<i>B. plantarii</i>	LMG9035T	U96933
<i>B. pseudomallei</i>	ATCC 23343	DQ108392
<i>B. pseudomultivorans</i>	LMG 26883T	HE962386
<i>B. pyrrocinia</i>	LMG 14191	U96930
<i>B. rinojensis</i>	A396	KF650996
<i>B. seminalis</i>	R-24196T	AM747631
<i>B. sordidicola</i>	S5-B	AF512826
<i>B. stabilis</i>	LMG 14294	AF148554
<i>B. terricola</i>	LMG 20594T	AY040362
<i>B. thailandensis</i>	CIP 106301	EU024174
<i>B. ubonensis</i>	CIP 107078	EU024179
<i>B. vietnamiensis</i>	LMG 10929	AF097534

<b><i>Enterobacteriaceae</i> spp.</b>		<b>Número de Acesso</b>
<i>E. arachidis</i>	Ah-143	EU672801
<i>E. asburiae</i>	JCM6051	AB004744
<i>E. chengduensis</i>	WCHECI-C4	KY979142
<i>E. cloacae</i>	ATCC 13047T	AJ417484
<i>E. hormaechei</i>	CIP 103441	AJ508302
<i>E. muelleri</i>	JM-458	KP345900
<i>E. oryzae</i>	Ola 51	EF488759
<i>E. oryzendophyticus</i>	REICA_082	JF795011
<i>E. oryziphilus</i>	REICA_142	JF795013
<i>E. sichuanensis</i>	WCHECL1597	MG832788
<i>Enterobacter</i> sp.	AE3	MT277412
<i>E. tabaci</i>	YIM Hb-3	KP990658
<i>Enterobacteriaceae</i> <i>bacterium</i>	Atecer7G	MT386173

<b><i>Ochrobactrum</i> spp.</b>		<b>Número de Acesso</b>
<i>O. ciceri</i>	Ca-34	DQ647056
<i>O. daejeonense</i>	MJ11	HQ171203
<i>O. gallinifaecis</i>	Iso 196	AJ519939
<i>O. intermedium</i>	LMG 3301T	AM490623
<i>O. intermedium</i>	TM73	AM490627
<i>O. oryzae</i>	MTCC 4195T	AM041247
<i>O. pseudintermedium</i>	ADV31	DQ365921

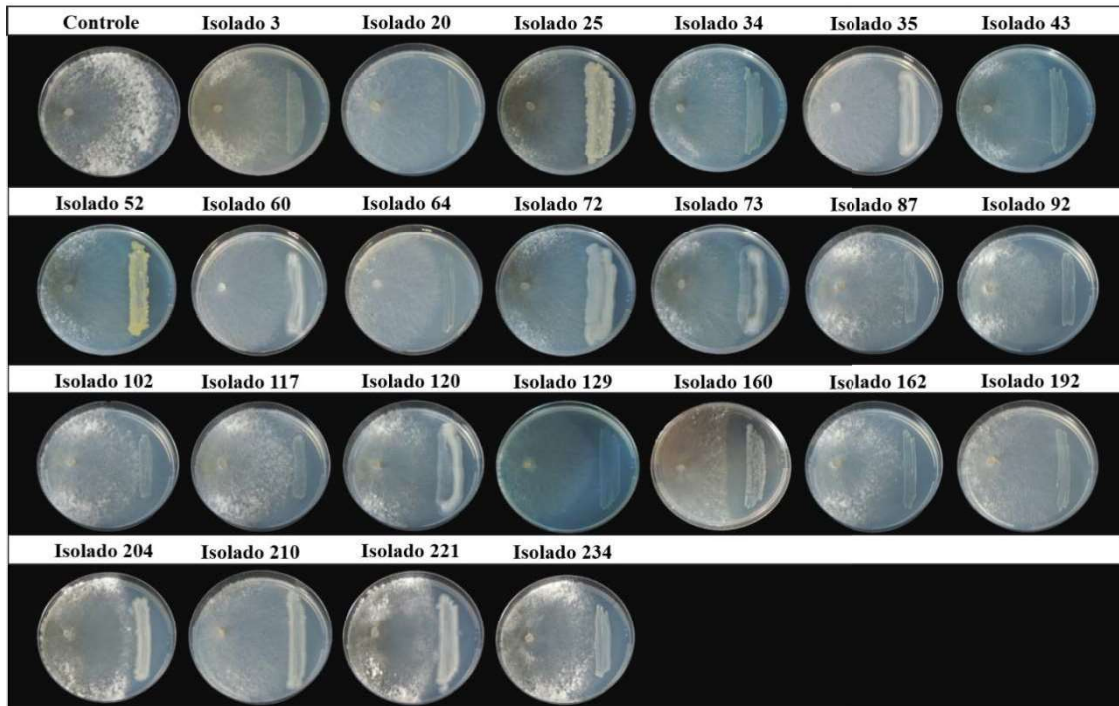
<i>O. pseudogrignonense</i>	CCUG 30717T	AM422371
<b><i>Paenibacillus</i> spp.</b>		<b>Número de Acesso</b>
<i>P. brasilensis</i>	PB172	AF273740
<i>P. jamilae</i>	CECT 5266	AJ271157
<i>P. kribbensis</i>	AM49	AF391123
<i>P. peoriae</i>	DSM 8320T	AJ320494
<i>P. polymyxa</i>	CR1	KF620436
<i>P. terrae</i>	AM141	AF391124
<b><i>Stenotrophomonas</i> spp.</b>		<b>Número de Acesso</b>
<i>S. acidaminiphila</i>	AMX19	AF273080
<i>S. africana</i>	MGB	U62646
<i>S. bentonitica</i>	BII-R7	HG800055
<i>S. chelatiphaga</i>	LPM-5	EU573216
<i>S. chelatiphaga</i>	DSM 21508	MW227638
<i>S. daejeonensis</i>	MJ03	GQ241320
<i>S. dokdonensis</i>	DS-16	DQ178977
<i>S. ginsengisoli</i>	DCY01	DQ109037
<i>S. humi</i>	R-32729T	AM403587
<i>S. indicatrix</i>	WS40	KJ452162
<i>S. koreensis</i>	TR6-01	AB166885
<i>S. lactitubi</i>	M15	LT222224
<i>S. maltophilia</i>	IAM 12423	AB294553
<i>S. maltophilia</i>	DSM 50170T	LN681567
<i>S. nitritireducens</i>	L2	AJ012229
<i>S. panacihumi</i>	MK06	GQ856217
<i>S. pavanii</i>	DSM 25135	MW111177
<i>S. pictorum</i>	ATCC 23328	AB021392
<i>S. rhizophila</i>	e-p10	AJ293463
<i>S. rhizophila</i>	e-p10	NR_028930
<i>S. sepilia</i>	SM16975	LXXZ01000044
<i>S. terrae</i>	R-32768T	AM403589
<i>S. tumulicola</i>	T5916-2-1b	LC066089
<b><i>Tsukamurella</i> spp.</b>		<b>Número de Acesso</b>
<i>T. tyrosinosolvans</i>	D-1397T	Y12246

**Tabela S3:** *Primers* usados para amplificação de genes de lipopeptídeos e da sequência que codifica o rDNA 16S.

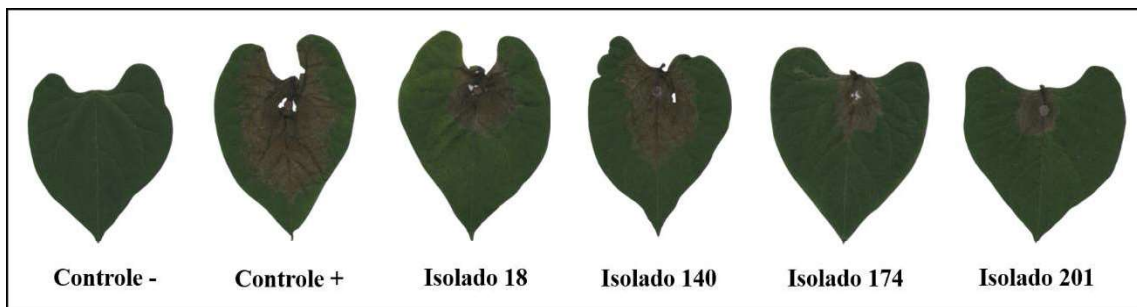
Gene	Nome do primer	Sequência (5'→ 3')	Tamanho amplificado (pb)	Referência
Surfactina	sfp F	ATGAAGATTTACGGAATTTA	675	Hsieh et al., 2004
	sfp R	TTATAAAAGCTCTTCGTACG		
Surfactina	srfAA F	AGCCGTCCTGTCTGACGACG	1.500	Koumoutsi et al., 2004
	srfAA R	TCTGCTGCCATACCGCATAGTC		
Iturina A	ituC F	TTCACITTTTGATCTGGCGAT	532	Baysal et al., 2013
	ituC R	CGTCCGGTACATTTTCAC		
Fengicina	fenD F	CCTGCAGAAGGAGGAGGACTGAAG	300	Baysal et al., 2013
	fenD R	TGCTCATCGTCTTCCGTTTC		
Bacilamicina	bmy F	ATGAAACAAAGGCATATGCTC	357	Baysal et al., 2013
	bmy R	AAAAATGCATCTGCCGTTCC		
16S	P027	GAGAGTTTGATCCTGGCTAG	1.400	Turner et al., 1999
	1492	GGTTACCTTGTTACGACTT		



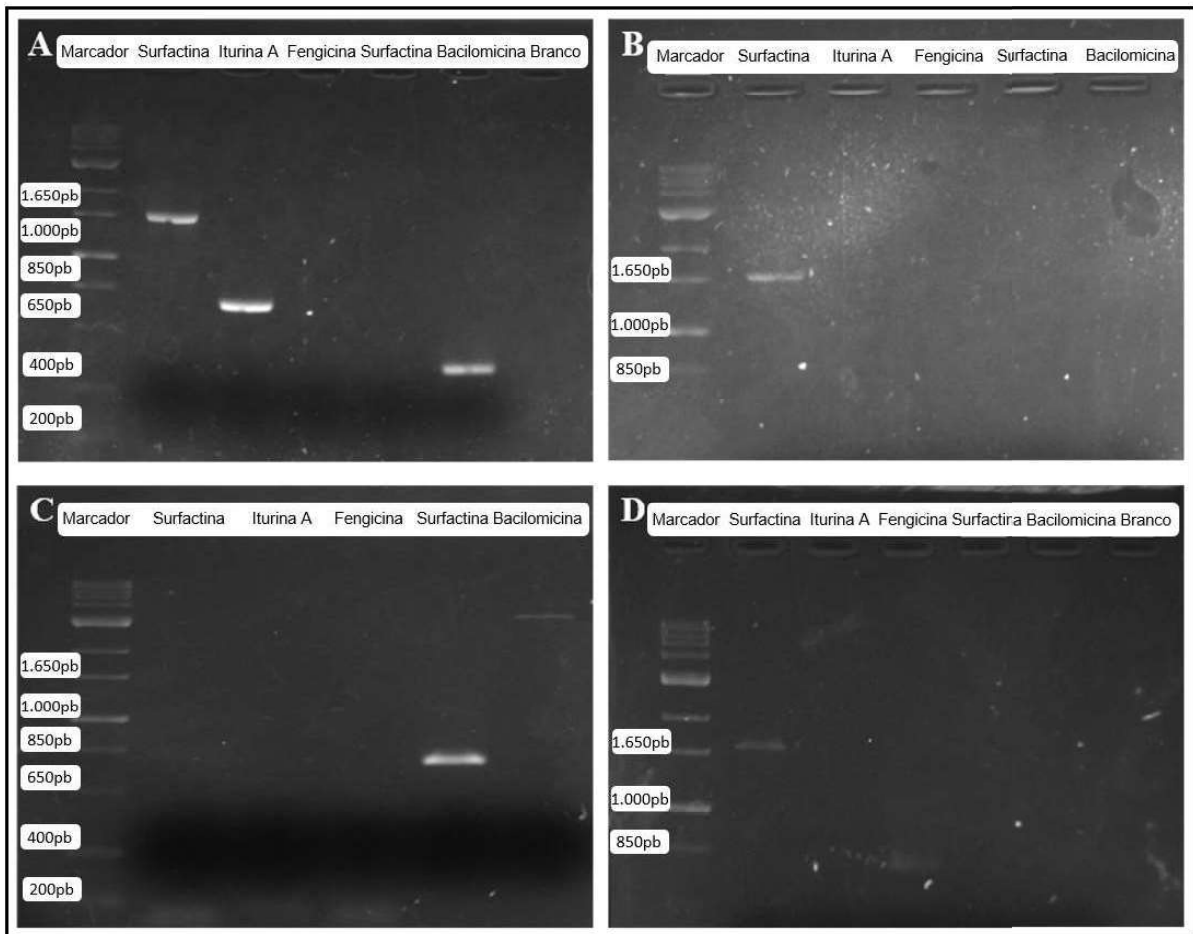
**Figura S1:** Placa do isolamento de fungos endofíticos onde houve crescimento de bactérias endofíticas com potencial antifúngico.



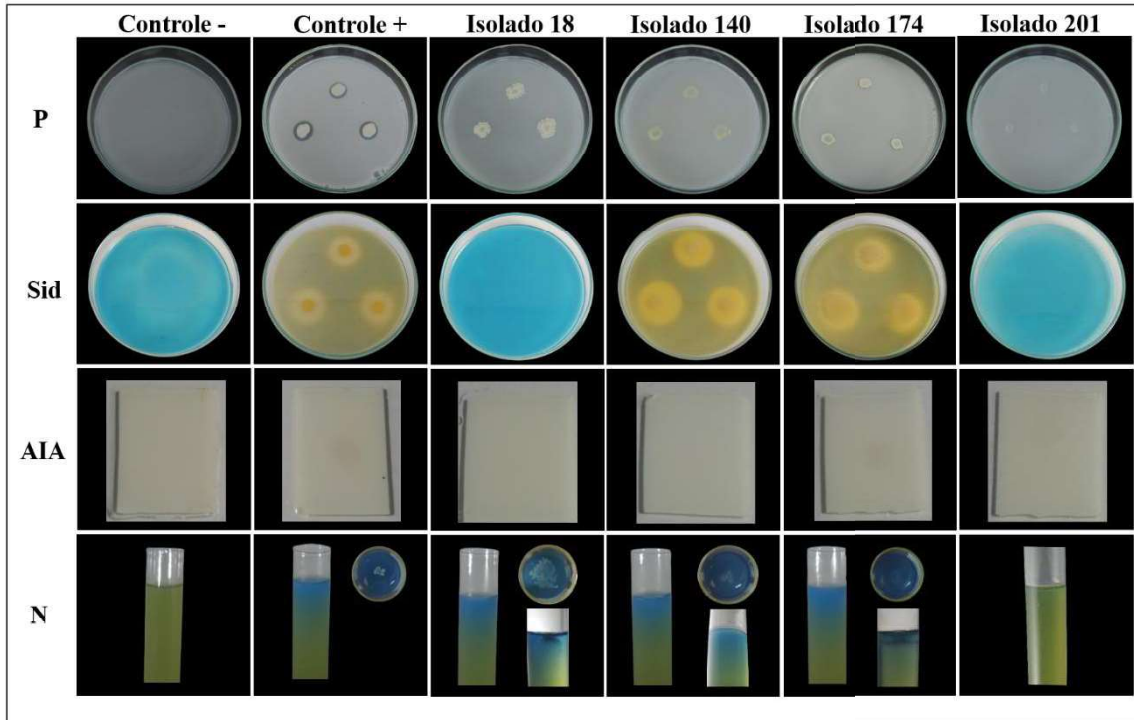
**Figura S2:** Antagonismo de 24 isolados endofíticos de seringueiras (Tabela S2) a *Sclerotinia sclerotiorum*.



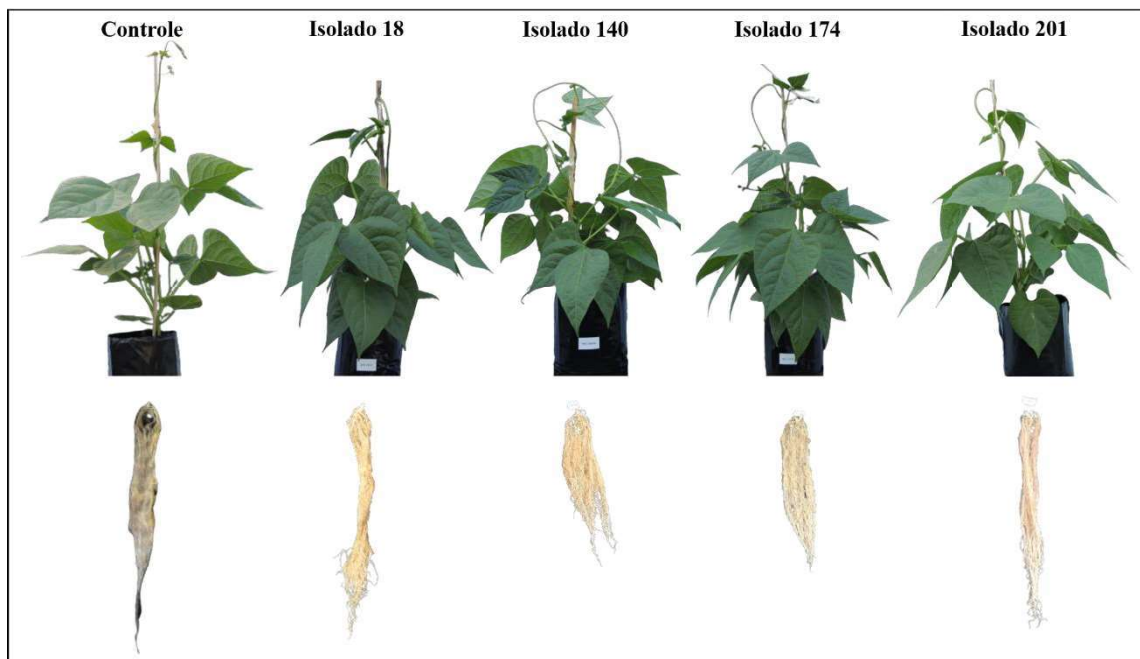
**Figura S3:** Atividade antagônica dos isolados promissores de bactérias endofíticas das seringueiras pertencentes ao gênero *Bacillus* contra *S. sclerotiorum* no feijoeiro.



**Figura S4:** *Amplicons* correspondentes aos genes do isolado 18 (A), 140 (B), 174 (C) e 201 (D) envolvidos na biossíntese de surfactina, iturina A, fengicina e bacilomicina A. O marcador de peso molecular é o GeneRuler DNA Ladder Mix.



**Figura S5:** Avaliação dos mecanismos de promoção de crescimento in vitro. Solubilização de fosfato(P); Sideróforo (Sid); Ácido Indol-3-Acético (AIA); Nitrogênio (N).



**Figura S6:** Avaliação da promoção de crescimento vegetal das bactérias endofíticas das seringueiras pertencentes ao gênero *Bacillus* em *Phaseolus vulgaris* L.