

## **COINOCULAÇÃO DE *Bradyrhizobium* E *Azospirillum* PROMOVE MAIOR TOLERÂNCIA À DEFICIÊNCIA HÍDRICA EM PLANTAS DE AMENDOIM**

Ana Carolina Vidal do Nascimento<sup>1</sup>, Jorge González Aguilera<sup>1</sup> e Fábio Steiner<sup>1</sup>

Curso de Graduação em Agronomia, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS), Cassilândia (MS). Contato: steiner@uems.br

### **PROBLEMÁTICA**

Em todo o ciclo de vida, as plantas estão sujeitas a condições adversas, constituindo o que na ecofisiologia vegetal é denominado de estresse. São múltiplos os fatores causadores de estresse nos vegetais, afetando o desenvolvimento e a produção das culturas. Em condições adversas, a planta desvia parte de seu metabolismo para se adaptar ou sobreviver ao fator limitante, das mais variadas formas, em detrimento da produção, pois parte da energia é desviada para esse processo (TAIZ et al., 2017).

A baixa disponibilidade de água do solo é importante fator ambiental que pode limitar o crescimento e a produtividade da cultura do amendoim. Os efeitos da deficiência hídrica são variáveis em função da sua intensidade (duração da restrição hídrica: veranico ou seca prolongada), da velocidade de exposição do estresse e do estágio de desenvolvimento da planta em que a restrição hídrica ocorre (PIMENTEL, 2004). A redução na condutância estomática afeta uma série de interações entre a planta e o ambiente, isso porque os estômatos são os pontos de controle de vapor d'água e balanço de energia entre o vegetal e o ambiente. Embora a redução na taxa de perda de água possa representar vantagem imediata para prevenir a desidratação do tecido vegetal, ela, no entanto, pode afetar diretamente o balanço de calor sensível sobre o vegetal, e, ainda, a absorção de CO<sub>2</sub>, e a taxa fotossintética (TAIZ et al., 2017).

As perdas de produtividade da cultura do amendoim em decorrência da restrição hídrica tem sido frequentes e podem atingir até 60-70% da produção, especialmente quando o amendoim é cultivado em solos arenosos, que possuem menor capacidade de retenção de água e, portanto, são mais suscetíveis à deficiência hídrica. Entretanto, pesquisas que buscam atenuar os efeitos adversos da deficiência hídrica sobre o crescimento e produção das culturas agrícolas são de grande importância para suprir as demandas de alimentos crescentes para a população mundial.

### **CONHECIMENTO PRÉVIO**

Técnicas biotecnológicas têm sido utilizadas na agricultura moderna para melhorar o desempenho das plantas em condições estressantes (SILVA et al., 2019). As bactérias encontradas na região da rizosfera (rizobactérias) podem promover o crescimento das plantas por diversos mecanismos de interação (FUKAMI et al., 2018). A inoculação de *Azospirillum brasilense* pode estimular o crescimento das plantas leguminosas por diversas maneiras, sendo as mais relevantes: capacidade de fixação biológica de nitrogênio, aumento na atividade da redutase do nitrato quando crescem endofiticamente nas plantas, produção de hormônios vegetais como auxinas, citocininas e giberelina, solubilização de fosfato (HUNGRIA & NOGUEIRA, 2013; RODRIGUEZ et al., 2004; FUKAMI et al., 2018). Além disso, as rizobactérias podem atenuar os efeitos prejudiciais da deficiência hídrica através da modificação de reações químicas e bioquímicas, no interior da planta ou na rizosfera, alterando a fisiologia do vegetal e promovendo a tolerância à seca (DIMKPA et al., 2009). Santos et al. (2017) verificaram que a coinoculação das sementes de amendoim com *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* melhorou a nodulação e a produção de matéria seca das plantas. No entanto, ainda permanece desconhecido os efeitos da coinoculação de *B. japonicum* e *A. brasilense* sobre a tolerância do amendoim à deficiência hídrica.

Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da inoculação e da coinoculação de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* no crescimento e na indução da tolerância à deficiência hídrica em plantas de amendoim (*Arachis hypogaea* L.).

## DESCRIÇÃO DA PESQUISA

O experimento foi realizado em condições de casa de vegetação na Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul – UEMS, em Cassilândia (MS). Durante o experimento, as condições ambientais no interior da casa de vegetação foram: temperatura média do ar de 26 °C ( $\pm 2$  °C), umidade relativa do ar de 68% ( $\pm 6$ %). Foram utilizados vasos plásticos com 12 L de capacidade, preenchidos com 15 kg de solo arenoso classificado como NEOSSOLO QUARTZARÊNICO Órtico latossólico – NQo. Após a calagem, o solo foi fertilizado com 40 mg kg<sup>-1</sup> de N (ureia), 300 mg kg<sup>-1</sup> de P (superfosfato simples), 150 mg kg<sup>-1</sup> de K (cloreto de potássio) e 15 mg kg<sup>-1</sup> de S (gesso agrícola).

Os vasos foram dispostos no delineamento de blocos casualizados (DBC) em esquema fatorial 3 × 4, com quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos por três níveis de regime de irrigação [100% da capacidade de retenção de água (controle), 50% do controle (estresse moderado) e 25% do controle (estresse severo)] e por quatro tratamentos de inoculação das sementes [controle (sem inoculação); inoculação com *Bradyrhizobium japonicum*; inoculação com *Azospirillum brasilense*; e, coinoculação com *B. japonicum* + *A. brasilense*]. Cada unidade experimental foi constituída por um vaso contendo duas plantas, perfazendo um total de 48 vasos.

A inoculação das sementes com *Bradyrhizobium japonicum* foi realizada com o inoculante líquido Simbiose Nod Soja<sup>®</sup> (Simbiose: Agrotecnologia Biológica) contendo as estirpes SEMIA 5079 e SEMIA 5080 (concentração mínima de 7,2 x 10<sup>9</sup> células viáveis por mL), na dose de 3 mL kg<sup>-1</sup> de semente. Para a inoculação com *Azospirillum brasilense* foi utilizado o inoculante líquido AzoTotal<sup>®</sup> (Total Biotecnologia) que contém as estirpes AbV5 e AbV6 (concentração mínima de 2,0 x 10<sup>8</sup> células viáveis por mL), na dose de 3 mL kg<sup>-1</sup> de semente. A coinoculação foi realizada misturando as duas rizobactérias, nas mesmas proporções utilizadas quando inoculadas isoladamente, ou seja, 3 mL do inoculante contendo *B. japonicum* + 3 mL de inoculante contendo *A. brasilense* para cada quilograma de sementes de amendoim.

Foram semeadas oito sementes de amendoim cv. RUNNER IAC 886 por vaso, e após o desbaste foram deixadas duas plantas por vaso. Até os 35 dias após a emergência das plantas, todos os tratamentos foram irrigados para manter a umidade do solo em 100% da capacidade de retenção de água. Posteriormente, a imposição da restrição hídrica (50% e 25% da capacidade de retenção de água do solo) foi realizada por 18 dias.

Após 18 dias de exposição das plantas às condições de restrição hídrica foram determinadas a altura de planta, área foliar, volume radicular, matéria seca da parte aérea e das raízes. A matéria seca da parte aérea (folhas e hastes) e das raízes foram acondicionadas em sacos de papel e colocadas para secar em estufa de circulação de ar forçada com temperatura de 65 °C ( $\pm 2,0$  °C) até obter massa constante e, então, pesadas em balança analítica com precisão de 0,0001g.

Os dados obtidos foram submetidos às análises de variância, e as médias foram comparadas pelo teste t (LSD), ao nível de 5% de probabilidade. As análises foram realizadas utilizando-se o software estatístico Sisvar versão 5.6 para Windows.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises de variância reportaram efeitos significativos ( $p < 0,05$ ) para a interação entre os fatores inoculação e níveis de deficiência hídrica para todas as características morfológicas, exceto para altura de planta (Tabelas 1). A inoculação das sementes com *B. japonicum* e *A. brasilense* de

forma isolada resultou na maior altura das plantas. Segundo Fukami et al. (2018), a bactéria *Azospirillum* possui a capacidade de produzir hormônios vegetais que promove o crescimento dos vegetais, tais como o ácido indol-3-acético (IAA).

A área foliar sob condições controle foi significativamente maior com a coinoculação de *B. japonicum* e *A. brasilense* e nas plantas não inoculadas, ao passo que sob deficiência hídrica moderada e severa os maiores valores de área foliar foram obtidos apenas com o uso combinado de *B. japonicum* e *A. brasilense* (Tabela 1). A inoculação combinada de *B. japonicum* e *A. brasilense* resultou em maior produção de massa seca da parte aérea, independentemente das condições de disponibilidade de água (Tabela 1). De maneira geral, esses resultados sugerem que a coinoculação de *B. japonicum* e *A. brasilense* levou ao aumento do crescimento de plantas de amendoim, resultando em maior área foliar e maior produção de matéria seca das plantas de amendoim (Tabela 1).

Em condições de controle, o volume radicular foi maior nas plantas coinoculadas e não inoculadas, enquanto a maior matéria seca das raízes foi obtida nas plantas não inoculadas (Tabela 1). O crescimento das raízes sob deficiência hídrica moderada não foi significativamente afetado ( $p > 0,05$ ) pela inoculação ou não inoculação das plantas (Tabelas 1). No entanto, a inoculação de *A. brasilense* isolada ou combinada com *B. japonicum* sob deficiência hídrica severa resultou no maior volume radicular e matéria seca das raízes, sugerindo que o crescimento radicular foi aumentado pelo uso de *Azospirillum* (Tabela 1). As rizobactérias podem promover o crescimento de plantas através da produção de hormônios vegetais, principalmente ácido indol-3-acético (IAA), que pode ajudar as plantas a superar os estresses ambientais, induzindo a formação de raízes laterais e aumento do crescimento das raízes (VURUKONDA et al., 2016).

### APLICAÇÃO PRÁTICA

As plantas de amendoim (co)inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* possuem maior tolerância aos efeitos adversos da deficiência hídrica, com maior área foliar e maior produção de matéria seca da parte aérea quando submetidas aos níveis de restrição hídrica moderada e severa.

### LITERATURA CITADA

DIMKPA, C.; WEINAND, T.; ASCH, F. Plant-rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. **Plant, Cell and Environment**, v.32, p.1682–1694, 2009.

FUKAMI, J.; CERZINI, P.; HUNGRIA, M. *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. **AMB Express**, v. 8, n. 73, p. 1-12, 2018.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A. Efeitos da co-inoculação. **Cultivar Grandes Culturas**, v. 170, n. 1, p. 40-41, 2013.

PIMENTEL, C. **A relação da água com a planta**. Seropédica, Rio de Janeiro. EDUR, 2004. 192p.

RODRIGUEZ, H.; GONZALEZ, T.; GOIRE, I.; BASHAN, Y. Gluconic acid production and phosphate solubilization by the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* spp. **Naturwissenschaften**, v. 91, p. 552-555, 2004.

SANTOS, D. M. S.; BUSH, A.; SILVA, E. R.; ZUFFO, A. M.; STEINER, F. Bactérias fixadoras de nitrogênio e molibdênio no cultivo do amendoim em solo do Cerrado. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 4, n.1, p. 84-92, 2017.

SILVA, E. R.; ZOZ, J.; OLIVEIRA, C. E. S.; ZUFFO, A. M.; STEINER, F.; ZOZ, T. & VENDRUSCOLO, E. P. Can co-inoculation of *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* alleviate adverse

effects of drought stress on soybean (*Glycine max* L. Merrill.)? **Archives of Microbiology**, v. 201, n. 3, p. 325-335, 2019.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I.M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento** vegetal. Porto Alegre: Artmed., 2017. 685p.

VURUKONDA, S. S. K. P.; VARDHARAJULA, S.; SHRIVASTAVA, M.; SKZ, A. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. **Microbiological Research**, v. 184, p. 13-24, 2016.

**Tabela 1.** Efeito da (co)inoculação de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* e dos níveis de deficiência hídrica na altura de planta, área foliar, volume radicular e matéria seca da parte aérea e das raízes das plantas de amendoim cv. RUNNER IAC 886 após 18 dias de exposição das plantas à deficiência hídrica

Inoculação das sementes	Nível de deficiência hídrica			Média
	Controle (100% CC)	Moderada (50% CC)	Severa (25% CC)	
Altura de planta (cm)				
Controle	54,2	49,7	40,2	48,0 b
<i>B. japonicum</i>	56,0	49,5	43,5	49,7 a
<i>A. brasilense</i>	55,2	49,7	42,0	48,9 ab
<i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	53,3	47,7	42,3	47,8 b
Média	54,7 A	49,1 B	42,0 C	
Área foliar (dm <sup>2</sup> )				
Controle	2,41 abA	1,66 cB	1,35 cC	1,80
<i>B. japonicum</i>	2,28 bcA	1,93 bB	1,46 bcC	1,89
<i>A. brasilense</i>	2,22 cA	1,71 cB	1,57 abB	1,83
<i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	2,52 aA	2,09 aB	1,60 aC	2,07
Média	2,36	1,85	1,49	
Volume radicular (cm <sup>3</sup> planta <sup>-1</sup> )				
Controle	38,5 abA	31,7 abB	23,7 bcC	31,3
<i>B. japonicum</i>	30,4 cA	31,0 abA	27,6 abA	29,7
<i>A. brasilense</i>	33,4 bcA	35,8 aA	30,8 aA	33,4
<i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	42,7 aA	28,2 bB	26,2 abB	32,4
Média	36,3	31,7	27,1	
Matéria seca da parte aérea (g/planta)				
Controle	13,70 abA	8,30 bB	6,40 bcC	9,47
<i>B. japonicum</i>	13,43 bA	10,10 aB	6,38 bcC	9,96
<i>A. brasilense</i>	11,80 cA	9,02 bB	7,33 aC	9,38
<i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	14,62 aA	10,51 aB	6,79 abC	10,70
Média	13,39	9,48	6,77	
Matéria seca das raízes (g/planta)				
Controle	5,94 aA	3,99 aB	3,11 bcC	4,34
<i>B. japonicum</i>	4,80 bA	3,74 aB	3,13 bcC	3,89
<i>A. brasilense</i>	4,80 bA	4,04 aB	3,83 aB	4,22
<i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	5,09 bA	3,83 aB	3,70 aB	4,21
Média	5,16	3,90	3,44	

Média seguida pela mesma letra minúscula, na coluna ou mesma letra maiúscula, na linha não diferem entre si pelo teste t (LSD) ao nível de 5% de probabilidade.