

**Coinoculação do amendoim (*Arachis hypogaea* L.) com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*
promove maior tolerância à seca**

**Co-inoculation of peanut (*Arachis hypogaea* L.) with *Bradyrhizobium* and *Azospirillum*
promotes greater tolerance to drought**

**La coinoculación de maní (*Arachis hypogaea* L.) con *Bradyrhizobium* y *Azospirillum*
promueve una mayor tolerancia a la sequía**

Recebido: 15/04/2020 | Revisado: 20/04/2020 | Aceito: 25/04/2020 | Publicado: 28/04/2020

Gabriela da Silva Freitas

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6289-560X>

Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Brasil

E-mail: gabrielafreitas1997@gmail.com

Giselle Feliciani Barbosa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5456-1039>

Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Brasil

E-mail: giselle.barbosa@uems.br

Alan Mario Zuffo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9704-5325>

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Brasil

E-mail: alan_zuffo@hotmail.com

Fábio Steiner

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9091-1737>

Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Brasil

E-mail: steiner@uems.br

Resumo

O uso de rizobactérias promotoras de crescimento pode ser uma estratégia de manejo para amenizar os efeitos da deficiência hídrica no crescimento e no desenvolvimento das plantas por modificar o metabolismo fisiológico e promover maior tolerância à seca. Este estudo teve como objetivo investigar os efeitos da inoculação das sementes com *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* de forma isolada e combinada no crescimento e na indução da tolerância das plantas de amendoim (*Arachis hypogaea* L., cv. RUNNER IAC 886) à restrição hídrica. O delineamento experimental adotado foi o de blocos ao acaso em

esquema fatorial 3×4 , constituídos por três níveis de irrigação [100% da capacidade de retenção de água do solo (controle), 50% do controle (estresse moderado) e 25% do controle (estresse severo)] e por quatro tratamentos de inoculação [controle (sem inoculação), inoculação com *B. japonicum*, inoculação com *A. brasilense* e coinoculação das sementes com *B. japonicum* e *A. brasilense*, com quatro repetições. A restrição hídrica foi imposta no início do aparecimento do ginóforo, aos 40 dias após a emergência das plantas, por um período de 18 dias. As plantas expostas as condições de restrição hídrica severa tiveram redução de a altura da planta (32%), área foliar (44%), volume radicular (47%), matéria seca da parte aérea (35%) e na matéria seca das raízes (37%) quando comparadas às plantas em condições controle. A inoculação com *B. japonicum* e *A. brasilense* de forma isolada ou combinada melhorou a integridade da membrana plasmática em 7% e reduziu em 8% as perdas de água das folhas de amendoim expostas à deficiência hídrica. A inoculação com *A. brasilense* de forma isolada ou combinada com *B. japonicum* resultou em maior altura de planta (21%) e maior matéria seca das raízes (23%) quando comparado as plantas não inoculadas sob condições de restrição hídrica severa. Nossos resultados sugerem que inoculação com *B. japonicum* e *A. brasilense* de forma isolada ou combinada pode amenizar os efeitos adversos da deficiência hídrica, mantendo o crescimento e o acúmulo de matéria seca das plantas quando expostas à restrição hídrica. Portanto, o uso destas rizobactérias na cultura do amendoim pode ser uma alternativa de manejo em condições de cultivo sujeitas a ocorrência de deficiência hídrica por conferir maior tolerância das plantas à seca.

Palavras-chave: bactéria diazotrófica, fixação biológica de nitrogênio; rizobactéria; restrição hídrica.

Abstract

The use of growth-promoting rhizobacteria can be a management strategy to mitigate the effects of water deficiency on plant growth and development by modifying physiological metabolism and promoting greater drought tolerance. This study aimed to investigate the effects of seed inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense* alone and combined on the growth and induction of tolerance of peanut plants (*Arachis hypogaea* L., cv. RUNNER IAC 886) to water restriction. The experimental design adopted was that of random blocks in a 3×4 factorial scheme, consisting of three levels of irrigation [100% of the soil's water retention capacity (control), 50% of the control (moderate stress) and 25% of the control (severe stress)] and by four inoculation treatments [control (without inoculation), inoculation with *B. japonicum*, inoculation with *A. brasilense* and seed co-inoculation with *B.*

japonicum and *A. brasilense*, with four replications. Water restriction was imposed at the beginning of the appearance of the gynophore, 40 days after the emergence of the plants, for a period of 18 days. Plants exposed to conditions of severe water restriction reduced plant height (32%), leaf area (44%), root volume (47%), shoot dry matter (35%) and root dry matter (37%) when compared to plants under control conditions. After 18 days of exposure of the plants to water restriction, the relative water content, membrane integrity, plant height, leaf area, root volume and dry matter of shoots and roots were measured. Inoculation with *B. japonicum* and *A. brasilense* alone or in combination improved the cell membrane integrity by 7% and reduced the water losses of peanut leaves exposed to water deficiency by 8%. Inoculation with *A. brasilense* alone or in combination with *B. japonicum* resulted in higher plant height (21%) and higher root dry matter (23%) when compared to plants not inoculated under severe water restriction conditions. Our results suggest that inoculation with *B. japonicum* and *A. brasilense* in isolation or in combination can mitigate the adverse effects of water deficiency, maintaining the growth and dry matter accumulation of peanut plants when exposed to water restriction. Therefore, the use of these rhizobacteria in the peanut cropping can be an alternative of management in conditions subject to the occurrence of water deficiency to confer greater tolerance of the plants to drought.

Keywords: diazotrophic bacteria, biological nitrogen fixation; rhizobacteria; water restriction.

Resumen

El uso de rizobacterias que promueven el crecimiento puede ser una estrategia de manejo para mitigar los efectos de la deficiencia de agua en el crecimiento y desarrollo de las plantas al modificar el metabolismo fisiológico y promover una mayor tolerancia a la sequía. Este estudio tuvo como objetivo investigar los efectos de la inoculación de semillas con *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense* de forma aislada y combinada sobre el crecimiento y la inducción de tolerancia de las plantas de maní (*Arachis hypogaea* L., cv. RUNNER IAC 886) a la restricción de agua. El diseño experimental adoptado fue el de bloques al azar en un esquema factorial 3×4 , que consta de tres niveles de riego [100% de la capacidad de retención de agua del suelo (control), 50% del control (estrés moderado) y 25% del control (estrés severo)] y mediante cuatro tratamientos de inoculación [control (sin inoculación), inoculación con *B. japonicum*, inoculación con *A. brasilense* y co-inoculación de semillas con *B. japonicum* y *A. brasilense*, con cuatro repeticiones. La restricción de agua se impuso, 40 días después de la aparición de las plantas, durante un período de 18 días. Las

plantas expuestas a condiciones de restricción severa del agua tuvieron una reducción en la altura de la planta (32%), el área de la hoja (44%), el volumen de la raíz (47%), la materia seca del brote (35%) y la materia seca (37%) en comparación con las plantas en condiciones de control. La inoculación con *B. japonicum* y *A. brasilense* solo o en combinación mejoró la integridad de la membrana plasmática en 7% y redujo en 8% las pérdidas de agua de las hojas de maní expuestas a las condiciones severas de deficiencia de agua. La inoculación con *A. brasilense* sola o en combinación con *B. japonicum* dio como resultado una mayor altura de la planta (21%) y mayor materia seca de la raíz (23%) en comparación con las plantas no inoculadas en condiciones severas de restricción de agua. Nuestros resultados sugieren que la inoculación con *B. japonicum* y *A. brasilense* de forma aislada o combinada puede mitigar los efectos adversos de la deficiencia de agua, manteniendo el crecimiento y la acumulación de materia seca de las plantas cuando se expone a la restricción de agua. Por lo tanto, el uso de estas rizobacterias en el cultivo de maní puede ser una alternativa para el manejo en condiciones de cultivo sujetas a la deficiencia de agua, ya que proporciona una mayor tolerancia de las plantas a la sequía.

Palabras clave: bacteria diazotrófica, fijación biológica de nitrógeno, rizobacteria, restricción de agua.

1. Introdução

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) é uma das principais culturas oleaginosas do mundo. O Brasil é o segundo maior produtor e exportador de amendoim da América Latina com 470 mil toneladas, superado apenas pela Argentina, que produz anualmente cerca de 1,0 milhão de toneladas (Conab, 2020). O cultivo do amendoim tem sido uma excelente alternativa de diversificação para os agricultores familiares, especialmente devido à suas múltiplas utilidades e alto valor energético e nutricional (Nakagawa e Rosolem, 2011). No entanto, a ocorrência de deficiência hídrica tem frequentemente limitado o desenvolvimento e a produtividade da cultura em todas as regiões produtoras do Brasil (Ferrari-Neto et al., 2012; Pereira et al., 2012; Martins, 2013). Portanto, estudos que visam buscar estratégias de manejo que amenizam os efeitos prejudiciais da restrição hídrica são importantes para pesquisa agrícola.

Em condições de deficiência hídrica, as plantas apresentam uma série de alterações morfofisiológicas, tais como redução da área foliar, da condutância estomática, da taxa de transpiração, da taxa fotossintética e redução da taxa de crescimento relativo (Vieira et al.,

2017), além, da modificação da atividade de enzimas do metabolismo do nitrogênio e carbono e mudanças nos níveis de antioxidantes (Mantovani et al., 2015). Algumas destas respostas fazem parte de estratégias que visam reduzir os efeitos deletérios da restrição hídrica, constituindo, portanto, mecanismos de tolerância à seca.

As plantas desenvolveram mecanismos diferenciados de tolerância à seca. Estes mecanismos visam manter o crescimento e o desenvolvimento das plantas em condições de baixa disponibilidade de água no solo. Muitos fatores podem afetar as respostas das plantas à deficiência hídrica, como genótipo, espécie de planta, estágio de desenvolvimento da planta, severidade e duração da restrição hídrica, (Patanè et al., 2013; Naghavi et al., 2013; Petrovic et al., 2016), dentre outros fatores ambientais. Os estágios de desenvolvimento do amendoim mais sensíveis à deficiência hídrica são as fases de emergência e formação de vagem (frutificação) (Ferrari-Neto et al., 2012). A ocorrência de restrição hídrica durante estes dois períodos de desenvolvimento resulta, respectivamente, na falha do estabelecimento do estande de plantas e na redução do enchimento dos grãos, o que compromete o rendimento de vagens da cultura (Nakagawa e Rosolem, 2011).

Dentre as estratégias de manejo que podem ser adotadas para amenizar os efeitos adversos da deficiência hídrica, o uso de rizobactérias promotoras de crescimento de planta (RPCP) tem aumentado nos últimos anos (Gusain et al. 2015; Agami et al. 2016; Vurukonda et al., 2016; Silva et al., 2019; Souza et al., 2020). Estas bactérias encontradas na região da rizosfera podem estimular o crescimento das plantas e induzir a resistência das plantas à restrição hídrica por diversos mecanismos. Os mecanismos mais relevantes são a otimização da capacidade de fixação biológica de nitrogênio, aumento na atividade da redutase do nitrato quando crescem endofiticamente nas plantas, a produção de sideróforos e de hormônios vegetais como auxinas, citocininas e giberelinas, solubilização de fosfato e aprimoramento do sistema antioxidante das plantas (Perrig et al., 2007; Hungria et al., 2013; Inagaki et al., 2014; Chibeba et al., 2015; Fukami et al., 2018). As rizobactérias mais estudadas são as pertencente aos gêneros *Rhizobium*, *Pseudomonas* e *Azospirillum* por favorecerem o desenvolvimento das plantas (Hungria e Nogueira, 2013; Agami et al. 2016; Vurukonda et al., 2016; Silva et al., 2017; Silva et al., 2019; Souza et al., 2020), e possuírem potencial de amenizar os efeitos de ambientes desfavoráveis no crescimento das plantas.

Estudos têm reportado que o *Azospirillum brasilense* pode amenizar os efeitos da deficiência hídrica no crescimento das plantas 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 (Fukami et al., 2018). Além disso, nos casos em que o A.

brasiliense tem sido utilizado em associação com o *Bradyrhizobium*, os efeitos benéficos da coinoculação tem sido atribuído a capacidade dessa rizobactéria em produzir hormônios vegetais, que resulta em maior crescimento do sistema radicular, e, portanto, a possibilidade de explorar um volume mais amplo de solo (Bulegon et al., 2014), o que pode aumentar a tolerância das plantas à seca. Silva et al. (2019) reportaram que a coinoculação das plantas de soja com *B. japonicum* and *A. brasilense* aliviou os efeitos adversos da restrição hídrica nas plantas de soja, por melhorar a estabilidade da membrana plasmática, a nodulação das raízes e reduz a taxa de abortamento de flores das plantas expostas à restrição hídrica. No entanto, os efeitos da coinoculação desses rizobactérias na melhoria da tolerância da cultura do amendoim à deficiência hídrica ainda são incipientes e inconclusivas.

Este estudo teve como objetivo investigar os efeitos da inoculação das sementes com *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* de forma isolada e combinada no crescimento e na indução da tolerância das plantas de amendoim (*Arachis hypogaea* L., cv. RUNNER IAC 886) à deficiência hídrica.

2. Material e Métodos

O estudo realizado seguiu a metodologia de pesquisa de campo de natureza qualitativa e quantitativa, como proposto por Pereira et al. (2018). A pesquisa foi realizada em condições de casa de vegetação no Departamento de Produção Vegetal, da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul – UEMS, em Cassilândia, MS (19°05'30" S; 51°48'50" W e altitude de 540 m), no período de outubro de 2017 a fevereiro de 2018. Durante o experimento, as condições ambientais no interior da casa de vegetação foram: temperatura média do ar de 26 °C (± 2 °C) e umidade relativa do ar de 68% (± 6 %).

Foram utilizadas amostras de um Neossolo Quartzarênico Órtico latossólico (NQo), com 130 g kg⁻¹ de argila, 30 g kg⁻¹ de argila e 840 g kg⁻¹ de areia, coletadas na camada de 0–0,20 m de profundidade, em uma área de pastagem nativa sem histórico de cultivo agrícola. As análises químicas foram efetuadas seguindo indicações de Teixeira et al. (2017), e os resultados são apresentados a seguir: pH (CaCl₂) = 4,5, matéria orgânica = 6,5 g dm⁻³, P (Mehlich-1) = 4,8 mg dm⁻³, K = 0,08 cmol_c dm⁻³, Ca = 1,30 cmol_c dm⁻³, Mg = 0,40 cmol_c dm⁻³, H+Al = 3,70 cmol_c dm⁻³, Al = 0,55 cmol_c dm⁻³, CTC = 5,48 cmol_c dm⁻³ e V = 32%. A capacidade de retenção de água do solo sob condições de drenagem livre foi mensurada usando a taxa de decréscimo do teor de água de 0,1 g kg⁻¹ dia⁻¹ como sugerido por Casaroli e Lier (2008), e o valor da capacidade máxima do solo em reter água foi de 210 g kg⁻¹.

A correção da acidez do solo foi realizada com a aplicação de 820 g de calcário por dm^3 de solo (CaO: 28%; MgO: 12%; e, PRNT: 92%), visando elevar a saturação por base à 60% (Sousa e Lobato, 2004). Em seguida, o solo foi homogeneizado, umedecido até alcançar 80% da capacidade de retenção de água e incubado por 40 dias. Decorrido esse período, o solo foi fertilizado com 30 mg dm^{-3} de N (ureia), 250 mg dm^{-3} de P (superfosfato triplo), 100 mg dm^{-3} de K (cloreto de potássio), 15 mg dm^{-3} de S (gesso agrícola), 2 mg dm^{-3} de Cu (sulfato de cobre), 2 mg dm^{-3} de Zn (sulfato de zinco), 1 mg dm^{-3} de Mo (molibdato de amônio) e 1 mg dm^{-3} de B (ácido bórico), transferido para vasos plásticos com capacidade para 12,0 dm^3 e submetido ao cultivo de amendoim. O solo utilizado no estudo não foi previamente esterilizado.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso 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* e *A. brasilense*].

Cada unidade experimental foi constituída por dois vasos, perfazendo um total de 96 vasos. Um dos vasos de cada repetição foi utilizado para as amostragens destrutivas, incluindo a área foliar, e a alocação de matéria seca entre as folhas, hastes e raízes após 18 dias de deficiência hídrica. O outro vaso da repetição foi utilizada para a medição do conteúdo relativo de água nas folhas e extravasamento de eletrólitos das células durante os 18 dias de restrição hídrica e após o período de 3 dias de recuperação das plantas em condições controle com 100% da capacidade de retenção de água.

Sementes de amendoim do cultivar RUNNER IAC 886, de porte rasteiro, ciclo longo de 125 a 140 dias, e massa de 100 grãos de 48–60 g, foram previamente inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* de forma isolada e combinada. A inoculação das sementes com *B. japonicum* foi realizada com o inoculante comercial líquido Simbiose Nod Soja[®] (Simbiose: Agrotecnologia Biológica) contendo as estirpes SEMIA 5079 e SEMIA 5080 [concentração mínima de $7,2 \times 10^9$ unidades formadoras de colônias (UFC) por mL], na dose de 3 mL kg^{-1} de semente. A inoculação de *A. brasilense* foi realizada utilizando o inoculante comercial líquido AzoTotal[®] (Total Biotecnologia) que contém as estirpes AbV5 e AbV6 [concentração mínima de $2,0 \times 10^8$ unidades formadoras de colônias (UFC) por mL], na dose de 4 mL kg^{-1} 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* + 4 mL de inoculante contendo *A. brasilense* para cada quilograma de semente de amendoim. As quantidades de inoculantes utilizadas foram diluídas em uma solução contendo 2 mL kg⁻¹ de semente de aditivo para inoculante Protege[®] TS (Total Biotecnologia) e, então, ambos os produtos (inoculante + aditivo) foram aplicados sobre as sementes. O aditivo para inoculante é constituído de metabólitos ativos de bactérias, complexo de açúcares e biopolímeros encapsulantes e tem a finalidade de melhorar a proteção e a viabilidade das bactérias sobre as sementes.

A semeadura do amendoim foi realizada no dia 26/09/2017, distribuindo-se oito sementes por vaso na profundidade de 4,0 cm, e aos cinco dias após a emergência, realizou-se o desbaste deixando-se duas plantas por vaso. Durante os primeiros 40 dias após a emergência das plantas, todos os tratamentos foram irrigados para manter o conteúdo de água próximo a 100% da capacidade de retenção de água do solo. Posteriormente, no início do aparecimento do ginóforo, a imposição da restrição hídrica (50% e 25% da capacidade de retenção de água do solo) foi realizada por um período de 18 dias. Após este período, as plantas foram reidratadas, ou seja, foi elevado o conteúdo de água do solo à 100% da capacidade de retenção de água, por 3 dias. O teor de água no solo foi monitorado diariamente nos períodos da manhã e da tarde (9:00 e 15:00 horas), com o auxílio de sensores de umidade, instalados no centro dos vasos de cada tratamento, na profundidade de 12 cm.

Aos 1, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias após a imposição da restrição hídrica, e aos 3 dias após a reidratação das plantas de amendoim foram mensurados o conteúdo relativo de água (CRA) das folhas. Aos 18 dias após a imposição da restrição hídrica e aos 3 dias após a reidratação também foram avaliadas a integridade da membrana plasmática, conforme descrito a seguir:

O conteúdo relativo de água da folha (CRA) foi determinado seguindo-se a metodologia proposta por Barrs (1968), com modificações. Foram retirados quinze discos de 8,50 mm de diâmetro, de folhas totalmente expandidas, sempre antes do nascer do sol (pre-dawn), para que a umidade relativa (condições de déficit de pressão de vapor) estivesse uniforme para todas as medidas em todos os dias de avaliação. Os discos foliares foram imediatamente pesados em balança de precisão de 0,0001 g para obtenção da massa fresca (MF). Em seguida, os discos foliares foram acondicionados em placas de Petry com água destilada e mantidos em uma câmara incubadora à temperatura de 25 °C. Após 6 horas, os discos foram novamente pesados, após a retirada do excesso de água superficial com papel toalha, obtendo-se a massa túrgida ou saturada (MT). Por fim, os discos foliares foram colocados em sacos de papel, e acondicionados em estufa de circulação forçada de ar, à temperatura de 65 °C, até atingirem massa constante (24 h). Em seguida, os discos foram

pesados para obtenção da massa seca (MS). O CRA foi definido como a relação entre o conteúdo de água de uma amostra de folha imediatamente após a sua coleta (MF) e o conteúdo de água da mesma amostra após a recuperação total da turgescência (MT), comparativamente a massa seca (MS), sendo determinado pela seguinte equação: $CRA = [(MF - MS) / (MT - MS)] \times 100$.

O índice de integridade das membranas celulares foi mensurado indiretamente por meio do extravasamento de eletrólitos a partir das células utilizando-se a metodologia descrita por Lutts et al. (1996). Foram coletados 20 discos foliares com 8,50 mm de diâmetro, provenientes de folhas totalmente expandidas das duas plantas de cada unidade experimental. Os discos coletados foram lavados duas vezes com água destilada, e em seguida colocados em tubos de ensaio com 30 mL de água destilada, e mantidos em uma câmara incubadora à temperatura de 25 °C, por 6 horas. Posteriormente, procedeu-se a leitura da condutividade elétrica da solução, que foi considerada como sendo a condutividade livre (CL). Os discos foram, então, submetidos ao banho maria a 100 °C por 1 h, e após o resfriamento mensurou-se novamente a condutividade elétrica da solução, que foi denominada como a condutividade total (CT). A porcentagem de integridade da membrana plasmática (PIM) foi calculada de acordo com a seguinte equação: $PIM (\%) = [1 - (CL/CT) \times 100]$.

Após os 18 dias de exposição das plantas de amendoim a deficiência hídrica foram determinadas as seguintes características morfológicas: altura de planta (AP), área foliar (AF), volume radicular (VR), matéria seca da parte aérea (MSPA), das raízes (MSR) e total (MST). A área foliar (AF) foi determinada seguindo metodologia proposta por Benincasa (2003), com modificações. Após a separação de todas as folhas das duas plantas do vaso, foram retirados 30 discos foliares de área conhecida de 2,0 × 2,0 cm (4,0 cm²), que foi considerada a área foliar da amostra (AF_{Amostra}). Em seguida, após a secagem em estufa de circulação forçada de ar, à temperatura de 65 °C, até atingirem massa constante, foi determinada a massa seca da amostra (MS_{Amostra}) e a massa seca das folhas (MSF). A área foliar total (AF) foi obtida através da seguinte equação: $AF = [(AF_{Amostra} \times MSF) / MS_{Amostra}]$. O volume radicular (VR) foi determinado pelo método de deslocamento de água, utilizando uma proveta de 100 mL graduada em mililitros (mL). O sistema radicular e a parte aérea (folhas e hastes) foram separados, secados em estufa à 65 °C, até massa constante, e então pesados em balança semianalítica, para a determinação da matéria seca, em gramas, das raízes (MSR) e da parte aérea (MSPA).

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e as médias dos fatores a inoculação e nível de restrição hídrica foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de

5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software Sisvar[®] versão 5.6 para Windows (Ferreira, 2014). Os gráficos foram elaborados por meio do pacote estatístico do Microsoft Office Excel[®] 2016 (Microsoft Office 365TM).

3. Resultados e Discussão

A inoculação com *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* de forma isolada ou combinada não afetou significativamente ($p > 0,05$) o conteúdo relativo de água (CRA) das folhas de amendoim até o 9º dia de exposição das plantas à deficiência hídrica (Tabela 1). Aos 12, 15 e 18 dias de restrição hídrica, as plantas coinoculadas com *B. japonicum* e *A. brasilense* apresentaram maior CRA quando comparadas às plantas não inoculadas (Tabela 1). Estes resultados indicam que a coinoculação das sementes com *B. japonicum* e *A. brasilense* amenizou a perda de água das folhas durante o período de exposição das plantas à deficiência hídrica. Esse aumento no CRA pode ser devido ao efeito benéfico das rizobactérias promotoras de crescimento de planta (RPCP) na melhoria do status hídrico da planta em condições de restrição hídrica, conforme reportado em outras culturas. A inoculação de *A. brasilense* em plantas de trigo (*Triticum aestivum*) expostas à deficiência hídrica induziu o aumento do conteúdo relativo de água das folhas, o que foi atribuído à produção de hormônios vegetais como a auxina por esta rizobactéria que favoreceu o desenvolvimento do sistema radicular. De acordo com Arzanesh et al. (2011), o aumento na síntese de auxinas promovido pelo *A. brasilense* pode melhorar o crescimento das raízes e induz a formação de raízes laterais, aumentando, assim, a capacidade de absorção de água e de nutrientes pelas plantas em condições de restrição hídrica. Curá et al. (2017) também mostraram que plantas de milho (*Zea mays*) inoculadas com *A. brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* exibiram maior CRA das folhas, o que foi atribuído a melhoria do sistema de ajustamento osmótico das plantas expostas às condições de restrição hídrica.

O CRA das plantas com o manejo de irrigação de 100% da capacidade de retenção de água do solo (controle) se manteve constante durante todo o período de avaliação, com valores variando de 90 a 92% (Tabela 1). Os níveis de restrição hídrica influenciaram significativamente ($p < 0,05$) o CRA a partir do 3º dia de exposição das plantas à deficiência hídrica. A restrição hídrica resultou na diminuição do CRA das plantas de amendoim, com valores atingindo 85% a 76% (estresse moderado) e 78% e 50% (estresse severo) aos 3 e 18 dias, respectivamente (Tabela 1). Estes resultados devem-se à menor disponibilidade de água no solo nestes regimes de irrigação. A redução de 42% do CRA após 18 dias de exposição das

plantas à restrição hídrica severa resultou em diminuição da turgescência, clorose generalizada, especialmente das folhas velhas. Após a reidratação das plantas, o CRA alcançou valores semelhantes às plantas do tratamento controle, restaurando o potencial hídrico e a turgescência das folhas (Tabela 1). A deficiência hídrica afeta adversamente muitos processos fisiológicos nas plantas, e a perda de turgescência em decorrência da diminuição do CRA é um dos primeiros efeitos adversos da ocorrência da deficiência hídrica (Taiz et al., 2017).

Tabela 1. Efeitos da inoculação das sementes com *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* de forma isolada ou combinada e dos níveis de restrição hídrica no conteúdo relativo de água das folhas (CRA) de amendoim (*Arachis hypogaea* L., cv. RUNNER IAC 886) durante os 18 dias de exposição das plantas à deficiência hídrica e após 3 dias de reidratação em condições controle com 100% da capacidade de retenção de água do solo. UEMS, Cassilândia-MS, 2018

Causas de variação	Dias após a imposição da restrição hídrica							
	1	3	6	9	12	15	18	21 [†]
Inoculação das sementes								
Controle	88 a	86 a	77 a	74 a	76 b	72 b	72 b	90 a
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	88 a	85 a	80 a	76 a	80 ab	73 b	75 ab	91 a
<i>Azospirillum brasilense</i>	89 a	86 a	80 a	78 a	81 ab	76 a	77 a	90 a
<i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	90 a	85 a	82 a	80 a	83 a	78 a	79 a	90 a
Nível de restrição hídrica								
Controle (100% cc)	91 a	92 a	91 a	92 a	91 a	90 a	92 a	92 a
Moderado (50% cc)	88 a	85 b	79 b	80 b	78 b	79 b	76 b	89 a
Severo (25% cc)	87 a	78 c	70 c	62 c	57 c	53 c	50 c	90 a
CV (%)	5,31	6,28	4,87	6,34	5,86	6,12	7,83	5,61

Média seguida de letra distinta para cada um dos fatores inoculação ou nível de restrição hídrica diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV: coeficiente de variação. † Conteúdo relativo de água das folhas quantificado após três dias de reidratação das plantas.

A inoculação das sementes com *B. japonicum* e *A. brasilense* de forma isolada ou combinada e os níveis de restrição hídrica afetaram significativamente ($p < 0,05$) a porcentagem de integridade da membrana celular das plantas de amendoim (Tabela 2). A inoculação com *B. japonicum* e *A. brasilense* de forma isolada ou combinada resultou na maior porcentagem de integridade da membrana celular quando comparadas às plantas não inoculadas (Tabela 2). Esses resultados indicam que os danos causados às membranas celulares pela restrição hídrica foram reduzidos pela inoculação de *A. brasilense* isolada ou em associação com rizóbio. Resultados semelhantes foram reportados por Abbasi et al. (2013), os quais reportaram que a coinoculação de plantas de soja com *B. japonicum*, *Azotobacter chroococcum* e *A. brasilense* melhorou a integridade da membrana celular quando comparada a plantas não inoculadas e expostas às condições de restrição hídrica. Essa

melhora na estabilidade das membranas celulares das plantas com a inoculação de *A. brasilense* e rizóbio pode ser decorrente da ativação do sistema de defesa antioxidante causado pelas rizobactérias promotoras de crescimento, aumentando a tolerância das plantas à seca, como relatado por Gusain et al. (2015). De acordo com Vurukonda et al. (2016), as alterações mediadas pelas rizobactérias promotoras de crescimento na integridade da membranas celulares são um dos primeiros passos para aumentar a tolerância das plantas às condições de baixa disponibilidade de água no solo.

Tabela 2. Efeitos da inoculação das sementes com *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* de forma isolada ou combinada e dos níveis de restrição hídrica na porcentagem de integridade das membranas plasmáticas das folhas de amendoim (*Arachis hypogaea* L., cv. RUNNER IAC 886) após 18 dias de exposição das plantas à deficiência hídrica e após 3 dias de reidratação em condições controle com 100% da capacidade de retenção de água do solo. UEMS, Cassilândia-MS, 2018

Inoculação das sementes	Nível de restrição hídrica			Média
	Controle (100% cc)	Moderado (50% cc)	Severo (25% cc)	
Após 18 dias de restrição hídrica				
Controle	89,20	79,18	71,12	79,83 b
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	91,32	83,51	77,58	84,10 a
<i>Azospirillum brasilense</i>	93,10	84,62	79,61	85,78 a
<i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	93,25	85,48	83,42	87,38 a
Média	91,72 A	83,20 B	77,93 C	
CV (%)	9,81			
Após 3 dias de reidratação das plantas				
Controle	89,08	81,78	78,78	83,21 b
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	89,49	88,10	86,38	88,00 a
<i>Azospirillum brasilense</i>	90,72	89,36	89,48	89,85 a
<i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	90,10	90,70	91,32	90,71 a
Média	89,85 A	87,48 B	86,49 B	
CV (%)	8,34			

Média seguida de letra distinta, minúscula na coluna, ou letra maiúscula da linha diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV: coeficiente de variação.

O aumento do nível de restrição hídrica resultou na redução significativa da porcentagem de integridade da membrana (Tabela 2). A menor integridade das membranas celulares observada nas plantas de amendoim expostas à restrição hídrica moderada e severa indica que houve aumento do dano nas membranas celulares. De acordo com Pimentel (2004), a exposição das plantas as condições de restrição hídrica resulta no aumento da liberação de eletrólitos através das membranas celulares. Uma das principais funções da membrana plasmática é regular a permeabilidade, e quando a mesma sofre algum dano físico

ou químico essa permeabilidade é perdida, ocorrendo o extravasamento de eletrólitos (Taiz et al., 2017). Sob condições de estresse hídrico, as plantas produzem espécies reativas de oxigênio (EROs), como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), superóxido (O_2^-) e radicais hidroxila (OH). Essas EROs reagem com proteínas, lipídios e ácido desoxirribonucleico causando danos oxidativo e prejudicando a permeabilidade da membrana celular (Vurukonda et al. 2016). Segundo Taiz et al. (2017), o dano causado pelas EROs na integridade celular é decorrente da peroxidação lipídica das membranas celulares.

A inoculação das sementes com *A. brasilense* de forma isolada e combinada com *B. japonicum* resultou em plantas de amendoim de maior altura em condições de restrição hídrica severa (Figura 1A). Bulegon et al. (2016) também mostraram que a inoculação com *A. brasilense* e *B. japonicum* proporcionou aumento na altura das plantas de soja. Segundo Fukami et al. (2018), o *A. brasilense* tem a capacidade de produzir hormônios vegetais, tais como o ácido indolacético (AIA) e o ácido giberélico, os quais promovem o aumento do crescimento das plantas. No entanto, estes efeitos não foram verificados em condições com 100% da capacidade de retenção de água do solo (controle) e sob restrição hídrica moderada (Figura 1A).

Em condições controle, a área foliar foi significativamente maior nas plantas inoculadas com *A. brasilense*, ao passo que sob restrição hídrica moderada e severa a inoculação de *B. japonicum* de forma isolada ou combinada com *A. brasilense* não afetou significativamente ($p > 0,05$) a área foliar das plantas de amendoim (Figura 1B). O volume radicular das plantas do tratamento controle foi significativamente maior com a coinoculação de *B. japonicum* e *A. brasilense*, ao passo que em condições de restrição hídrica severa o maior volume radicular foi obtido nas plantas inoculadas apenas com *B. japonicum* (Figura 1C). O *A. brasilense* pode promover o crescimento de plantas através da produção de hormônios vegetais, principalmente de 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 (Chibeba et al., 2015; Vurukonda et al., 2016).

A inoculação das sementes com *A. brasilense* de forma isolada e combinada com *B. japonicum* resultou no aumento de 21% da produção de matéria seca da parte aérea das plantas em condições controle e sob restrição hídrica severa (Figura 1D). A inoculação de *A. brasilense* de forma isolada ou combinada com *B. japonicum* resultou em maior produção de matéria seca das raízes em condições de restrição hídrica severa (Figura 1E). As plantas inoculadas com *B. japonicum* e *A. brasilense* de forma isolada ou combinada tiveram maior produção de matéria seca total quando comparadas às plantas não inoculadas e expostas à

restrição hídrica severa (Figura 1F).

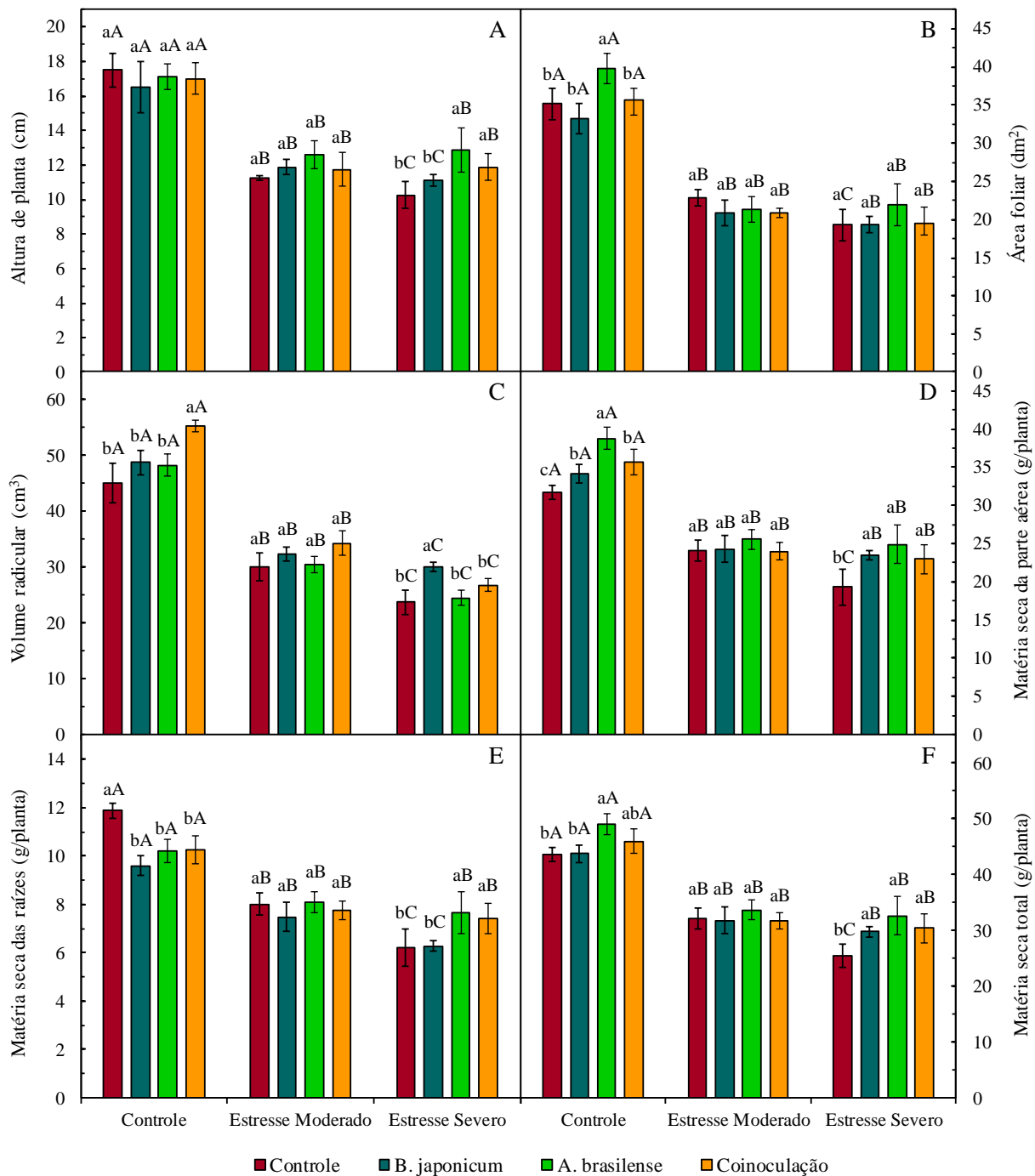


Figura 1. Efeitos da inoculação das sementes com *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* de forma isolada na altura de planta (A), área foliar (B), volume radicular (C), matéria seca da parte aérea (D), das raízes (E) e matéria seca total (F) das plantas de amendoim (*Arachis hypogaea* L., cv. RUNNER IAC 886) em condições com 100% da capacidade de retenção de água do solo (controle) ou em condições de restrição hídrica moderada e severa, respectivamente, com 50% e 25% da capacidade de retenção de água do solo por 18 dias. Barras seguidas por letras distintas, minúsculas para tratamento de inoculação ou letras maiúsculas para os níveis de restrição hídrica mostram diferenças significativas pelo teste Tukey à 5% de probabilidade. Os dados referem-se aos valores médios (n = 4) ± erro padrão da média. UEMS, Cassilândia-MS, 2018.

De maneira geral, esses resultados sugerem que a inoculação de *B. japonicum* e *A. brasilense* de forma isolada ou combinada melhorou o crescimento de plantas de amendoim em condições de deficiência hídrica, resultando na maior produção de matéria seca das plantas. Especificamente, plantas coinoculadas com ambas as rizobactérias e expostas à restrição hídrica severa produziram, em média, 19% a mais de matéria seca da parte aérea, das raízes e total quando comparado as plantas não inoculadas (Figura 1D, E e F). Estes resultados mostram que a coinoculação de *A. brasilense* e rizóbio tem um efeito sinérgico no crescimento do amendoim, como reportado em outras culturas, como soja (Chibeba et al., 2015; Silva et al., 2019) e feijão (Hungria et al., 2013). Em plantas de soja, Bai et al. (2003) também mostraram que a coinoculação de *B. japonicum* e *A. brasilense* proporcionou aumento na área foliar, matéria seca da parte aérea e matéria seca das raízes. O uso de *Azospirillum* pode melhorar a eficácia da inoculação de rizóbios, melhorando a assimilação de N pelas plantas devido à fixação biológica do N₂ atmosférico (Chibeba et al., 2015; Fipke et al., 2016), produzindo hormônios vegetais que estimulam o crescimento das plantas e aprimorando o sistema antioxidativo das plantas em condições ambientais adversas (Curá et al., 2017; Bulegon et al., 2017) entre outros fatores.

A altura da planta, área foliar, volume radicular e a produção de matéria seca das plantas de amendoim foram significativamente menor em condições de restrição hídrica (Figura 1). As plantas expostas à restrição hídrica severa tiveram, em média, redução de 32% na altura de planta, 44% na área foliar, 47% no volume radicular, e redução de 35% e 38% na produção de matéria seca da parte aérea e das raízes, respectivamente, quando comparadas às plantas em condições controle (Figura 1). Estes resultados reportam a resposta das plantas comumente relatada na literatura quando expostas à deficiência hídrica (Zoz et al. 2013; Naveed et al. 2014; Curá et al. 2017). Um dos primeiros processos que é alterado ou afetado em resposta à menor disponibilidade de água no solo é a expansão celular, um processo altamente dependente da turgescência das plantas (Taiz et al., 2017). No entanto, com o avanço da deficiência hídrica, outros processos fisiológicos e bioquímicos da planta são afetados, com efeitos diretos na produção e translocação de fotoassimilados pela planta, redução na taxa de assimilação de carbono e redução da taxa de crescimento relativo (Pinheiro e Chaves 2011). Como resultado desses efeitos, há uma redução na altura da planta, na área foliar e no acúmulo de matéria seca da parte aérea e das raízes. A redução da área foliar ocorre como uma reação de defesa das plantas à restrição hídrica, reduzindo a taxa de transpiração e, portanto, a amenizando a perda de água para a atmosfera (Taiz et al., 2017).

4. Conclusão

Em síntese, os resultados aqui apresentados demonstraram que a inoculação com *B. japonicum* e *A. brasilense* de forma isolada ou combinada pode melhorar a integridade da membrana plasmática e minimizar a perda de água das folhas de amendoim quando expostas à deficiência hídrica. Além disso, a inoculação com *A. brasilense* de forma isolada ou combinada com *B. japonicum* resultou em maior altura de planta e maior matéria seca das raízes sob condições de restrição hídrica severa. Portanto, nossos resultados sugerem que a inoculação com *B. japonicum* e *A. brasilense* de forma isolada ou combinada pode amenizar os efeitos adversos da deficiência hídrica, mantendo o crescimento e o acúmulo de matéria seca das plantas quando expostas à restrição hídrica em condições de casa de vegetação. Desta forma, importantes contribuições do uso de tecnologias consideradas limpas e de baixo custo estão sendo disponibilizadas aos produtores de amendoim da região do Cerrado. No entanto, os efeitos benéficos do uso da coinoculação de bactérias do gênero *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* na cultura do amendoim em condições do Cerrado devem ser confirmados com a realização de novos estudos em condições de campo.

Referências

Abbasi, S.; Zahedi, H.; Sadeghipour, O. & Akbari, R. (2013). Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on physiological parameters and nitrogen content of soybean grown under different irrigation regimes. *Research on Crops*, 14(3), 798-803.

Agami, R. A.; Medani, R. A.; Abd El-Mola, I. A. & Taha, R. S. (2016). Exogenous application with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) or proline induces stress tolerance in basil plants (*Ocimum basilicum* L.) exposed to water stress. *International Journal of Environmental & Agriculture Research*, 2(5),78-92.

Arzanes, M. H.; Alikhani, H. A.; Khavazi, K.; Rahimian, H. A. & Miransari, M. (2011). Wheat (*Triticum aestivum* L.) growth enhancement by *Azospirillum* sp. under drought stress. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(2),197-205.

Bai, Y.; Zhou-Xiao, M. & Smith, D. L. (2003). Enhanced soybean plant growth resulting from coinoculation of *Bacillus* strains with *Bradyrhizobium japonicum*. *Crop Science*, 43(5),1774-1781.

Barrs, H. D. (1968). Effect of cycle variations in gas exchange under constant environmental conditions on the ratio of transpiration to net photosynthesis. *Physiologia Plantarum*, 21(5),918-929.

Benincasa, M. P. M. (2003). *Análise de crescimento de plantas: noções básicas*. Jaboticabal: FUNEP.

Bulegon, L. G.; Rampim, L.; Klein, J.; Kestring, D.; Guimarães, V. F.; Battistus, A. G. & Inagaki, A. M. (2016). Componentes de produção e produtividade da cultura da soja submetida à inoculação de *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*. *Terra Latinoamericana*, 34(2),169-176.

Bulegon, L. G.; Klein, J.; Rampim, L.; Guimarães, V. F.; Battistus, A. G. & Kestring, D. (2014) Desenvolvimento inicial de plântulas de soja inoculadas e co-inoculadas com *Azospirillum brasilense* e *Bradyrhizobium japonicum*. *Journal of Agronomic Sciences*, 3(1),26-37.

Bulegon, L. G.; Guimarães, V. F.; Klein, J.; Battistus, A. G.; Inagaki, A. M.; Offmann, L. C. & Souza, A. K. P. (2017) Enzymatic activity, gas exchange and production of soybean co-inoculated with *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense*. *Australian Journal of Crop Science*, 11(7),888-896.

Casaroli, D. & Lier, Q. J. (2008) Critérios para determinação da capacidade de vaso. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 32(1),59-66.

Chibeba, A. M.; Guimarães, M. F.; Brito, O. R.; Nogueira, M. A.; Araujo, R. S. & Hungria, M. (2015). Co-inoculation of soybean with *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* promotes early nodulation. *American Journal of Plant Sciences*, 6(10),641-1649.

Companhia Nacional de Abastecimento - CONAB. (2020). *Levantamento da safra 2019/2020: grãos*. Brasília: Conab.

Curá, J. A.; Franz, D. R.; Filosofía, J. E.; Balestrasse, K. B. |& Burgueño, L. E. (2017). Inoculation with *Azospirillum* sp. and *Herbaspirillum* sp. bacteria increases the tolerance of maize to drought stress. *Microorganisms*, 5(3),e41.

Ferreira, D. F. (2014). Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. *Ciência e Agrotecnologia*, 38(2),109-112 .

Fipke, G. M.; Conceição, G. M.; Grando, L. F.; Teleken, L.; Nunes, R. L.; Ubirajara, R. & Martin, T. N. (2016). Co-inoculation with diazotrophic bacteria in soybeans associated to urea topdressing. *Ciência e Agrotecnologia*, 40(5),522-533.

Ferrari-Neto, J.; Costa, C. H. M. & Castro, G. S. A. (2012). Ecofisiologia do amendoim. *Scientia Agraria Paranaensis*, 11(4),1-13.

Fukami, J.; Cerezini, P. & Hungria, M. (2018). *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. *AMB Express*, 8(73),1-12.

Gusain, Y. S.; Singh, U. S. & Sharma, A. K. (2015). Bacterial mediated amelioration of drought stress in drought tolerant and susceptible cultivars of rice (*Oryza sativa* L.). *African Journal of Biotechnology*, 14(9),764-773.

Hungria, M.; Nogueira, M. A. (2013). Efeitos da co-inoculação. *Cultivar Grandes Culturas*, 170(1),40-41.

Hungria, M.; Nogueira, M. A. & Araujo, R. S. (2013). Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. *Biology Fertility of Soils*, 49(7),791-801.

Inagaki, A. M.; Guimarães, V. F.; Rodrigues, L. F. O. S.; Silva, M. B.; Diamante, M. S.; Rampim, L.; Mioranza, T. M. & Duarte-Júnior, J. B. (2014). Phosphorus fertilization

associated to inoculation of maize with diazotrophic bacteria. *African Journal of Agricultural Research*, 9(48),3480-3487.

Lutts, S.; Kinet, J. M. & Bouharmont, J. (1996). Effects of salt stress on growth, mineral nutrition and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Plant Growth Regulation*, 19(9):207-218.

Mantovani, D.; Veste, M.; Boldt-Burisch, K.; Fritsch, S.; Koning, L.A. & Freese, D. (2015). Carbon allocation, nodulation, and biological nitrogen fixation of black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) under soil water limitation. *Annals of Forest Research*, 58(2),259-274.

Naghavi, M. R.; Pour-Aboughadareh, A. & Khalili, M. (2013). Evaluation of drought tolerance indices for screening some of corn (*Zea mays* L.) cultivars under environmental conditions. *Notulae Scientia Biologicae*, 5(3),388-393.

Nakagawa, J. & Rosolem, C. A. (2011). *O amendoim: Tecnologia de produção*. Botucatu: FEPAF.

Naveed, M.; Hussain, M. B.; Zahir, Z. A.; Mitter, B. & Sessitsch, A. (2014). Drought stress amelioration in wheat through inoculation with *Burkholderia phytofirmans* strain PsJN. *Plant Growth Regulation*, 73(2),121-131.

Patanè, C.; Saita, A. & Sortino, O. (2013). Comparative effects of salt and water stress on seed germination and early embryo growth in two cultivars of sweet sorghum. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 199(1),30-37.

Pereira, J. W. L.; Melo-Filho, P. A.; Albuquerque, M. B.; Nogueira, R. J. M. C. & Santos, R. C. (2012). Mudanças bioquímicas em genótipos de amendoim submetidos a déficit hídrico moderado. *Revista Ciência Agronômica*, 43(4), p. 766-773.

Pereira, A. S.; Shitsuka, D.M.; Parreira, F. J. & Shitsuka, R. (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. [e-book]. Santa Maria. Ed. UAB/NTE/UFSM.

Perrig, D.; Boiero, L.; Masciarelli, O.; Penna, C.; Cassán, F. & Luna, V. (2007). Plant growth promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and their implications for inoculant formulation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 75(5),1143-1150.

Petrović, G.; Jovičić, D.; Nikolić, Z.; Tamindžić, G.; Ignjatov, M.; Milošević, D. & Milošević, B. (2016). Comparative study of drought and salt stress effects on germination and seedling growth of pea. *Genetika*, 48(1),373-381.

Pimentel, C. (2004). *A relação da água com a planta*. Seropédica, EDUR.

Pinheiro, C. & Chaves, M. M. (2011). Photosynthesis and drought: can we make metabolic connections from available data? *Journal of Experimental Botany*, 62(3),869-882.

Martins, R. (2013). *O agronegócio do amendoim no Brasil*. Brasília: Embrapa, 585 p.

Silva, E. R.; Busch, A.; Zuffo, A. M. & Steiner, F. (2017). Coinoculação de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* em sementes de amendoim de diferentes tamanhos. *Revista de Agricultura Neotropical*, 4(4),93-102.

Silva, E. R.; Zoz, J.; Oliveira, C. E. S.; Zuffo, A. M.; Steiner, F.; Zoz, T. & Vendruscolo, E. P. (2019). Can co-inoculation of *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* alleviate adverse effects of drought stress on soybean (*Glycine max* L. Merrill.)? *Archives of Microbiology*, 201(3),325–335.

Sousa, D. M. G. & Lobato, E. (2004). *Cerrado: correção do solo e adubação*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica.

Souza, F. G.; Silva, E. L.S.; Alvarez, R. C. F.; Zanella, M. S.; Lima, S. F. (2020). Inoculação e co-inoculação de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* na cultura da soja. *Research, Society and Development*, 9(6), e170963553.

Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I.M., & Murphy, A. (2017). *Fisiologia e desenvolvimento vegetal*. Porto Alegre: Artmed.

Teixeira, P. C.; Donagemma, G. K.; Fontana, A. & Teixeira, W. G. (2017). *Manual de métodos de análise de solo*. 3ª ed. Brasília, DF: Embrapa Solos.

Vieira, E. A.; Silva, M. G.; Moro, C. F. & Laura, V. A. (2017). Physiological and biochemical changes attenuate the effects of drought on the Cerrado species *Vatairea macrocarpa* (Benth.) Ducke. *Plant Physiology and Biochemistry*, 115(4),472-483.

Vurukonda, S. S. K. P.; Vardharajula, S.; Shrivastava, M. & Skz, A. (2016). Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiological Research*, 184(1),13-24.

Zoz, T.; Steiner, F.; Guimarães, V. F.; Castagnara, D. D.; Meinerz, C. C.; Fey, R. (2013). Peroxidase activity as an indicator of water deficit tolerance in soybean cultivars. *Bioscience Journal*, 29(5),1664-1671.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Gabriela da Silva Freitas – 30%

Giselle Feliciani Barbosa – 20%

Alan Mario Zuffo – 20%

Fábio Steiner – 30%