

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON**

KEROLÉM PRÍCILA SOUSA CARDOSO

**MITIGAÇÃO DE EFEITOS DELETÉRIOS DO ALUMÍNIO TÓXICO POR
BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL NA CULTURA DO
TRIGO [*Triticum aestivum* (L.) Thell]**

MARECHAL CÂNDIDO RONDON – PARANÁ

2021

KEROLÉM PRÍCILA SOUSA CARDOSO

**MITIGAÇÃO DE EFEITOS DELETÉRIOS DO ALUMÍNIO TÓXICO POR
BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL NA CULTURA DO
TRIGO [*Triticum aestivum* (L.) Thell]**

Tese apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, para obtenção do título de Doctor Scientiae.

Orientador: Prof. Dr. Vandeir Francisco Guimarães.

Coorientadores: Prof. Dr. Cândido Ferreira de Oliveira Neto e Prof^a. Dr^a. Maria do Carmo Lana

MARECHAL CÂNDIDO RONDON – PARANÁ

2021

Sm Sousa Cardoso, Kerolém Prícila
MITIGAÇÃO DE EFEITOS DELETÉRIOS DO ALUMÍNIO TÓXICO
POR BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL NA
CULTURA DO TRIGO [*Triticum aestivum* (L.) Thell] /
Kerolém Prícila Sousa Cardoso; orientador Vandeir
Francisco Guimarães; coorientador Cândido Ferreira
de Oliveira Neto. -- Marechal Cândido Rondon, 2021.
85 p.

Tese (Campus de Marechal Cândido Rondon) --
Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de
Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em
Agronomia, 2021.

1. Inoculação. 2. Microrganismos. 3. Rizosfera.
4. Solos ácidos. I. Guimarães, Vandeir Francisco ,
orient. II. Oliveira Neto, Cândido Ferreira de ,
coorient. III. Título.



unioeste

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46

Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>

Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000

Marechal Cândido Rondon - PR.



KEROLÉM PRÍCILA SOUSA CARDOSO

Mitigação de efeitos deletérios do alumínio tóxico por bactérias promotoras de crescimento vegetal na cultura do trigo [*Triticum aestivum* (L.) Thell]

Tese apresentada à distância, de forma síncrona e por videoconferência, conforme Resolução nº 052/2020 – CEPE, ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Doutora em Agronomia, área de concentração Produção Vegetal, linha de pesquisa Sistemas de Produção Vegetal Sustentáveis, APROVADA pela seguinte banca examinadora:

Orientador - Vandeir Francisco Guimarães

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Marechal Cândido Rondon (UNIOESTE)

Paulo Sérgio Rabello de Oliveira

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Marechal Cândido Rondon (UNIOESTE)

Antonio Carlos Torres da Costa

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Marechal Cândido Rondon (UNIOESTE)

Cristine Bastos do Amarante

Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG)

Jeferson Klein

Biogenesis Centro de Pesquisa e Desenvolvimento Ltda.

Fabíola Villa

Coordenadora Especial do Programa de Pós-Graduação em Agronomia

Marechal Cândido Rondon, 31 de maio de 2021

Aos meus amados pais, os quais são meu exemplo de vida e meu porto seguro, a quem devo tudo o que sou e o que conquistei até hoje.

À minha irmã, pelo incentivo e apoio.

Minha vida é nada sem vocês.

DEDICO E OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, pela saúde, proteção e incansáveis bênçãos dadas para que esta conquista fosse realizada e a minha Virgem Santa Maria, por interceder às minhas orações.

Aos meus pais, Marcelo Cardoso e Nazaré Cardoso, pelo exemplo de verdadeiros guerreiros, pelo apoio, todo o amor, incentivo e investimento em minha vida pessoal e carreira profissional, amo-os demais!

A minha irmã, Kamilly Cardoso, pelo apoio, amor e companheirismo. Te amo, minha irmã!!

Ao meu namorado, Rafael Pimentel, pelo amor e carinho dedicados a mim, bem como o apoio, a confiança e a parceria nos meus estudos e na vida.

A todos meus familiares, que sempre me apoiaram e principalmente a minha avó Benedita Cardoso que acreditou em mim e me deu muito apoio e Herminia Miranda (*in memorian*) que não está mais entre nós, no entanto, é um exemplo de mulher guerreira.

A Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), pela possibilidade de realizar o curso de Pós-graduação.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pelo apoio através da concessão da bolsa de estudos.

Ao professor/pesquisador, Dr. Vandeir Francisco Guimarães, pela confiança na realização do trabalho e todo o conhecimento passado.

Ao meu coorientador, Dr. Cândido Ferreira de Oliveira Neto, pela ponte de parcerias e ajuda substancial na pesquisa.

Ao grupo de Estudos de Biodiversidade em Plantas Superiores (EBPS), que possibilitou o espaço para as análises bioquímicas.

Ao museu de pesquisa Emílio Goeldi, no apoio da Dra. Cristine Bastos, que abriram espaço para as análises nutricionais.

A Embrapa Trigo, no apoio do Dr. Ricardo, fornecendo as sementes necessárias para a realização dos experimentos.

A amiga de caminhada, Ana Ecídia Brito por toda ajuda nas análises, pelas risadas, apoio e pela parceria desde a graduação!

A amiga, Tauane que me ajudou inúmeras vezes na condução do experimento e pelas conversas de apoio, bem como a influência maravilhosa na leitura.

Ao grupo de estudos GEFIP, que me acolheram e me ajudaram “pegando no pesado”, e nas conversas direcionando este trabalho para as melhores decisões possíveis.

A todos os amigos, que direta e indiretamente me ajudaram com palavras amigas, incentivos, abraços... muito obrigada por todos que torceram e torcem por mim. Obrigada pelas amizades que pude criar durante esses anos! Cada um tem uma participação especial em minha vida.

Aos meus professores, desde o ensino fundamental até a Pós-Graduação, os quais me formaram para o mercado de trabalho e para a vida. Meu eterno agradecimento a essa profissão maravilhosa que é ser professor.

Como seres humanos, não estamos acima da natureza, somos parte dela. Portanto, quando respeitamos as suas leis e cuidamos das nossas raízes – do nosso mundo interior –, a vida flui suavemente. Se não fazemos isso, viver se torna difícil.

T. Harv Eker

O aprendizado é conhecimento, e conhecimento é liberdade de poder

Altair Ibn-La' Ahad

RESUMO

CARDOSO, Kerolém Prícila Sousa, D. S., Universidade Estadual do Oeste do Paraná, maio de 2021. **Mitigação de efeitos deletérios do alumínio tóxico por bactérias promotoras de crescimento vegetal na cultura do trigo [*Triticum aestivum* (L.) Thell]**. Orientador: Dr. Vandeir Francisco Guimarães. Coorientadores: Dr. Cândido Ferreira de Oliveira Neto e Dr^a. Maria do Carmo Lana.

A solubilidade de alumínio fitotóxico em solos ácidos causa limitações no desempenho das culturas afetando o sistema radicular e posteriormente a parte aérea, com redução dos fatores de crescimento e desenvolvimento da planta. Desse modo, a utilização de bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) tem ganhado destaque pelo seu uso como tecnologia de manejo mais sustentável, favorecendo a busca por estratégias de redução dos efeitos deletérios causados pelo alumínio. Assim, este estudo teve por objetivo avaliar respostas bioquímicas e efeitos fotossintéticos, biométricos e de produção em cultivares de trigo inoculadas com *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* e submetidas a presença de alumínio fitotóxico. O experimento foi conduzido em delineamento de blocos casualizados, em esquema fatorial 3 cultivares de trigo x 4 condições de cultivo, com quatro repetições. Avaliou-se o extravasamento de eletrólitos em tecidos foliares e radiculares, bem como os teores de nitrato, amônio livre, N-aminossolúveis, proteínas solúveis totais, prolina e glicina-betaína. Também foram mensuradas as trocas gasosas e índice Spad, além das variáveis biométricas e componentes da produção. Houve aumento significativo do extravasamento de eletrólitos quando as cultivares foram submetidas ao alumínio, sendo este efeito atenuado pela inoculação das BPCV. Para os teores de nitrato e amônio houve diferença significativa somente entre as cultivares; o teor de proteínas solúveis totais foi reduzido na presença de alumínio e os de N-aminossolúveis não se alteraram. As concentrações de osmólitos compatíveis aumentaram acima de 20% com a inoculação. Houve incremento no desempenho fotossintético, biométrico e de produção quando as cultivares foram inoculadas com as bactérias em solo com presença de alumínio. A inoculação com *Pseudomonas fluorescens* proporcionou melhor atenuação e a cultivar BRS Sanhaço demonstrou melhor posicionamento em solo com a presença de alumínio fitotóxico culminando em redução dos danos fotossintéticos e bioquímicos.

Palavras-chave: Inoculação. Microrganismos. Rizosfera. Solos ácidos

ABSTRACT

CARDOSO, Kerolém Prícila Sousa, D. S., Universidade Estadual do Oeste do Paraná, may 2021. **Mitigation of deleterious effects of toxic aluminum by plant growth promoting bacteria in wheat [*Triticum aestivum* (L.) Thell.** Advisor: Dr. Vandeir Francisco Guimarães. Co-Advisors: Dr. Cândido Ferreira de Oliveira Neto and Dr^a. Maria do Carmo Lana.

The solubility of phytotoxic aluminum in soils causes limitations in crop performance, affecting the root system and later the shoot, with a reduction in plant growth and development factors. Thus, the use of plant growth promoting bacteria (BPCV) has gained prominence due to its use as a more sustainable management technology, favoring the search for reducing the harmful effects caused by aluminum. Thus, this study aimed to evaluate biochemical responses and photosynthetic, biometric and yield effects in wheat cultivars inoculated with *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens* and subjected to the presence of phytotoxic aluminum. The experiment was carried out in a randomized block design, in a factorial arrangement 3 wheat cultivars x 4 growing conditions, with four replications. Electrolyte leakage in leaf and root tissues, as well as the levels of nitrate, free ammonium, N-aminosoluble, total soluble proteins, proline and glycine-betaine are reported. They were also measured as gas exchange and Spad index, in addition to biometric variables and production components. There was a significant increase in electrolyte leakage when the cultivars were subjected to aluminum, this effect being attenuated by the inoculation of BPCV. For the levels of nitrate and ammonium there was a significant difference between the cultivars; the content of total soluble proteins was reduced in the presence of aluminum and those of N-aminosoluble proteins did not change. Compatible osmolyte rules increased above 20% with inoculation. There was an increase in photosynthetic, biometric and production performance when the cultivars were inoculated with bacteria in soil with the presence of aluminum. Inoculation with *Pseudomonas fluorescens* provided the best attenuation and a BRS Sanhaço cultivar better positioning in soil with the presence of phytotoxic aluminum, resulting in a reduction of photosynthetic and biochemical damage.

Keywords: Inoculation. Microorganisms. Rhizosphere. Acidic soils.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	15
2	CAPÍTULO 1: BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL E FITOTOXIDADE POR ALUMÍNIO EM CULTIVARES DE TRIGO	17
2.1	RELAÇÃO DO ALUMÍNIO E SOLOS ÁCIDOS	18
2.2	A CULTURA DO TRIGO E OS EFEITOS DA FITOTOXIDADE DO ALUMÍNIO	21
2.2.1	Mercado mundial e nacional	21
2.2.2	Fitotoxicidade por alumínio em plantas de trigo	21
2.2.3	Mecanismos de tolerância	25
2.2.3.1	Mecanismos de exclusão	27
2.3	BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL	29
2.3.1	Mecanismos de promoção do crescimento vegetal	30
2.3.2	<i>Azospirillum brasilense</i>	34
2.3.3	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	34
2.4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	35
2.5	REFERÊNCIAS	35
3	CAPÍTULO 2: FITOTOXIDADE POR ALUMÍNIO AMENIZADA POR <i>Azospirillum brasilense</i> e <i>Pseudomonas fluorescens</i> EM CULTIVARES DE TRIGO: DINÂMICA FOTOSSINTÉTICA E EFICIÊNCIA AGRONÔMICA	53
3.1	INTRODUÇÃO	54
3.2	MATERIAL E MÉTODOS	55
3.2.1	Delineamento experimental e tratamentos	55
3.2.2	Implantação e condução do experimento	55
3.2.3	Medidas de trocas gasosas e índice SPAD	56
3.2.4	Variáveis biométricas	56
3.2.5	Componentes da produção	57
3.2.6	Análise estatística	57

3.3. RESULTADOS	58
3.3.1 Trocas gasosas e índice SPAD	58
3.3.2 Variáveis biométricas	59
3.3.3 Componentes de produção	62
3.4 DISCUSSÃO	65
3.5 CONCLUSÃO	66
3.6 REFERÊNCIAS	67
4 CAPÍTULO 3: INOCULAÇÃO DE <i>Azospirillum brasilense</i> e <i>Pseudomonas fluorescens</i> INCREMENTA O METABOLISMO DO NITROGÊNIO EM CULTIVARES DE TRIGO SUBMETIDAS A PRESENÇA DE ALUMÍNIO FITOTÓXICO	69
4.1 INTRODUÇÃO	70
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	71
4.2.1 Delineamento experimental e tratamentos.....	71
4.2.2 Implantação e condução do experimento.....	71
4.2.3 Extravasamento de eletrólitos	72
4.2.4 Análises bioquímicas	73
4.2.5 Análise bioquímica das amostras	73
4.2.6 Análise estatística	74
4.3 RESULTADOS	75
4.3.1 Extravasamento de eletrólitos	75
4.3.2 Efeito do Al e da inoculação de BPCV nos teores de nitrato e amônio livre	75
4.3.3 N-aminossolúveis e proteínas solúveis totais.....	76
4.3.4 Efeito da inoculação com BPCV e da presença de Al nos osmólitos compatíveis .	77
4.4 DISCUSSÃO	79
4.4.1 Extravasamento de eletrólitos	79
4.4.2 Efeito do Al e da inoculação de BPCV nos teores de nitrato e amônio livre	79
4.4.3 N-aminossolúveis e proteínas solúveis totais.....	80

4.4.4 Efeito da inoculação com BPCV e da presença de Al nos osmólitos compatíveis .	81
4.5 CONCLUSÃO	82
4.6 REFERÊNCIAS	82
5 CONSIDERAÇÕES GERAIS	88

1 INTRODUÇÃO GERAL

Os solos ácidos são conhecidos e estudados por seu elevado impacto na produção causado pelos efeitos negativos às culturas, tornando-se um grave problema ambiental e econômico (Gupta et al., 2013). Esses efeitos são advindos da redução do potencial hidrogeniônico (pH), que prejudica o crescimento da planta pela própria ação da acidez (H^+) além de diminuir a disponibilidade de nutrientes e aumentar a fitotoxicidade por alumínio (Miguel et al., 2010).

O alumínio (Al) é um dos componentes integrais do solo mineral e o início da acidificação desses solos gera a sua solubilização liberando a forma fitotóxica trivalente (Al^{3+}) (Schmit et al., 2016). Os vegetais sensíveis a este estresse abiótico, respondem de forma imediata sinalizando redução do crescimento radicular, lesões no tecido da raiz, deficiências nutricionais pelo comprometimento da absorção e o conseqüente efeito deletério a parte aérea (Kopittke et al, 2015).

O trigo é um dos cereais mais cultivados no globo, responsável por ocupar grande parte das terras, sua versatilidade faz com que pesquisas busquem formas de adaptar a cultura em diferentes condições de cultivo, porém embora genótipos de trigo tenham sido usados em diferentes programas de melhoramento em todo o mundo (Aguilera et al., 2016) a fim de obter boas fontes de resistência ao Al^{3+} , a produtividade de trigo pode ser reduzida (Ramegowda and Senthil-Kumar 2015).

Neste sentido, estudos são continuamente desenvolvidos a fim de pesquisar os mecanismos utilizados para evitar a fitotoxicidade e determinar cultivares mais resistentes (Portaluppi et al., 2010; Schaich, 2014; Oliveira; Pinto-Maglio, 2017). Investigações de parâmetros fisiológicos, biométricos e bioquímicos são importantes ferramentas para entender de que forma este estresse abiótico afeta os diversos processos bioquímicos e fisiológicos da planta de trigo.

Uma alternativa é a inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) como o *Azospirillum brasilense* e a *Pseudomonas fluorescens*, apresentados como potenciais atenuadores de estresse e estimuladores do crescimento radicular, resultando em uma maior eficiência na absorção dos nutrientes, aumentando o crescimento, desenvolvimento e rendimento de culturas agronomicamente importantes em todo o mundo (Hungria et al., 2010; Ferreira et al., 2013; Kaushal e Wani, 2016; Jamil et al., 2018).

No entanto, poucas investigações foram focadas sobre o efeito da toxicidade do Al em

microrganismos do solo e seus mecanismos de tolerância (Guida et al., 1991). Assim, a melhor compreensão das interações planta-microrganismo poderia contribuir para estratégias mais assertivas de manejo da cultura do trigo. Portanto, este estudo visa testar a seguinte hipótese: a fitotoxidez por alumínio em cultivares de trigo é atenuada pela inoculação de *A. brasilense* e/ou de *P. fluorescens*, com o objetivo de investigar o potencial de atenuação do *A. brasilense* e *P. fluorescens* na fitotoxidez por alumínio em cultivares de trigo.

2 CAPÍTULO 1: BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL E FITOTOXIDADE POR ALUMÍNIO EM CULTIVARES DE TRIGO

Em todo o mundo o solo constitui a base da agricultura e ao mesmo tempo é fator limitante para ela. Isso ocorre devido a sua forte influência no desenvolvimento das culturas, pois sem fertilidade e manejo adequado não se potencializa a produção agrícola. Deste modo, os solos ácidos são estudados como sendo nocivos ao cultivo, já que quase metade das potenciais terras agricultáveis são ácidas no mundo (Aguilera et al., 2017).

Um fator importante para as culturas em solos ácidos é a presença do alumínio (Al), que em sua forma trivalente (Al^{3+}) se torna fitotóxico causando perdas consideráveis na produtividade (He et al., 2019). O Al^{3+} pode afetar vários mecanismos celulares causando danos às raízes com a subsequente interrupção da absorção e mobilização de elementos através das membranas, resultando em baixo crescimento e produtividade da planta (Kochian et al., 2015).

Para tanto, a cultura do trigo é influenciada negativamente quando na presença de níveis tóxicos de alumínio, e embora cultivares resistentes e/ ou tolerantes ao alumínio fitotóxico têm sido desenvolvidas e há recomendações técnicas para a correção da acidez do solo antes da implantação da cultura, muitas vezes a correção não tem sido utilizada de forma e em quantidades corretas (Schorr, 2017).

Assim, buscar alternativas que possibilitem incremento na produtividade e rentabilidade da cultura movimenta a comunidade científica para estudos de materiais e métodos de manejo mais sustentáveis a fim de entender a resposta de cada estresse e o desenvolvimento de estratégias para cada um.

Genótipos tolerantes a Al com um sistema radicular mais profundo pode extrair a níveis satisfatórios não só água, mas também nutrientes (Lynch e Wojciechowski 2015). Em áreas com solos ácidos, os produtores de trigo têm enfrentado desafios de obter genótipos que melhoram a tolerância ao estresse ácido do solo (Navakode et al. 2014), sendo o efluxo ou liberação de ânions malato e citrato dos ápices das raízes o principal mecanismo para tolerância ao Al em trigo (Ryan et al., 2018).

Logo, a inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) tem forte influência nesse processo, em que estudos mostram que essas bactérias promovem potenciais benefícios quando as plantas são submetidas a estresses como fitotoxidade por alumínio, salinidade e seca (Mora et al., 2017; Silambarasan et al., 2019), corroborando em melhor crescimento da planta com raiz mais desenvolvida.

As bactérias do solo são muito importantes nos ciclos biogeoquímicos e têm sido usadas para a produção de safras por décadas, devido às "Interações bacterianas de plantas" na rizosfera serem os determinantes da saúde das plantas e da fertilidade do solo (Farokhzadeh et al., 2020). Vale ressaltar que a interação das BPCV com plantas é uma relação interdependente envolvendo além deles, outros fatores bióticos e abióticos da região da rizosfera (Dutta e Podile 2010).

Dentre essas bactérias, o *Azospirillum brasilense* e a *Pseudomonas fluorescens* se apresentam como alternativas de mitigação dos efeitos deletérios causados por alumínio trivalente em plantas de trigo, o que possibilita ativar mecanismos fisiológicos relacionados a adaptação vegetal, aliando produtividade e sustentabilidade (Silambarasan et al., 2019).

2.1 RELAÇÃO DO ALUMÍNIO E SOLOS ÁCIDOS

A acidez do solo constitui um desafio significativo para a produtividade das culturas e cerca de 50% das terras agricultáveis de todo o mundo estão sob solos ácidos (Meena et al, 2019). Esses solos são predominantes em regiões tropicais e subtropicais, em que muitas vezes ocorre a redução do potencial produtivo das espécies vegetais devido ao desenvolvimento deficiente da raiz resultante da fitotoxicidade por alumínio (Dong et al, 2018).

Os solos são denominados de ácidos em função de seu baixo potencial hidrogeniônico (pH) em água (pH < 5,5), composto por uma complexa mistura de substâncias de reação ácida, como grupos carboxila (-COOH) e hidroxila (-OH) da matéria orgânica, grupos funcionais de óxidos e hidróxidos, bem como íons de alumínio trivalente (Al^{3+}), adsorvidos as cargas negativas dos argilominerais (Delphis et al., 2015). Em geral, o pH da maioria dos solos do Brasil varia entre 3,7 e 5,5, e o alumínio é o cátion predominante em mais de um terço dos solos com ocorrência de pH inferior a 5,6 (Abreu Júnior et al., 2003).

O baixo pH eleva a mobilização de metais tóxicos como o alumínio trivalente, ou seja, mesmo que o alumínio (Al) esteja naturalmente nos solos na forma de silicato ou óxido insolúvel, a redução do pH leva à sua solubilização, principalmente em sua forma fitotóxica na solução do solo (Kochian et al., 2015). Assim, as concentrações elevadas de alumínio podem exercer um estresse considerável na vegetação pela ação fitotóxica.

Dessa forma, ainda que a baixa fertilidade dos solos ácidos envolva deficiências (potássio, fósforo, cálcio, magnésio, molibdênio e boro) e toxidades minerais (alumínio e manganês) (Figura 1), a fitotoxicidade por alumínio se torna fator de grande importância devido a limitação da produção agrícola (Bose et al., 2015). Essa limitação ocorre pelo excesso do

(aluminossilicatos e óxidos de alumínio), porém pode ser encontrado na forma de precipitados ou orgânicos e inorgânicos conjugados e íons moleculares, dependendo do pH do solo (Kisnieriené e Lapeikaité, 2015).

Assim, este metal pode ser encontrado na forma trivalente (Al^{3+}), forma tóxica para as plantas em $\text{pH} < 5$; na forma $\text{Al}(\text{OH})^{2+}$ quando o pH se eleva, sofrendo hidrólise e formando complexos mononucleares; na forma $\text{Al}(\text{OH})^3$ - gibsita - quando o pH neutro predomina, que é praticamente insolúvel no citoplasma da célula ($\text{pH} 7,4$); e o íon aluminato $\text{Al}(\text{OH})^4$, a qual é a forma dominante quando o pH é alcalino ($\text{pH} > 7$) (Nogueirol et al., 2015) (Figura 2).

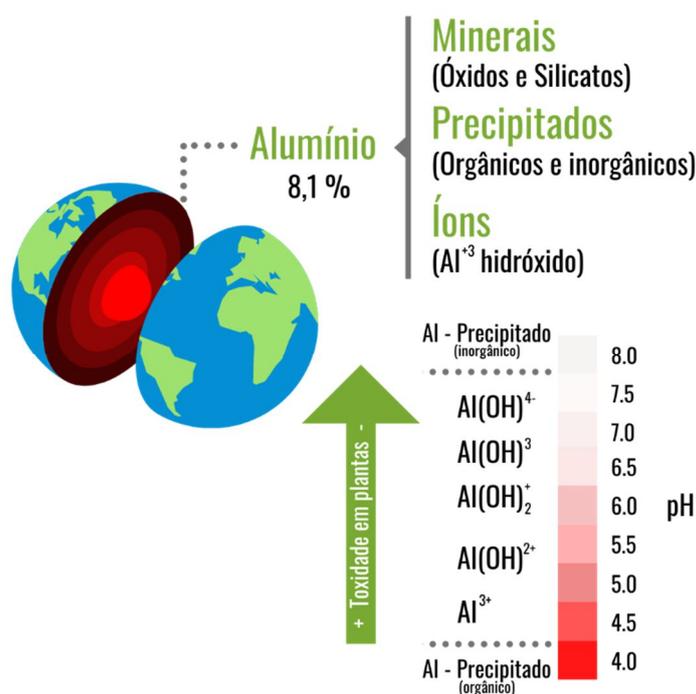


Figura 2 - Formas de alumínio na crosta terrestre.

Adaptado de: Hagvall et al., 2015; Kisnieriené and Lapeikaité, 2015.

A toxicidade do Al afeta além das células das raízes, o fluxo de íons, características da membrana plasmática e a formação da parede celular (Dawood et al. 2012). Dessa forma, se faz de grande importância tornar solos ácidos, aptos a produção agrícola com alternativas de manejo mais sustentável (Nadeem et al, 2020).

2.2 A CULTURA DO TRIGO E OS EFEITOS DA FITOTOXIDADE DO ALUMÍNIO

2.2.1 Mercado mundial e nacional

O trigo [*Triticum aestivum* (L.) Thell] é uma gramínea cultivada mundialmente atingindo a segunda posição de cereal mais produzido no mundo. No mercado internacional, o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) divulgou em fevereiro/ 2020 que a estimativa da área colhida de trigo no mundo para a safra 2019/2020, é de 217,2 milhões de hectares (ha), apresentando um aumento de 0,8%, se comparada à safra anterior (2018/2019).

A área colhida também apresentou aumento, em que a produção estimada teve um incremento de 4,5%, totalizando 764,5 milhões de toneladas no mundo. O Brasil encontra-se na 16ª posição do ranking dos maiores produtores mundiais e de acordo com o USDA estima-se produzir 5,2 milhões de toneladas de trigo.

Nacionalmente, a produção deste cereal está concentrada na região sul, sendo o maior produtor o estado do Paraná, e segundo o Levantamento de Safras da Conab referentes à safra 2019/20, houve redução de 0,09% de área plantada em relação à da safra passada, totalizando 2,04 milhões de ha. Ainda, o total produzido apresentou diminuição de 5,02% e a produtividade de 4,9% (2.526 kg ha⁻¹), isso ocorreu devido à queda de produção de 24% do Paraná pela ocorrência de problemas climáticos no estado (Conab, 2020).

2.2.2 Fitotoxidade por alumínio em plantas de trigo

O trigo pertence à família Poaceae, sendo de ciclo anual, cultivada durante o inverno e a primavera (Embrapa, 2009) com grande importância no aspecto econômico e nutricional da alimentação humana (Maulana et al., 2018). A qualidade dos seus grãos refere-se aos resultados da interação das condições de cultivo (solo, clima, pragas e manejo da cultura) e operações de colheita, bem como secagem e armazenamento dos grãos (Gutkoski; Jacobsen Neto, 2002).

Solo ácidos predominam em áreas de cultivo do trigo, porém vários genótipos têm sido considerados boas fontes de resistência ao Al³⁺ e alguns genótipos têm sido usados em diferentes programas de melhoramento em todo o mundo (Aguilera et al., 2016). Desta forma, embora parte do cultivo de trigo ocorra em solos ácidos em função do material de origem e grau de intemperismo que formam alguns solos da região sul do Brasil, a produtividade de trigo pode ser reduzida (Ramegowda and Senthil-Kumar 2015). Sobre essas condições, o pH em nível

baixo eleva a fitotoxicidade de alumínio, assim, o trigo sofre grande variabilidade de respostas das suas diferentes cultivares a exposição a esse metal (Scheuer, 2011).

Amplamente este elemento é relatado como tóxico em sua forma trivalente para a maioria das plantas (Sade et al., 2016) e seus sintomas são vários, principalmente àqueles associados com mudanças severas no sistema radicular (Kopittke e Blamey, 2016), sendo assim, ele interfere na divisão celular no ápice da raiz e raízes laterais, aumenta a rigidez da parede celular, reduz a replicação de DNA, diminui a respiração das raízes, diminui a síntese e o transporte de citocininas e modifica a estrutura e função das membranas plasmáticas que interferem na captação, transporte e uso de vários elementos (Ca, Mg, P e K), bem como a captação de água (Zhang et al., 2014; Eekhout et al., 2017).

A exposição prolongada ao Al provoca uma série de alterações fisiológicas, celulares, moleculares e morfológicas em muitas espécies de plantas, seja ocorrendo naturalmente, no campo ou cultivado experimentalmente. Entretanto, vale ressaltar que o mecanismo responsável pela toxicidade do Al ainda não é bem conhecido e, portanto, mecanismos variáveis de toxicidade de Al^{3+} foram propostos devido a sua capacidade de interação com uma série de componentes intra e extracelulares (Tabela 1) (Singh et al., 2017).

Tabela 1 - Resumo representando os efeitos prejudiciais do estresse por alumínio em algumas espécies.

Espécie	Efeito prejudicial imposto pelo alumínio na planta	Influência negativa de Al em:
Trigo (<i>Triticum aestivum</i>)	<ul style="list-style-type: none"> A inibição do crescimento da raiz é a principal resposta da toxicidade do alumínio em plantas; 	<ul style="list-style-type: none"> Crescimento da raiz;
Cevada (<i>Hordeum vulgare</i>)	<ul style="list-style-type: none"> Exposição ao alumínio significativamente reduz a atividade mitótica na raiz de várias espécies de plantas, como trigo; 	<ul style="list-style-type: none"> Citoesqueleto da planta (principal alvo de Toxicidade de Al);
Centeio (<i>Secale cereale</i>)		<ul style="list-style-type: none"> Estresse oxidativo;
Sorgo (<i>Sorghum bicolor</i>)	<ul style="list-style-type: none"> A interrupção na homeostase redox é observada em plantas expostas ao Al estresse; 	<ul style="list-style-type: none"> Peroxidação lipídica;
Milho (<i>Zea mays</i>)	<ul style="list-style-type: none"> A exposição ao alumínio inibe o efluxo de íon H^+ da raiz da cevada 	<ul style="list-style-type: none"> Inibição de efluxo de H^+; Atividade mitocondrial reduzida; Status redox alterado

Fonte: Tamás et al., 2005; Li et al., 2008; Singh et al., 2017.

Dessa forma, algumas culturas agrícolas como o trigo, tem sua atividade mitótica reduzida quando exposto ao alumínio nos ápices das raízes, sendo a inibição do alongamento celular o primeiro mecanismo que conduz a inibição do crescimento da raiz (Ciamporová, 2002; Zheng e Yang, 2005).

Estudos realizados demonstraram que em trigo a assimilação de cálcio (Ca) é inibida imediatamente e drasticamente quando exposta ao Al em um genótipo sensível, porém em genótipo tolerante ao Al foi observado quase nenhum efeito na cinética da assimilação de Ca pelas raízes (Huang et al., 1992).

Não obstante, pode-se inferir que a interrupção do transporte de Ca no ápice radicular compõe um mecanismo de fitotoxicidade de Al importante em trigo e a diferente reação na tolerância apresentada pelos dois genótipos pode estar associada com a habilidade do sistema transporte de Ca nas células do ápice radicular resistir aos efeitos fitotóxicos do Al (Singh et al., 2017).

A organização dos componentes do citoesqueleto desempenha grande importância fornecendo um modelo para a divisão celular, biossíntese da parede celular e expansão de uma ponta da raiz em crescimento, o qual considera-se potencial alvo citosólico para toxicidade por Al^{3+} (Singh et al., 2017), ou seja, a parede celular é identificada como o principal alvo da toxicidade deste metal.

Este elemento é predominantemente acumulado no apoplasto da raiz, em que cobre aproximadamente 30% - 90% do Al adquirido total de células periféricas na planta (Rengel e Reid, 1997) que após a absorção é gradualmente translocado para outros tecidos (Marienfeld et al., 1995; Schmohl e Horst, 2000).

É sabido que as células da parede celular desempenham um importante papel na percepção e expressão da toxicidade por Al^{3+} (Yang et al., 2011). Isso se evidencia após estudos de Yang et al. (2008), em que um genótipo sensível de arroz possuía maior conteúdo de Al ligado à parede celular quando comparada com o genótipo tolerante, dessa forma, concluindo que a inibição do crescimento radicular pode ser resultado do dano apoplástico induzido pela ligação do Al.

Além disso, Sun et al. (2016) demonstraram que o grau de metilação da pectina presente nas paredes celulares vegetais é um fator determinante para a ligação do Al aos grupos carboxílicos livres levando a uma maior sensibilidade das raízes do trigo com inibição do crescimento radicular.

O Al^{3+} apresenta grande interação com a superfície da membrana plasmática carregada negativamente, ocorrendo devido suas propriedades físico-químicas (Kinraide et al., 1992,

1994). Isso favorece a ser o primeiro alvo potencial para toxicidade de Al^{3+} dentro do simplasma (Kinraide et al., 1998), já que a membrana plasmática seletivamente permeável forma o limite externo da célula e regula o tráfego molecular.

Dessa forma, pode-se ter alterações das funções usuais da membrana plasmática por indução da peroxidação de lipídios da membrana (Panda et al., 2009). Como o alumínio tem afinidade 560 vezes maior em direção à cabeça de colina de fosfatidilcolina, desloca ativamente outros cátions (Gupta et al., 2013).

Como resultado, com o empacotamento de fosfolipídios e membrana a fluidez é alterada, além de modificar a estrutura de membrana plasmática que influencia o transporte iônico podendo perturbar ainda mais a homeostase celular (Kochian et al., 2005) e a taxa de absorção de vários cátions (Pocherrieder et al., 1995; Mariano e Keltjens, 2005) que pode resultar em desequilíbrios de nutrientes (Pineros e Kochian, 2001).

Ainda, a exposição prolongada ao alumínio trivalente pode levar à alteração do DNA em plantas superiores (Vitorello et al., 2005; Panda et al., 2009), sendo observados vários impactos negativos na parede celular, membrana celular e estrutura dentro do núcleo, afetando a composição do DNA, atividade modelo e estrutura da cromatina (Gupta et al., 2013). A replicação do DNA também é restringida, com aumento na rigidez na dupla hélice (Silva et al., 2000; Vardar e Unal, 2007), em que Foy (1992) e Minocha et al. (1992) evidenciaram inibição da viabilidade celular e divisão celular após exposição de Al (0,2-1,0 mM).

Pouco trabalho tem mostrado a sinalização de Al mediada por mensageiros secundários, porém sabe-se que o estresse desencadeia as vias de transdução de sinal não só a nível de célula, mas da planta inteira também, em que se estuda a existência de uma via em cascata sob estresse de Al levando à expressão de genes que acabariam por conter os efeitos tóxicos impostos pelo Al em vários níveis da planta (Ma et al., 2002).

Os efeitos fitotóxicos do alumínio trivalente provocam também a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) na mitocôndria, cloroplasto e peroxissomo (Kochian et al., 2004), podendo ocasionar danos oxidativos a componentes celulares se a maquinaria antioxidante estiver sobrecarregada (Darko et al., 2004; Sharma e Dubey, 2007).

Assim, o desequilíbrio de ROS e a alteração nas propriedades da parede celular tem sido mencionados como os dois fatores intrínsecos responsáveis pela toxicidade do Al nas plantas (Singh et al., 2017). No entanto, o alumínio em si não é um elemento de transição, mas atua como o catalisador na geração de ROS que ainda levam ao estresse oxidativo nos vegetais (Tamas et al., 2003; Gupta et al., 2013).

Desse modo, um dos sintomas mais óbvios de fitotoxicidade por Al é o desequilíbrio de nutrientes (Silva et al., 2000; Olivares et al., 2009; Gupta et al., 2013). Logo, afeta a aquisição, localização e utilização da maior parte dos nutrientes, como Ca^{2+} (69%), Mg^{2+} , K^{+} (13%) e NH_4^{+} (40%), e ao mesmo tempo facilita o influxo aprimorado de ânions específicos, como nitrato (44%) e fosfato (17%) (Gupta et al., 2013; Rao et al., 2016).

Em estudos sobre nutrição mineral em sorgo (Galvez e Clark, 1991), milho (Durieux et al., 1993), trigo e soja constatou-se a liberação elevada de íon H^{+} . Palove-Balang e Mistrik (2007) observaram que a absorção de nitrato e a diminuição de nitrato pode ser a razão mais provável por trás dos processos responsáveis pelo retardo de crescimento induzido por Al, aos quais mostram que Al pode induzir desequilíbrio em absorção e aquisição de vários elementos minerais.

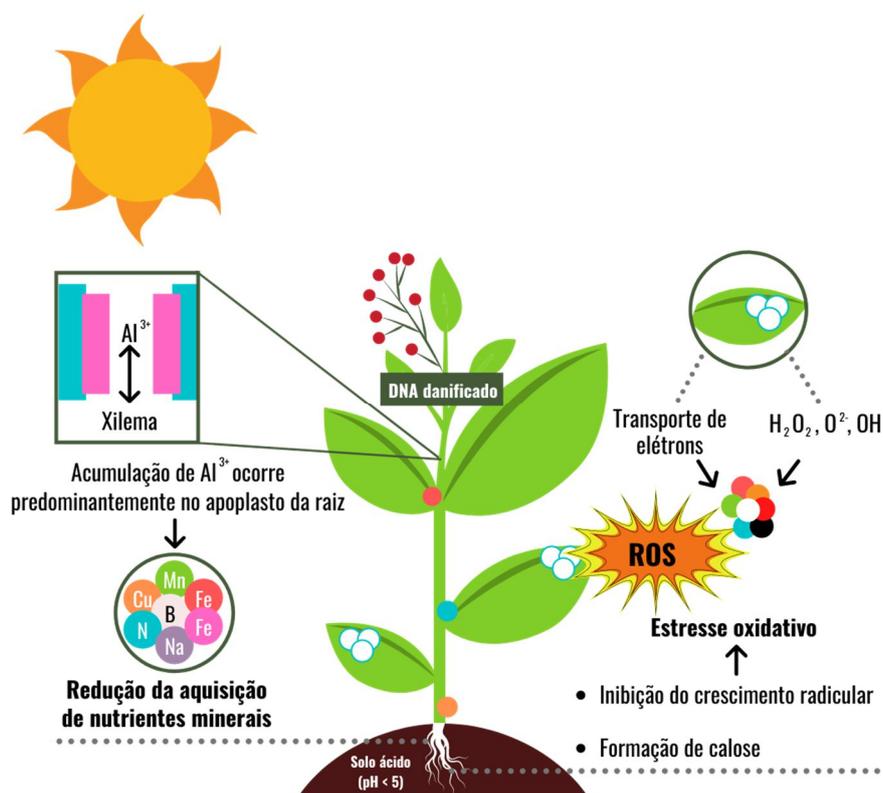


Figura 3 - Resposta integrada da planta aos efeitos adversos do estresse por alumínio.

Adaptado de: Singh et al., 2017.

2.2.3 Mecanismos de tolerância

A partir da fitotoxicidade pelo Al trivalente, o desenvolvimento do mecanismo tolerante é o principal objetivo não só das culturas, mas também da ciência vegetal (Kochian et al., 2005; Gupta et al., 2013). Portanto, a regulação do Al nas vias celulares é um componente importante

da tolerância ao Al em plantas (Liu et al., 2014), em que a manipulação dessa tolerância ajuda a aumentar a produção agrícola em solos ácidos (Ryan et al., 2011).

Vários estudos desenvolvidos apresentam uma confirmação concreta de que genes tolerantes ao Al de algumas culturas como milho, trigo, soja, girassol e feijão comum excluiria Al da raiz por secreção ou liberação de ácidos orgânicos que formam quelatos de Al (Lopez-Bucio et al., 2000; Ma et al., 2000; Feng Li et al., 2000; Ryan et al., 2001; Watanabe e Osaki, 2002).

Para explicar esses mecanismos de resistência, algumas hipóteses são abordadas, sendo divididas em dois grupos: mecanismo de exclusão ou resistência ao alumínio, que ocorre no exterior da célula para evitar ou reduzir a entrada de Al; e mecanismo de exclusão ou de tolerância interna, que compartimentalizam o Al em vacúolos ou os estabilizam em ordem para inibir sua fitotoxicidade (Kochian et al., 2004) (Figura 4).

De acordo com a literatura, esses mecanismos podem imobilizar o Al na parede celular, promover a permeabilidade seletiva da membrana plasmática com formação de uma barreira de pH na rizosfera, efluxo de Al e exsudação de quelantes como ácidos orgânicos e compostos fenólicos (Wenzl et al., 2001; Kochian et al., 2004; Tolrà et al., 2005). Em relação aos mecanismos de tolerância, o Al entraria no simplasto sofrendo imobilização por proteínas quelantes, compartimentalização no vacúolo ou detoxificação pela ação de proteínas cujos genes são responsivos ao Al (Taylor, 1988; Kochian, 1995; Delhaize e Ryan, 1995).

A partir do primeiro estudo da indução da secreção de malato induzido por Al em trigo (Kitagawa et al., 1986), outros grupos de pesquisa identificaram esse tipo de mecanismo em diferentes espécies vegetais. Na cultura do feijão a resistência envolve efluxo de ácido cítrico (Miyasaka et al., 1991), já em trigo está correlacionada com o efluxo de malato (Delhaize et al., 1993) e raízes de milho de genótipo tolerante exsudam mais citrato que as raízes de genótipo sensível (Jorge et al., 2001; Mariano e Keltjens, 2003).

Evidências têm sido relatadas demonstrando que a disponibilidade de certos elementos e a sua adição exógena também evita a toxicidade de Al em plantas. Em culturas como ervilha e arroz, a aplicação de silício (Si) reduziu o teor de Al nas raízes, caule e folhas (Singh et al., 2011; Shen et al., 2014). O magnésio (Mg) também impede a fitotoxicidade por alumínio além de ser cofator de muitas enzimas e um componente central da clorofila, pois compete na absorção e interação com os locais de ligação na parede celular e na membrana plasmática (Bose et al., 2011; Rengel et al., 2015).

A suplementação com boro (B) tem tido importante papel na prevenção da fitotoxicidade por alumínio em um grande número de plantas, em que atua sinergicamente com o cálcio (Ca)

evitando a ligação de Al à parede celular (Hossain et al., 2005; Yu et al., 2009b; Horst et al., 2010). Vale ressaltar que, embora a deficiência de P reduza a toxicidade de Al por mudanças nas propriedades da membrana plasmática e da parede celular, alto teor de P pode aumentar a toxicidade do metal, possivelmente através da precipitação de Al-P na superfície radicular (Maejima et al., 2014; Shao et al., 2015).

Os hormônios também desempenham função importante na tolerância ao estresse por Al, em que estudos mostram a adição exógena de auxinas (ácido indol-acético, AIA) reduzindo o acúmulo de Al no ápice da raiz no trigo (Wang et al., 2013). A associação de micorriza e alguns fatores de estresse abiótico, como seca e hipóxia pode reduzir indiretamente o acúmulo de Al e seu efeito sobre as plantas (Zhang et al., 2016; Ma et al., 2016).

2.2.3.1 Mecanismos de exclusão

De acordo com Yang et al. (2011) um pequeno incremento no pH das rizosferas reduz a solubilidade, atividade, toxicidade e conteúdo de Al em plantas por exclusão do metal no apoplasto da raiz. No trigo, mudanças no pH da rizosfera e a resistência ao estresse devido ao Al são regulados por HC-ATPase da membrana plasmática (Ahn et al., 2002). Contudo, a acidificação da rizosfera aumenta a toxicidade e acumulação de metal em espécies sensíveis ao Al (Houman et al., 2009).

Além da parede celular ser o principal local de ligação do Al também é o alvo de toxicidade e exclusão desse elemento nos vegetais (Horst et al., 2010; Yang J.L. et al., 2011; Kopittke et al., 2015; Liu S. et al., 2016). Estudos fisiológicos, bioquímicos e moleculares têm evidenciado que a modificação da composição da parede celular desempenha um importante papel na resistência ao Al (Levesque-Tremblay et al., 2015; Che et al., 2016; Zhang et al., 2016).

Isso é apresentado em arroz, por exemplo, cereal com maior tolerância para Al (Yang et al., 2008; Famoso et al., 2010), que em suas cultivares, diferentes em sua resistência ao Al, foi observado uma correlação positiva entre conteúdo de polissacarídeo (pectina e hemicelulose) no ápice da raiz e o acúmulo de Al, indicando a importância da composição da parede celular na exclusão de Al (Yang et al., 2008).

Segundo Kochian et al. (2015), o mecanismo de exclusão de Al mais amplamente descrito em plantas é a liberação de AO na raiz. Vale ressaltar que os ânions orgânicos, malato, citrato e oxalato são secretados pela raiz e o alumínio quelado em um complexo não tóxico Al-AO, protegendo o ápice da raiz: malato e citrato onipresentes nas células vegetais

fazendo parte do ácido tricarboxílico (TCA) e o oxalato participando da regulação do Ca e a desintoxicação de metais (Brunner e Sperisen, 2013; Schroeder et al., 2013).

Os compostos fenólicos, flavonóides, succinato, fosfatos e polissacarídeos são outros ligantes liberados na raiz formando uma mucilagem (Huang et al., 2009; Osawa et al., 2011; Kochian et al., 2015), a qual é um material gelatinoso que consiste em polissacarídeos de alto peso molecular que são exsudados das camadas externas do ápice da raiz, desempenhando importante papel como mecanismo de resistência aos metais (Morel et al., 1986).

Devido ao fato de que mucilagem contém ácido urônico e pectina, os grupos carboxila deste ácido e da pectina podem ligar cátions metálicos como Al (Watanabe et al., 2008a, b). Em feijão-caupi, trigo e milho uma forte ligação de mucilagem-Al foi relatada e esta ligação não é tóxica para a planta (Archambault et al., 1996; Li et al., 2000).

2.2.3.2 Mecanismos de tolerância interna

Os mecanismos de exclusão e tolerância ao Al estão intimamente relacionados à atividade mitocondrial e ao transporte de ácidos orgânicos (AO) nas plantas (Nunes-Nesi et al., 2014). O ciclo do ácido tricarboxílico é induzido por alumínio e intervém na biossíntese de AO para quelar Al no apoplasto ou citosol (Han et al., 2009; Trejo-Téllez et al., 2010; Wang et al., 2010).

Hamilton et al. (2001) estudando variedades de trigo tolerantes ao Al, observaram que a exposição ao Al regula positivamente a expressão de ATP mitocondrial sintase e vacuolar HC-ATPase, sugerindo um aumento na atividade metabólica na mitocôndria e mudanças de pH no citosol, assim, o aumento na atividade bioquímica mitocondrial é importante para a síntese de AO sob estresse por Al.

Estudos sugerem que a exsudação de AO é um resultado das reações bioquímicas necessárias para a tolerância ao Al (Zhenget al., 2005; Nunes-Nesi et al., 2014). Ainda, vias metabólicas alternativas de respiração celular também participam da tolerância ao estresse por Al, em que sob condições adversas, onde os carboidratos são escassos, as plantas podem metabolizar proteínas e lipídios como substratos alternativos para respiração (Araújo et al., 2011; Panda et al., 2013).

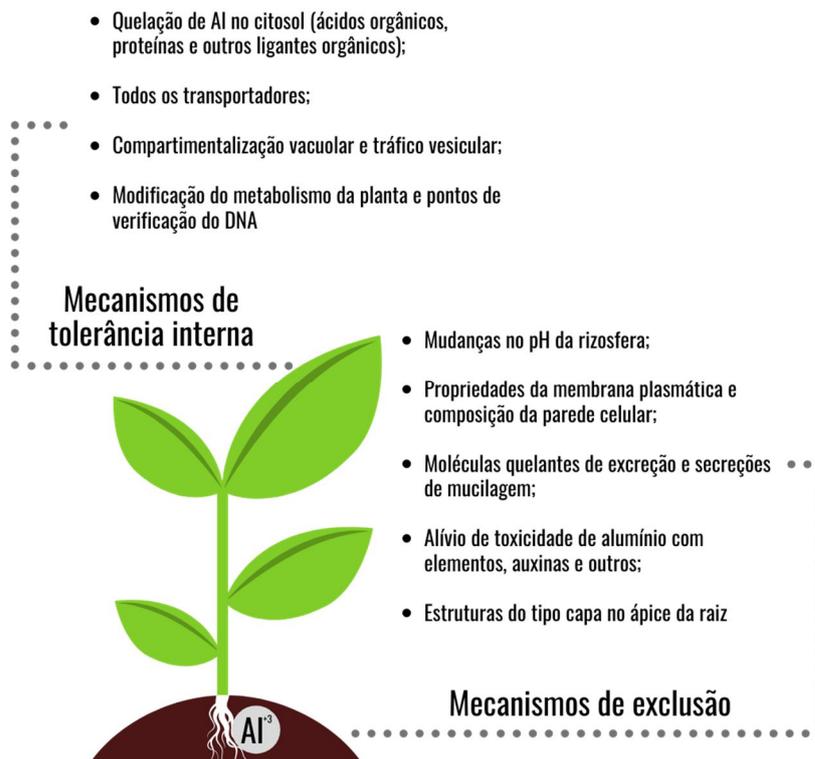


Figura 4 - Mecanismos de tolerância ao estresse pelo alumínio.

Adaptado de: Bojórquez-Quintal et al., 2017.

2.3 BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL

A rizosfera é a zona de solo ao redor da raiz de uma planta, uma área de intensa atividade biológica e química influenciada por compostos exsudado pela raiz e por microorganismos que se alimentam dos compostos (Jha e Saraf, 2015). Nela há uma grande variedade de espécies bacterianas que desempenham funções essenciais para a nutrição, crescimento e supressão de doenças em plantas (Hawkes et al., 2007; Durán et al., 2014).

Os efeitos benéficos no crescimento da planta foram atribuídos à presença de bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV). Essas bactérias pertencem aos gêneros *Acetobacter*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Azoarcus*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Burkholderia*, *Derxia*, *Enterobacter*, *Gluconacetobacter*, *Herbaspirillum*, *Klebsiella*, *Ochrobactrum*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Serratia*, *Stenotrophomonas* e *Zoogloea* e têm sido objeto de extensa pesquisa ao longo dos anos (Babalola, 2010)

Elas são capazes de produzir um efeito positivo na planta após a inoculação, portanto, demonstrando boas habilidades competitivas ao longo das comunidades existentes na rizosfera. Geralmente, cerca de 2–5% de bactérias da rizosfera são BPCV (Antoun e Prevost 2005), sendo

ferramentas potenciais para agricultura. Isso se reflete em estudos com seleção de cepas de *Azospirillum* e *Pseudomonas*, os quais produziram substâncias semelhantes à giberelina em cultura, sendo relatado que elas são importantes para as respostas de crescimento das plantas (Steenhoudt et al., 2000).

Um dos mecanismos pelos quais as bactérias são adsorvidas nas partículas do solo é a simples troca iônica, em que um solo é naturalmente fértil quando os organismos presentes nele estão liberando nutrientes inorgânicos das reservas orgânicas em uma taxa suficiente para sustentar o rápido crescimento da planta (Jha e Saraf, 2015).

Assim é possível observar os efeitos positivos diretos e indiretos no crescimento e rendimento da planta: os efeitos diretos são alcançados facilitando a aquisição de nutrientes na rizosfera (por exemplo, solubilizando o fosfato insolúvel) ou modulando os níveis de hormônio vegetal (Vassilev et al., 2006; Ahmed e Hasnain, 2010); os efeitos indiretos ocorrem reduzindo a invasão de patógenos de plantas por antibiose ou produzindo substâncias quelantes de metais chamadas sideróforos, que dentre outras funções, reduzem a biodisponibilidade de metais pesados que são tóxicos para as plantas (Dimkpa et al., 2009).

Estudos mostram que as BPCV produtoras de sideróforos podem suportar com sucesso o crescimento da planta nos solos contaminados com vários tipos de metais tóxicos (Barzanti et al., 2007; Jiang et al., 2008; Kuffner et al., 2010; Mora et al., 2017), ainda podendo induzir a tolerância da planta contra o estresse por metal devido a indução da expressão de genes relacionados (Sukweenadhi et al., 2015).

Normalmente não há um único mecanismo pelo qual as bactérias promovam o crescimento vegetal, pois eles diferem entre as espécies de plantas. Dessa forma, vale ressaltar que mesmo a agricultura moderna tendo avançado na utilização de várias técnicas e insumos, o olhar assertivo na manutenção da qualidade do solo com o uso de microrganismos em bioprodutos é fundamental para a melhoria da produtividade das culturas.

2.3.1 Mecanismos de promoção do crescimento vegetal

2.3.1.1 Produção de compostos indólicos

A produção de fitohormônios auxina é responsável, em grande parte, pela influência das bactérias na rizosfera das plantas (Spaepen et al., 2007), em que várias bactérias podem produzir compostos indólicos (CI) - ácido indol-3-acético (AIA) – capazes de interações

relevantes entre a planta e a bactéria, variando da patogênese à fitoestimulação (Spaepen et al., 2007).

Isso permite uma ampla distribuição de produção de CI entre bactérias associadas a plantas e a síntese desses compostos depende da presença de precursores em exsudatos radiculares, que entre eles, o L-triptofano tem sido identificado como o principal precursor para a rota de biossíntese de compostos indólicos em bactérias (Souza et al., 2015).

Para a produção de AIA em *Azospirillum brasilense*, tem sido descrita pelo menos três vias de biossíntese: duas dependentes de L-triptofano (ácido indol-3-pirúvico e vias indol-acetoamida) e uma independente de L-triptofano (Prinsen et al., 1993), com o indol-3-pirúvico via ácida como a mais importante entre elas (Spaepen et al., 2008).

Além de sintetizar, os microrganismos do solo podem catabolizar AIA, como em cepas de *Pseudomonas*, que usam AIA como única fonte de carbono (C), nitrogênio (N) e energia (Jensen et al., 1995) e ainda, podem minimizar os efeitos negativos de altas concentrações de AIA produzido por bactéria patogênica (Baudoin et al., 2010). Desta forma, microorganismos que catabolizam AIA também podem afetar positivamente o crescimento das plantas e prevenir o ataque de patógenos (Leveau e Lindow, 2005).

2.3.1.2 Produção de sideróforos

Os sideróforos são moléculas de baixa massa molecular e alta especificidade e afinidade para quelação ou ligação com férrico (Fe^{3+}), seguido pelo transporte e deposição de ferro (Fe) dentro das células bacterianas (Neilands, 1995; Krewulak e Vogel, 2008). Vários estudos têm mostrado que eles são amplamente produzidos por cepas bacterianas associadas a plantas (Ambrosini *et al.*, 2012; Souza *et al.*, 2013; Souza *et al.*, 2014).

Isso infere que os microrganismos podem desenvolver estratégias ativas de absorção de Fe, superando a limitação nutricional desse nutriente usando agentes quelantes: os sideróforos. Uma vez que o Fe é um micronutriente essencial para plantas e microorganismos devido estar envolvido em vários importantes processos como fotossíntese, respiração, clorofila e biossíntese (Kobayashi e Nishizawa, 2012), em solos anaeróbicos e ácidos, pode ocorrer a toxicidade de ferro (Stein et al., 2009) e em condições aeróbicas, a solubilidade de ferro é baixa, limitando este nutriente para diferentes formas de vida (Lemanceau et al., 2009).

Para tanto, a excreção de sideróforos pelas bactérias pode estimular o crescimento da planta, melhorando assim a nutrição (efeito direto) ou inibindo o estabelecimento de

fitopatógenos (efeito indireto) (Dimkpa et al., 2009). Embora haja estudos mais esporádicos sobre o papel de bactérias endofíticas produtoras de sideróforos, a capacidade de produzir sideróforos confere vantagens competitivas a elas a fim de que colonizem tecidos vegetais (Loaces et al., 2011).

2.3.1.3 Solubilização de fosfato

Solubilizadores de fosfato como bactérias e fungos constituem aproximadamente 1-50% e 0,1-0,5%, respectivamente, da população total de microrganismos cultiváveis no solo (Chabot et al., 1993; Khan et al., 2009). Pesquisas têm sido direcionadas a solubilização de fosfatos inorgânicos, em que essas bactérias solubilizam fosfatos inorgânicos no solo através da produção de ácidos orgânicos e sideróforos (Rodríguez et al., 2006, Sharma et al., 2013).

O fósforo (P) é um nutriente essencial para as plantas, estudado como um componente estrutural de ácidos nucleicos, fosfolipídios e adenosina trifosfato (ATP), sendo nutriente-chave das vias metabólicas e bioquímicas (Richardson e Simpson, 2011). Porém, observa-se que grande parte deste nutriente se encontra em formas insolúveis e, conseqüentemente, não está disponível para a nutrição vegetal (Souza et al, 2015).

Embora baixos níveis de P refletem a alta reatividade de fosfato com outros componentes solúveis (Khan et al., 2009), como alumínio em solos ácidos ($\text{pH} < 5$) e cálcio em solos alcalinos ($\text{pH} > 7$) (Holford, 1997; McLaughlin et al., 2011), os microrganismos podem solubilizar substâncias inorgânicas como fosfatos (Rodríguez e Fraga, 1999) devido a produção de ácidos orgânicos, particularmente glucônico e carboxílico, além disso, Qin et al. (2011) sugeriram que a capacidade do rizóbio de solubilizar fosfato inorgânico está associado à rizosfera acidificação. Portanto, a disponibilidade de P depende na solubilidade deste elemento, que pode ser influenciada pela atividade das raízes das plantas com microrganismos no solo.

2.3.1.4 Atividade ACC desaminase

A atividade da enzima bacteriana 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) tem sido estudada como um mecanismo para reduzir teores de etileno nas plantas (Farajzadeh et al., 2012), pois sob estresses abióticos e bióticos a produção endógena de etileno é acelerada afetando negativamente o crescimento das raízes e, conseqüentemente, o crescimento da planta como um todo (Jalili et al., 2009).

Este hormônio é um gás que atua em baixas concentrações como regulador do crescimento das plantas e também como um fitohormônio de estresse, sendo o ACC precursor imediato da biossíntese de etileno em plantas superiores (Saleem et al., 2007). A ACC desaminase regula essa produção de etileno nas plantas metabolizando ACC em α -cetobutírico ácido e amônia (Arshad et al., 2007).

Portanto, uma quantidade significativa de ACC vegetal pode ser excretada a partir das raízes da planta e posteriormente retomado por microrganismos do solo e hidrolisado pela enzima ACC desaminase, diminuindo assim a quantidade de ACC no ambiente, induzindo a redução de estresses bióticos e abióticos (Glick, 2005). Além disso, a seleção de bactérias endofíticas com atividade da ACC desaminase também pode ser essencial para desenvolver uma boa estratégia de fitorremediação, devido ao potencial dessas bactérias para reduzir o estresse das plantas (Glick 2010).

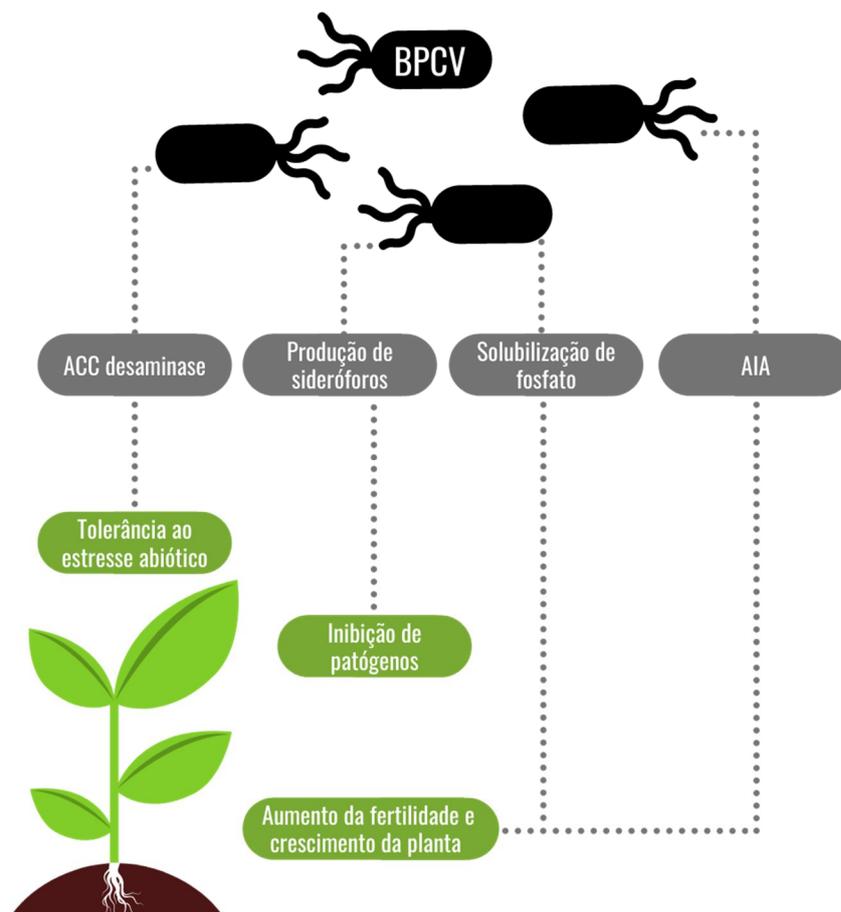


Figura 5 - Benefícios das Bactérias Promotoras de Crescimento Vegetal (BPCV) após a colonização ou associação com raízes e/ ou rizosfera.

Adaptado de: Souza et al., 2015.

2.3.2 *Azospirillum brasilense*

O gênero *Azospirillum* está entre as bactérias promotoras de crescimento vegetal mais estudadas e comercializadas no Brasil (Hartmann e Bashan, 2009), sendo de vida livre e relatados, também, como endofíticas facultativas (Huergo et al., 2008; Mehnaz, 2015). Dentre as bactérias pertencentes ao gênero *Azospirillum*, a de maior potencial é a *Azospirillum brasilense* (Mumbach et al, 2017).

Vários estímulos de crescimento nas plantas são gerados por esta bactéria, em que se tem a produção de hormônios vegetais como auxinas, giberelinas e citocininas (Cavallet et al. 2000), solubilização de fosfato, maior desenvolvimento radicular (Kazi et al., 2016), aumento nos teores de clorofila e condutância estomática (Hungria 2011), além de alterações na atividade fotossintética das plantas (Gordillo-Delgado et al., 2016).

Barassi et al. (2008) relataram a melhoria em parâmetros fotossintéticos das folhas, incluindo maior teor de prolina na parte aérea e nas raízes com benefícios no potencial hídrico, aumento do teor de água do apoplasto, elevando a elasticidade da parede celular e consequentemente fomentando a produção de biomassa e altura das plantas.

2.3.3 *Pseudomonas fluorescens*

Um dos grupos mais diversos dentro do gênero *Pseudomonas* é o complexo de espécies *Pseudomonas fluorescens*, contendo mais de cinquenta espécies com nomes válidos e muitos isolados não classificados, sendo muitas cepas relacionadas a plantas como bactérias promotoras de crescimento vegetal devido à sua capacidade de influenciar o equilíbrio hormonal das plantas (Kang et al., 2006), melhorar a aptidão delas e minimizar os efeitos dos fitopatógenos (Raaijmakers et al., 2009)

Além disso, também são conhecidas pela utilização de diversos compostos orgânicos como fontes de energia e carbono (Lessie e Phibbs, 1984), tornando-as também adequadas para biorremediação de ambientes poluídos (Wasi et al., 2013). Nesse sentido, estudos mostram a melhora no fornecimento de nutrientes, como nitrogênio e fósforo (Compant et al., 2005) ou pela produção de fitormônios (Lugtenberg et al., 1991) e o desenvolvimento da planta pela supressão de patógenos mediada por diferentes mecanismos (Haas et al., 2005).

Estirpes de *Pseudomonas fluorescens* foram capazes de estimular o crescimento das plantas por diferentes características como fixação de nitrogênio, solubilização de fosfato,

produção de ácidos orgânicos e AIA (Pal et al., 2001). Eklund (1970) concluiu que substâncias semelhantes à giberelina e outros compostos promotores de crescimento foram produzidos por *Pseudomonas* spp.

2.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A introdução de bactérias benéficas no solo permite o desenvolvimento de novas tecnologias com menor impacto ao meio ambiente, tornando-se uma prática agrônômica sustentável, reduzindo os custos de produção e influenciando no melhor rendimento da cultura. E embora a fitotoxicidade do alumínio em solos ácidos seja limitante a produtividade agrícola, as culturas variam na tolerância ao alumínio e o papel dos microrganismos no solo se faz essencial na mitigação do estresse.

No entanto, apesar de grandes avanços no que tange genes de tolerância ao alumínio é preciso pesquisas mais intensivas para apresentar respostas concretas da fitotoxicidade por alumínio e o efeito das bactérias promotoras de crescimento vegetal como mecanismo de defesa na cultura do trigo.

2.5 REFERÊNCIAS

ABREU JUNIOR, C. H.; MURAOKA, T.; LAVORANTE, A. Relationship between acidity and chemical properties of brazilians soils. **Scientia Agricola**, v. 60, p. 337-343, 2003.

AGUILERA, J. G.; MINOZZO, J. A. D.; BARICHELLO, D.; FOGAÇA, C. M.; SILVA JR, J. P.; CONSOLI, L.; PEREIRA, J. F. Alleles of organic acid transporter genes are highly correlated with wheat resistance to acidic soil in field conditions. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 129, p. 1317–1331, 2016.

AGUILERAA, P.; MARÍN, C.; OEHL, F.; GODOY, R.; BORIEA, F.; CORNEJO, P. Selection of aluminum tolerant cereal genotypes strongly influences the arbuscular mycorrhizal fungal communities in an acidic Andosol. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 246, p. 86-93, 2017.

AHMED, A.; HASNAIN, S. Auxin-producing *Bacillus* sp.: Auxin quantification and effect on the growth of 3 *Solanum tuberosum*. **Pure Appl. Chem.** V. 82, p. 313-319, 2010.

AHN, S.J.; SIVAGURU, M.; CHUNG, G.C.; RENGEL, Z.; MATSUMOTO, H. Aluminium-induced growth inhibition is associated with impaired efflux and influx of H⁺ across the plasma membrane in root apices of squash (*Cucurbita pepo*). **J. Exp. Bot.** v. 53, p. 1959–1966, 2002.

AMBROSINI, A.; BENEDUZI, A.; STEFANSKI, T.; PINHEIRO, F.G.; VARGAS, L.K.; PASSAGLIA. Screening of plant growth promoting rhizobacteria isolated from sunflower (*Helianthus annuus* L.). **Plant Soil**, v. 356, p. 245-264, 2012.

ARAÚJO, W. L.; TOHGE, T.; ISHIZAKI, K.; LEAVER, C. J.; AND FERNIE, A. R. Protein degradation- an alternative respiratory substrate for stressed plants. **Trends Plant Sci.** V, 16, p. 489–498, 2011.

ARCHAMBAULT, D. J.; ZHANG, G.; TAYLOR, G. J. Accumulation of Al in root mucilage of an Al-resistant and an Al-sensitive cultivar of wheat. **Plant Physiol**, v. 112, p. 1471–1478, 1996.

ARSHAD, M.; SALEEMMAND, H. S. Perspectives of bacterial ACC deaminase in phytoremediation. **Trends Biotechnol**, v.25, p.356-362, 2007.

BALBINO, M. P. S.; TEIXEIRA, G. F.; DUARTE, R. W. S.; EUGÊNIO, M. C.; ANTUNES, C. C.; VICENTE, O. A. Efeitos tóxicos do alumínio no crescimento das plantas: mecanismos de tolerância, sintomas, efeitos fisiológicos, bioquímicos e controles genéticos. **CES Revista**, v. 24, p. 20, 2010.

BARZANTI, R.; OZINO, F.; BAZZICALUPO, M.; GABBRIELLI, R.; GALARDI, F.; GONNELLI, C.; MENGONI, A. Isolation and 10 characterization of endophytic bacteria from the nickel hyperaccumulator plant *Alyssum bertolonii*. **Microb. Ecol.**, v. 53, p. 306-316, 2007.

BAUDOIN, E.; LERNER, A.; MIRZA, M.S.; ZEMRANY, H.E.; PRIGENT-COMBARET, C.; JURKEVICH, E.; SPAEPEN, S.; VANDERLEYDEN, J.; NAZARET, S.; OKON, Y. Effects

of *Azospirillum brasilense* with genetically modified auxin biosynthesis gene *ipdC* upon the diversity of the indigenous microbiota of the wheat rhizosphere. **Res Microbiol**, v. 161, p. 219-226, 2010.

BOJÓRQUEZ-QUINTAL, E.; ESCALANTE-MAGAÑA, C.; ECHEVARRÍA-MACHADO, I.; MARTÍNEZ-ESTÉVEZ, M. Aluminum, a Friend or Foe of Higher Plants in Acid Soils. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1-18, 2017.

BOSE, J.; BABOURINA, O.; RENGEL, Z. Role of magnesium in alleviation of aluminium toxicity in plants. **J. Exp. Bot.** v. 62, p. 2251–2264, 2011.

BOSE, J.; BABOURINA, O.; MA, Y.; ZHOU, M.; SHABALA, S.; RENGEL, Z. “Specificity of ion uptake and homeostasis maintenance during acid and aluminium stresses,” in Aluminum Stress Adaptation in Plants. **Signaling Communication in Plants**, Vol. 24, eds S. K. Panda and F. Baluska (Cham: Springer International Publishing), 229–251, (2015).

BRUNNER, I.; SPERISEN, C. Aluminum exclusion and aluminum tolerance in woody plants. **Front. Plant Sci.** V. 4, p. 172, 2013.

CHABOT, R; ANTOUN, H.; CESCAS, M.P. Stimulation de la croissance du maïs et de la laitue romaine par des microorganismes dissolvant le phosphore inorganique. **Can J Microbiol**, v. 39, p.941-7, 1993.

CHENGLIANG, S.; LINGLI, L.; YAN, Y.; LIJUAN, L.; YAN, H.; YIQUN, Y.; CHONGWEI, J.; XIANYONG, L. Decreasing methylation of pectin caused by nitric oxide leads to higher aluminium binding in cell walls and greater aluminium sensitivity of wheat roots. **J Exp Bot**, v. 67, n. 3, p. 979–989, 2016.

CIAMPOROVÁ, M. Morphological and structural responses of plant roots to aluminium at organ, tissue and cellular levels. **Biol Plant**, v. 45, p. 161–171, 2002.

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. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 71, n. 9, p. 4951-4959, 2005.

condiciones adversas. In: CASSÁN, F. D.; GARCIA DE SALAMONE, I. *Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Buenos Aires: **Asociación Argentina de Microbiología**, p. 49-59, 2008.

DARKO, E.; AMBRUS, H.; STEFANOVITS-BÁNYAI, E.; FODOR, J.; BAKOS, F.; BARNABÁS, B., Aluminium toxicity, Al tolerance and oxidative stress in an Al-sensitive wheat genotype and in Al-tolerant lines developed by in vitro microspore selection. **Plant Sci.**, v. 166, p. 583–591, 2004.

DELHAIZE, E.; RYAN, P.R. Aluminum toxicity and tolerance in plants. **Plant Physiol.**, v. 107, p. 315–321, 1995.

DELPHIS, F. L.; ALEXEY, N. S.; JOHN, T. V. S.; CARRIE, E. S.; SHREERAM P. I. M. M.; PATRICK, J. M. Calcium and aluminum cycling in a temperate broadleaved deciduous forest of the eastern USA: relative impacts of tree species, canopy state, and flux type. **Environmental Monitoring and Assessment**. p. 187: 458, 2015.

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

DIMKPA, C., MERTEN, D.; SVATOŠ, A.; BÜCHEL, G.; KOTHE, E. Siderophores mediate reduced and increased Zn uptake of cadmium by *Streptomyces tendae* F4 and sunflower (*Helianthus annuus*), respectively. **J. Appl. Microbiol**, v. 107, p. 1687-1696, 2009.

DURÁN, P.; ACUÑA, J.J.; JORQUERA, M.A.; AZCÓN, R.; PAREDES, C.; RENGEL, Z.; MORA, M.L. Endophytic bacteria from selenium-supplemented wheat plants could be useful for plant-growth promotion, biofortification and *Gaeumannomyces graminis* biocontrol in wheat production. **Biol. Fertil. Soils**, v. 50, p. 983–990, 2014.

DUTTA, S.; PODILE, A. R. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): the bugs to debug the root zone. **Crit Rev Microbiol**, v. 36, n. 3, p. 232-44, 2010.

EEKHOUT, T.; LARSEN, P.; DE VEYLDER, L. Modification of DNA checkpoints to confer aluminum tolerance. **Trends Plant Sci**, v. 22, p. 102–105, 2017.

EKLUND, E. Secondary effects of some pseudomonads in the rhizoplane of peat grown cucumber plants *Acta Agric. Scand. Suppl.*, v. 17, p. 1-57, 1970.

FAMOSO, A. N., CLARK, R. T., SHAFF, J. E., CRAFT, E., MCCOUCH, S. R., AND KOCHIAN, L. V. Development of a novel aluminum tolerance phenotyping platform used for comparisons of cereal aluminum tolerance and investigations into rice aluminum tolerance mechanisms. **Plant Physiol**, v. 153, p. 1678–1691, 2010.

FAROKHZADEH, S. A. E; FAKHERIA, B. A.; NEZHADA, N. M.; TAHMASEBIB, S.; MIRSOLEIMANI, A C.; HEIDARI, B. Mapping QTLs associated with grain yield and yield-related traits under aluminum stress in bread wheat. **Crop & Pasture Science**, v. 71, p. 429–444, 2020.

FENG LI, X., MA, J.F., HIRADATE, S., MATSUMOTO, H. Mucilage strongly binds aluminum but does not prevent roots from aluminum injury in *Zea mays*. **Physiol. Plant.**, v. 108, p. 152–160, 2000.

FERREIRA, A. S. et al. Implications of *Azospirillum brasilense* inoculation and nutrient addition on maize in soils of the Brazilian Cerrado under greenhouse and field conditions. **Applied Soil Ecology**, v. 72, p. 103-108, 2013.

FOY, C.D. Soil chemical factors limiting plant root growth. In *Limitations to plant root growth*. **Springer**, p. 97–149, 1992.

GALVEZ, L., CLARK, R.B. Nitrate and ammonium uptake and solution pH changes for Al-tolerant and Al-sensitive sorghum (*Sorghum bicolor*) genotypes grown with and without aluminium. **Plant Soil**, v. 134, p. 179–188, 1991.

GLICK BR. Modulation of plant ethylene levels by the bacterial enzyme ACC deaminase. **FEMS Microbiol Lett**, v. 251, p. 1-7, 2005.

GLICK BR. Using soil bacteria to facilitate phytoremediation. **Biotechnol Adv**, v. 28, p. 367-74, 2010.

GUIDA, L., SAIDI, Z., HUGHES, M.N., POOLE, R.K. Aluminum toxicity and binding to *Escherichia coli*. **Arch. Microbiol**, v.156, p. 507–512, 1991.

GUPTA, N., GAURAV, S.S., KUMAR, A. Molecular basis of aluminium toxicity in plants: a Review. **Am. J. Plant. Sci**, v. 4, p. 21–37, 2013.

GUPTA, N.; GAURAV, S. S.; KUMAR, A. Molecular Basis of Aluminium Toxicity in Plants: A Review. **American Journal of Plant Sciences**, v. 4, p. 21-37, 2013.

HAAS, D.; DÉFAGO, G. Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. **Nature Rev. Microbiol.**, p.3, n.4, p. 307-319, 2005.

HAMILTON, C. A., GOOD, A. G., AND TAYLOR, G. J. Induction of vacuolar ATPase and mitochondrial ATP synthase by aluminum in an aluminumresistant cultivar of wheat. **Plant Physiol**, v. 125, p. 2068–2077, 2001.

HARTMANN A, BASHAN Y. Ecology and application of *Azospirillum* and other plant growth-promoting bacteria (PGPB) - Special Issue. **European Journal of Soil Biology**, v. 45, p. 1-2, 2009.

HAWKES, C.V., DE ANGELIS, K.M., FIRESTONE, M.K. Root interactions with soil microbial communities and processes. In: Cardon, Z.G., Whitbeck, J.L. (Eds.), *The Rhizosphere: an Ecological Perspective*. **Elsevier Academic Press**, USA, p. 1–29, 2007.

HE, H.; LI, Y.; HE, L.-F. Aluminum toxicity and tolerance in Solanaceae plants. **South African Journal of Botany**, v. 123, p. 23–29, 2019.

HORST, W. J., WANG, Y., AND ETICHA, D. The role of the root apoplast in aluminum-induced inhibition of root elongation and in aluminum resistance of plants: a review. **Ann. Bot.**, v. 106, p. 185–197, 2010.

HOSSAIN, M.A., HOSSAIN, A.Z., KIHARA, T., KOYAMA, H., HARA, T. Aluminum-induced lipid peroxidation and lignin deposition are associated with an increase in H₂O₂ generation in wheat seedlings. **Soil Sci. Plant Nutr.**, v. 51, n. 2, p. 223–230, 2005.

HOUMAN, Y., TAHARA, K., SHINMACHI, F., NOGUCHI, A., SATOHIKO, S., AND HASEGAWA, I. “Differences of growth response to aluminum excess of two *Melaleuca* trees differing in aluminum resistance,” in Proceedings of the International Plant Nutrition Colloquium XVI, (Davis, CA: University of California), 2009.

HUANG, C. F., YAMAJI, N., MITANI, N., YANO, M., NAGAMURA, Y., AND MA, J. F. A bacterial-type ABC transporter is involved in aluminum tolerance in rice. **Plant Cell**, v. 21, p. 655–667, 2009.

HUANG, J.W., GRUNES, D.L., KOCHIAN, L.V. Aluminum effects on the kinetics of calcium uptake into cells of the wheat root apex. **Planta** **188**, 414–421, 1992.

HUERGO LF, MONTEIRO RA, BONATTO AC, RIGO LU, STEFFENS MBR, CRUZ LM, CHUBATSU LS, SOUZA EM, PEDROSA FO. **Regulation of nitrogen fixation in *Azospirillum brasilense*. In: Cassán FD, GarciadeSalamone I (eds) *Azospirillum sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina*. Asociación Argentina de Microbiología, Argentina, pp 17– 6, 2008.**

JALILI F, KHAVAZI K, PAZIRA E, NEJATI A, RAHMANI HA, SADAGHIANI HR AND MIRANSARI M. Isolation and characterization of ACC deaminase-producing fluorescent pseudomonads, to alleviate salinity stress on canola (*Brassica napus* L.) growth. **J Plant Physiol**, v. 166, p. 667-674, 2009.

JENSEN, JB, EGSGAARD H, ONCKELEN HV AND JOCHIMSEN BU. Catabolism of Indole-3- Acetic Acid and 4- and 5-Chloroindole-3-Acetic Acid in *Bradyrhizobium japonicum*. **J Bacteriol**, v. 177, p. 5762-5766, 1995.

JIANG, C.-Y., SHENG, X.-F., QIAN, M., WANG, Q.-Y. Isolation and characterization of a heavy metal-resistant 54 *Burkholderia* sp. from heavy metal-contaminated paddy field soil and

its potential in promoting plant growth and heavy metal accumulation in metal-polluted soil. **Chemosphere**, v. 72, p. 157-164, 2008.

KANG, B. R., YANG, K. Y., CHO, B. H., HAN, T. H., KIM, I. S., LEE, M. C., ET AL. Production of indole-3-acetic acid in the plant-beneficial strain *Pseudomonas chlororaphis* O6 is negatively regulated by the global sensor kinase GacS. **Curr. Microbiol.** v. 52, p.473–476, 2006.

KHAN MS, ZAIDI A AND WANI PA Role of phosphatesolubilizing microorganisms insustainable agriculture – A review. **Agron Sustain**, v. 27, p. 29-43, 2009.

KINRAIDE, T.B., RYAN, P.R., KOCHIAN, L.V., Al³⁺-Ca²⁺ interactions in aluminum rhizotoxicity: II: Evaluating the Ca²⁺-displacement hypothesis. **Planta**, v. 192, p. 104–109, 1994.

KINRAIDE, T.B., YERMIYAHU, U., RYTWO, G. Computation of surface electrical potentials of plant cell membranes. Correspondence to published zeta potentials from diverse plant sources. **Plant Physiol**, v. 118, p. 505–512, 1998.

KISNIERIENÉ, V., AND LAPEIKAITÉ, I. When chemistry meets biology: the case of aluminium- a review. **Chemija**, v. 26, p. 148–158, 2015.

KOBAYASHI T AND NISHIZAWA NK. Iron uptake, translocation, and regulation in higher plants. **Annu Rev Plant Bio**, v. 63, p. 131-52, 2012.

KOCHIAN, L. V., HOEKENGA, O. A., AND PINEROS, M. A. How do crop plants tolerate acid soils?-mechanisms of aluminium tolerance and phosphorous efficiency. **Annu. Rev. Plant Biol.**, v. 55, p. 459–493, 2004.

KOCHIAN, L.V., PIÑEROS, M.A., HOEKENGA, O.A. The physiology, genetics and molecular biology of plant aluminium resistance and toxicity. **Plant Soil**, 274, 175–195, 2005.

KOCHIAN, L.V; PIÑEROS, M.A.; LIU, J.; MAGALHAES, J.V. Plant adaptation to acid soils: the molecular basis for crop aluminum resistance. **Annu Rev of Plant Biol**, v. 66, p.571-598, 2015.

KOPITTKE, P. M., AND BLAMEY, F. P. C. Theoretical and experimental assessment of nutrient solution composition in short-term studies of aluminium rhizotoxicity. **Plant Soil**, v. 406, p. 311–326, 2016.

KOPITTKE, P. M.; BLAMEY, F. P. C. Theoretical and experimental assessment of nutrient solution composition in short-term studies of aluminium rhizotoxicity. **Plant Soil**, v. 406, p. 311–326, 2016.

KOPITTKE, P. M.; MOORE, K. L.; LOMBI, E.; GIANONCELLI, A.; FERGUSON, B. J. F.; BLAMEY, P. C.; MENZIES, N. W.; NICHOLSON, T. M.; MCKENNA, BRIGID A.; WANG, PENG; GRESSHOFF, P. M.; KOUROUSIAS, G.; WEBB, R. I.; GREEN, KATHRYN; TOLLENAERE, A. Identification of the Primary Lesion of Toxic Aluminum in Plant Roots. **Plant Physiology**, v. 167, p. 1402–1411, 2015.

KREWULAK HD AND VOGEL HJ. Structural biology of bacterial iron uptake. **Biochim Biophys Acta**, v. 1778, p. 1781-804, 2008.

KUFFNER, M., DE MARIA, S., PUSCHENREITER, M., FALLMANN, K., WIESHAMMER, G., GORFER, M., STRAUSS, J., RIVELLI, A., 68 SESSITSCH, A., Culturable bacteria from Zn-and Cd-accumulating *Salix caprea* with differential 69 effects on plant growth and heavy metal availability. **J. Appl. Microbiol.** v. 108, p. 1471-1484, 2010.

LEMANCEAU P, BAUER P, KRAEMER S AND BRIAT JF. Iron dynamics in the rhizosphere as a case study for analyzing interactions between soils, plants and microbes. **Plant Soil**, v. 321, p. 513-535, 2009.

LESSIE, T. G., AND PHIBBS, P. V. JR. Alternative pathways of carbohydrate utilization in pseudomonads. **Annu. Rev. Microbiol.** v. 38, p. 359–388, 1984.

LEVEAU JHJ AND LINDOW SE. Utilization of the plant hormone indole-3-acetic acid for growth by *Pseudomonas putida* strain 1290. **Appl Environ Microbiol**, v. 71, p. 2365-2371, 2005.

LEVESQUE-TREMBLAY, G., PELLOUX, J., BRAYBROOK, S. A., AND MÜLLER, K. Tuning of pectin methylesterification: consequences for cell wall biomechanics and development. **Planta**, v. 242, p. 791–811, 2015.

LIU, J.P., PINEROS, M.A., KOCHIAN, L.V. The role of aluminium sensing and signalling in plant aluminium resistance. **J. Integrat. Plant Biol**, v. 56, p. 221–230, 2014.

LIU, S., GAO, H., WU, X., FANG, Q., CHEN, L., ZHAO, F.-J. Isolation and characterization of an aluminum-resistant mutant in rice. **Rice**, v. 9, p. 60, 2016.

LOACES I, FERRANDO L AND SCAVINO AF. Dynamics, diversity and function of endophytic siderophore-producing bacteria in rice. **Microb Ecol**, v. 61, p. 606-618, 2011.

LOPEZ-BUCIO, J., NIETO-JACOBO, M.F., RAMIREZ-RODRIGUEZ, V., HERRERA-ESTRELLA, L. Organic acid metabolism in plants: from adaptive physiology to transgenic varieties for cultivation in extreme soils. **Plant Sci.**, v. 160, p. 1–13, 2000.

LUGTENBERG, B.J.J.; DE WEGER, A.L.; BENNET, J.W. Microbial stimulation of plant growth and protection from disease. **Curr. Op. Biotechnology**, v. 2, p. 457-464, 1991.

LYNCH, J.P.; WOJCIECHOWSKI, T. Opportunities and challenges in the subsoil: pathways to deeper rooted crops. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, p. 2199–2210, 2015.

MA, Q.F., RENGEL, Z., KUO, J. Aluminium toxicity in rye (*Secale cereale*): Root growth and dynamics of cytoplasmic Ca²⁺ in intact root tips. **Ann. Bot**, v. 89, p. 241–244, 2002.

MAEJIMA, E., WATANABE, T., OSAKI, M., AND WAGATSUMA, T. Phosphorus deficiency enhances aluminum tolerance of rice (*Oryza sativa*) by changing the physicochemical characteristics of root plasma membranes and cell walls. **J. Plant Physiol.** V. 171, p. 9–15, 2014.

MARIANO, E.D., KELTJENS, W.G. Long-term effects of aluminium exposure on nutrient uptake by maize genotypes differing in aluminium resistance. **J. Plant Nutr**, v. 28, p. 323–333, 2005.

MARIENFELD, S., LEHMANN, H., STELZER, R. Ultrastructural investigation EDX-analysis of Al-treated oat (*Avena sativa*) roots. **Plant Soil**, v. 171, p. 167–173, 1995.

MAULANA, F.; AYALEW, H.; ANDERSON, J. D.; KUMSSA, T.T.; HUANG, W.; MA, X.F. Genome-wide association mapping of seedling heat tolerance in winter wheat. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 1272, 2018.

MCLAUGHLIN MJ, MCBEATH TM, SMERNIK R, STACEY SP, AJIBOYE BAND GUPPY C. The chemical nature of P accumulation in agricultural soils-implications for fertilizer management and design: An Australian perspective. **Plant Soil**, v. 349, p. 69-87, 2011.

MEENA, R. S.; KUMAR, S.; BOHRA, J. S.; LAL, R.; YADAV, G. S.; PANDEY, A. Response of alley cropping-grown sesame to lime and sulphur on yield and available nutrient status in an acidic soil of Eastern India. **Ecology and Environment**, v. 4, p. 65–74, 2019.

MEHNAZ S. *Azospirillum*: A biofertilizer for Every Crop. In: Arora NK (ed) Plant Microbes Symbiosis: Applied Facets. **Springer India**, p. 297-314, 2015.

MINOCHA, R., MINOCHA, S.C., LONG, S.L., SHORTLE, W.C. Effects of aluminium on DNA synthesis, cellular polyamines, polyamine biosynthetic enzymes and inorganic ions in cell suspension cultures of a woody plant, *Catharanthus roseus*. **Physiol. Plant**, v.85, p. 417–424, 1992.

MOAZZAM, J.; MAQSHOOF, A.; FAISAL, A.; ZAHIR, A. Z.; MUHAMMAD, A. K.; FARHEEN, N. Inducing drought tolerance in wheat through combined use of L-tryptophan and *Pseudomonas fluorescens*. **Pak. J. Agri. Sci.**, v. 55, n. 2, p. 331-337, 2018.

MORAA, M. L.; DEMANETA, R.; ACUÑAA, J. J., VISCARDIA, S.; MILKO JORQUERAA, ZED RENGELB, PAOLA DURÁNA. Aluminum-tolerant bacteria improve the plant growth and phosphorus content in ryegrass grown in a volcanic soil amended with cattle dung manure. **Applied Soil Ecology**, v.115, p. 19–260, 2017.

MORAA, M. L.; DEMANETA, R.; ACUÑAA, J. J.; VISCARDIA, S.; JORQUERAA, M.; RENGELB, Z.; DURÁN, P. Aluminum-tolerant bacteria improve the plant growth and

phosphorus content in ryegrass grown in a volcanic soil amended with cattle dung manure. **Applied Soil Ecology**, v. 115, p. 19–26, 2017.

MOREL, J. L., MENCH, M., AND GUCKERT, A. Measurement of Pb²⁺, Cu²⁺ and Cd²⁺ binding with mucilage exudates from maize (*Zea mays* L.) roots. **Biol. Fertil. Soils**, v. 2, p. 29–34, 1986.

MUHAMMAD, D.; FANGBIN, C.; MUHAMMAD, M. J.; GUOPING, Z.; FEIBO, W. Alleviation of aluminum toxicity by hydrogen sulfide is related to elevated ATPase, and suppressed aluminum uptake and oxidative stress in barley. **Journal of Hazardous Materials**, v. 209–210, p.121-128, 2012.

NAVAKODE, S.; NEUMANN, K.; KOBILJSKI, B.; LOHWASSER, U.; BORNER, A. Genome wide association mapping to identify aluminium tolerance loci in bread wheat. **Euphytica**, v. 198, p. 401–411, 2014.

NEILANDS JB. Siderophores: Structure and function of microbial iron transport compounds. **J Biol Chem**, v. 270, p. 26723-26726, 1995.

NOGUEIROL, R. C.; MONTEIRO, F. A.; AZEVEDO, R. A. Tropical soils cultivated with tomato: fractionation and speciation of Al. **Environ. Monit. Assess**, v. 187, p. 160, 2015.

NUNES-NESE, A., BRITO, D.S., INOSTROZA-BLANCHETEAU, C., FERNIE, A.R., ARAÚJO, W.L. The complex role of mitochondrial metabolism in plant aluminum resistance. **Trends Plant Sci**, v.19, p. 399–407, 2014.

OLIVARES, E., PENA, E., MARCANO, E. Aluminum accumulation and its relationship with mineral plant nutrients in 12 pteridophytes from Venezuela. **Environ. Exp. Bot.**, v. 65, p. 132–141, 2009.

OLIVEIRA, E. C.; PINTO-MAGLIO, C. A. F. Caracterização cttomolecular de cultivares e variedades locais de tolerância ao trigo e sensíveis à toxicidade do alumínio. **Bragantia**, v.76, p. 1-14, 2017.

OSAWA, H., ENDO, I., HARA, Y., MATSUSHIMA, Y., AND TANGE, T. Transient proliferation of proanthocyanidin accumulating cells on the epidermal Apex contributes to highly aluminum-resistant root elongation in camphor tree. **Plant Physiol.**, v. 155, p. 433–446, 2011.

PAL, K.K.; TILAK, K.V.B.R.; SAXENA A.K.; DEY R.; SINGH, C.S. Suppression of maize root diseases caused by *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium moniliforme* and *Fusarium graminearum* by plant growth promoting rhizobacteria. **Microbiol. Res.**, v. 156, n. 3, p. 209–223, 2011.

PALOVE-BALANG, P., MISTRÍK, I. Impact of low pH and aluminium on nitrogen uptake and metabolism in roots of *Lotus japonicus*. **Biologia (Bratisl.)**, v. 62, p. 715–719, 2007.

PANDA, S.K., BALUŠKA, F., MATSUMOTO, H. Aluminum stress signalling in plants. **Plant Signal**, v. 4, p. 592–597, 2009.

PINEROS, M.A., KOCHIAN, L.V. A patch–clamp study on the physiology of aluminum toxicity and aluminum tolerance in maize. Identification and characterization of Al³⁺-induced anion channels. **Plant Physiol**, v. 125, p. 292–305, 2001.

PORTALUPPI, R.; BRAMMER, S.P.; MAGALHÃES, J.V.; COSTA, C.T.; JUNIOR, A.N.; JUNIOR, J.P.S. Tolerância de genótipos de Cereais de Inverno ao Alumínio em cultivo hidropônico e em campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, n. 2, p. 178–185, 2010.

PRINSEN E, COSTACURTA A, MICHIELS K, VANDERLEYDEN J AND ONCKELEN H. *Azospirillum brasilense* indole-3-acetic acid biosynthesis: Evidence for a non-tryptophan dependent pathway. **Mol Plant-Microbe Interact**, v. 6, p. 609–615, 1993.

QIN L, JIANG H, TIAN J, ZHAO J AND LIAO H. Rhizobia enhance acquisition of phosphorus from different sources by soybean plants. **Plant Soil**, v. 349, p.25–36, 2011.

RAAIJMAKERS, J. M., PAULITZ, T. C., STEINBERG, C., ALABOUVETTE, C., AND MOËNNE-LOCCOZ, Y. The rhizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. **Plant Soil**, v. 321, p. 20, 2009.

RAMEGOWDA, V.; SENTHIL-KUMAR, M. The interactive effects of simultaneous biotic and abiotic stresses on plants: mechanistic understanding from drought and pathogen combination. **Journal of Plant Physiology**, v. 176, p. 47–54, 2015.

RAO, I.M., MILES, J.W., BEEBE, S.E., HORST, W.J. Root adaptations to soils with low fertility and aluminium toxicity. **Ann. Bot.**, v. 118, p. 593–605, 2016.

RICHARDSON AE AND SIMPSON RJ. Soil microorganisms mediating phosphorus availability. **Plant Physiol**, v. 156, p.989-996, 2011.

ROCHELI DE SOUZA, ADRIANA AMBROSINI AND LUCIANE M.P. PASSAGLIA. Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. **Genetics and Molecular Biology**, v. 38, n. 4, p. 401-419, 2015.

RODRÍGUEZ H AND FRAGA R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnol Adv**, v. 17, p.319-339, 1999.

RODRÍGUEZ H, FRAGA R, GONZALEZ T AND BASHAN Y. Genetics of phosphate solubilization and its potential applications for improving plant growth-promoting bacteria. **Plant Soil**, v. 287, p.15-21, 2006.

RYAN, P.R.; DONG, D.; TEUBER, F.; WENDLER, N.; MUHLING, K.H.; SALVADOR, M. N.; YOU J.; MAURER, H-P.; HORST, W.J.; DELHAIZE, E. Assessing how the aluminum-resistance traits in wheat and rye transfer to hexaploid and octoploid triticale. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 1334, 2018.

SALEEM M, ARSHAD M, HUSSAIN S AND BHATTI AS. Perspective of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase in stress agriculture. **J Ind Microbiol Biotechnol**, v. 34, p. 635-648, 2007.

SCHAICH, G. **Efeito de alumínio e de parâmetros em fósforo morfofisiológicos e bioquímicos de trigo**. 91 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria. 2014. 91 f.

SCHMITT, M.; WATANABE, T.; JANSEN, S. J. The effects of aluminium on plant growth in a temperate and deciduous aluminium accumulating species. **AoB PLANTS**, v. 8, p. 1-13, 2016.

SCHMOHL, N., HORST, W.J. Cell wall pectin content modulates aluminium sensitivity of *Zea mays* (L.) cells grown in suspension culture. **Plant Cell Environ**, v. 23, p. 735–742, 2000.

SCHORR, M. R. W. **Atributos da arquitetura radicular como indicadores na seleção de plantas de trigo submetidas a deficiência de fósforo e toxidez por alumínio**. Tese (doutorado) universidade federal de santa maria. 109f. 2017.

SCHROEDER, J. I., DELHAIZE, E., FROMMER, W. B., GUERINOT, M. L., HARRISON, M. J., HERRERA-ESTRELLA, L. Using membrane transporters to improve crops for sustainable food production. **Nature**, v. 497, p. 60–66, 2013.

SEGUEL, A., CUMMING, J. R., KLUGH-STEWART, K., CORNEJO, P., AND BORIE, F. The role of arbuscular mycorrhizas in decreasing aluminium phytotoxicity in acidic soils: a review. **Mycorrhiza**, v. 23, p. 167–183, 2013.

SHAO, J. F., CHE, J., CHEN, R. F., MA, J. F., AND SHEN, R. F. Effect of in planta phosphorus on aluminum-induced inhibition of root elongation in wheat. **Plant Soil**, v. 395, p. 307–315, 2015.

SHARMA SB, SAYYED RZ, TRIVEDI MH AND GOBI TA. Phosphate solubilizing microbes: Sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. **Springerplus**, v.2, p. 1-14, 2013.

SILAMBARASANA, S.; LOGESWARIA, P.; CORNEJOA, P.; ABRAHAMC, J.; VALENTINED, A. Simultaneous mitigation of aluminum, salinity and drought stress in *Lactuca sativa* growth via formulated plant growth promoting *Rhodotorula mucilaginosa* CAM4. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 180, p. 63–72, 2019.

SINGHA, S.; TRIPATHI, D. K.; SWATI SINGHA, SHIVESH SHARMAC,D, NAWAL KISHORE DUBEYB, Devendra Kumar Chauhana,*, Marek Vaculíke. Toxicity of aluminium

on various levels of plant cells and organism: A review. **Environmental and Experimental Botany**, v. 137, p. 177–193, 2017.

SOUZA R, BENEDUZI A, AMBROSINI A, COSTA PB, MEYER J, VARGAS LK, SCHOENFELD R AND PASSAGLIA LMP. The effect of plant growth-promoting rhizobacteria on the growth of rice (*Oryza sativa* L.) cropped in southern Brazilian fields. **Plant Soil**, v. 366, p. 585-603, 2013.

SOUZA R, MEYER J, SCHOENFELD R, COSTA PB AND PASSAGLIA LMP. Characterization of plant growth-promoting bacteria associated with rice cropped in iron-stressed soils. **Ann Microbiol**, v. 65, p. 951-964, 2014.

SPAEPEN S, DOBBELAERE S, CROONENBORGH S AND VANDERLEYDEN J. Effects of *Azospirillum brasilense* indole-3-acetic acid production on inoculated wheat plants. **Plant Soil**, v. 312, p. 15-23, 2008.

SPAEPEN S, VANDERLEYDEN J AND REMANS R. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. **FEMS Microbiol Rev**, v. 31, p. 425-448, 2007.

STEENHOUDT, O., VANDERLEYDEN, J. *Azospirillum*, A Free-Living Nitrogen-Fixing Bacterium Closely Associated With Grasses: genetics, Biochemical and Ecological aspects. **FEMS Microbiol Rev**, v. 24, p. 487–506, 2000.

STEIN RJ, DUARTE GL, SPOHR MG, LOPES SIG AND FETT JP. Distinct physiological responses of two rice cultivars subjected to iron toxicity under field conditions. **Ann Appl Biol**, v. 154, v. 269-277, 2009.

SUKWEENADHI, J., KIM, Y.-J., CHOI, E.-S., KOH, S.-C., LEE, S.-W., KIM, Y.-J., YANG, D. C. *Paenibacillus 123 yonginensis* DCY84 T induces changes in *Arabidopsis thaliana* gene expression against aluminum, 124 drought, and salt stress. **Microbiol. Res.**, v. 172, p. 7-15, 2015.

TAMAS, L., SIMONOVICOVA, M., HUTTOVA, J., MISTRİK, I. Changes in the composition of cell wall proteins in barley roots during germination and growth in aluminium presence. **Plant Soil Environ**, v. 49, p. 327–331, 2003.

TAYLOR, G. J. The physiology of aluminum tolerance in higher plants. **Commun. Soil Sci. Plant Anal.**, v. 19, p. 1179–1194, 1988.

TREJO-TÉLLEZ, L., STENZEL, R., GOMEZ-MERINO, F., AND SCHMITT, J. Transgenic tobacco plants overexpressing pyruvate phosphate dikinase increase exudation of organic acids and decrease accumulation of aluminum in the roots. **Plant Soil**, v. 326, p. 187–198, 2010.

VARDAR, F., UNAL, M. Aluminum toxicity and resistance in higher plants. **Adv. Mol. Biol**, v. 1, p. 1–12, 2007.

VASSILEV, N., MEDINA, A., AZCON, R., AND VASSILEVA, M. Microbial solubilization of rock phosphate on media 128 containing agro-industrial wastes and effect of the resulting products on plant growth and P uptake. **Plant Soil**, v. 287, p. 77-84, 2006.

VEITCH, F. P. Comparison of methods for the estimation of soil acidity. **J. Am. Chem. Soc**, v. 26, p. 637–662, 1904.

VITORELLO, V.A., CAPALDI, F.R., STEFANUTO, V.A. Recent advances in aluminum toxicity and resistance in higher plants. **Braz. J. Plant Phys.** 17, 129–143, 2005.

WASI, S., TABREZ, S., AND AHMAD, M. Use of *Pseudomonas* spp. for the bioremediation of environmental pollutants: a review. **Environ. Monit. Assess.**, v. 185, p. 8147–8155, 2013.

WATANABE, T., MISAWA, S., HIRADATE, S., AND OSAKI, M. Characterization of root mucilage from *Melastoma malabathricum*, with emphasis on its roles in aluminium accumulation. **New Phytol**, v. 178, p.581–589, 2008.

WATANABE, T., OSAKI, M., Mechanisms of adaptation to high aluminum condition in native plant species growing in acid soils: a review. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, v. 33, p. 1247–1260, 2002.

YANG, J.L., ZHU, X.F., PENG, Y.X., ZHENG, C., LI, G.X., LIU, Y., SHI, Y.Z., ZHENG, S.J. YU, M., SHEN, R., XIAO, H., XU, M., WANG, H., WANG, H. Boron alleviates aluminum toxicity in pea (*Pisum sativum*). *Plant Soil*, v. 314, p. 87–98, 2009.

ZHANG, M., MA, Y., HORST, W. J., AND YANG, Z.-B. Spatial-temporal analysis of polyethylene glycol-reduced aluminium accumulation and xyloglucan endotransglucosylase action in root tips of common bean (*Phaseolus vulgaris*). *Ann. Bot.* v. 118, p. 1–9, 2016.

ZHANG, N.; HAI-JUN ZHANG, BING ZHAO, QIAN-QIAN SUN, YUN-YUN CAO, REN LI, XIN-XIN WU, SARAH WEEDA, LI LI, SHUXIN REN, RUSSEL J REITER, YANG-DONG GUO. The RNA-seq approach to discriminate gene expression profiles in response to melatonin on cucumber lateral root formation. *J Pineal Res*, v. 56, n. 1, p. 39-50, 2014.

ZHENG, S.J., YANG, J.L. Target sites of aluminum phytotoxicity. *Biol Plant*, v. 49, p.321–331, 2005.

ZHOU, G., DELHAIZE, E., ZHOU, M., AND RYAN, P. R. “Biotechnological solutions for enhancing the aluminium resistance of crop plants,” in **Abiotic Stress in Plants-Mechanisms and Adaptations**, eds A. Shanker and B. Venkateswarlu (Rijeka: InTech), 2011.

3 CAPÍTULO 2: FITOTOXIDADE POR ALUMÍNIO AMENIZADA POR *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* EM CULTIVARES DE TRIGO: DINÂMICA FOTOSSINTÉTICA E EFICIÊNCIA AGRONÔMICA

Resumo: A raiz é o primeiro órgão afetado pelo alumínio fitotóxico em solos ácidos, gerando efeitos nocivos alterando, inclusive, a assimilação líquida de CO₂, a qual é primordial para a produtividade das culturas. Neste sentido, bactérias promotoras de crescimento vegetal vêm sendo introduzidas pela atuação frente a estresses bióticos e abióticos, como alternativa sustentável ao sistema de produção. Visto o exposto, o objetivo é analisar a ação do *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* no crescimento, trocas gasosas e fatores de produção em cultivares de trigo submetidas a presença de alumínio. O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados, em esquema fatorial 3 x 4, com quatro repetições, sendo 3 cultivares de trigo com diferentes níveis de resistência ao Al: IAC 5 Maringá (resistente), BRS Sanhaço (intermediária) e Anahuac 75 (sensível), em quatro condições de cultivo: 1. Controle; 2. Inoculação com *Azospirillum brasilense* + alumínio; 3. Inoculação com *Pseudomonas fluorescens* + alumínio; e 4. Sem inoculação + alumínio. Nas fases de perfilhamento e espigamento foram mensuradas as variáveis biométricas, a análise de trocas gasosas foi realizada na fase de espigamento e os componentes de produção foram avaliados na colheita. Houve incremento nas variáveis biométricas ao se inocular as bactérias, contribuindo ainda para o aproveitamento da assimilação líquida de CO₂, que, por sua vez, proporcionou resultados diretos nos componentes de produção. A inoculação com *Pseudomonas fluorescens* aliada a cultivar BRS Sanhaço proporciona desempenho fotossintético e efeitos positivos nos componentes de produção.

Palavras-chave: Bactérias Promotoras de Crescimento Vegetal; Biometria; Componentes de produção; Trocas gasosas.

3.1 INTRODUÇÃO

No âmbito das principais culturas agrícolas destinadas à produção de alimentos, o trigo responde por aproximadamente 21% da demanda mundial (Santi et al., 2017), dessa forma, o avanço de novas tecnologias, principalmente práticas culturais mais adequadas, uso de fertilizantes, controle químico de pragas e de cultivares mais adaptadas e com alta estabilidade, são essenciais para otimizar a produtividade do trigo (Basso et al., 2017).

Neste cenário, a produção agrícola em larga escala depende do uso de fertilizantes químicos que fornecem nutrientes essenciais para as plantas (Adesemoye et al., 2009). Entretanto, o uso excessivo e inadequado pode gerar impactos ambientais, sendo a acidificação do solo um desses sérios problemas que limita a produtividade da cultura a nível comercial, pela fitotoxicidade devido ao aumento da solubilidade de alumínio (Al^{3+}) (Singh et al., 2017).

Uma das principais restrições da produtividade agrícola é a presença de alumínio fitotóxico em solos ácidos, resultando em interações complexas com inibição do crescimento e alterações fisiológicas, celulares e moleculares (Schmitt et al., 2016). Embora seja difícil identificar os locais-alvo da fitotoxicidade por alumínio sabe-se que o primeiro efeito prejudicial é no crescimento da raiz.

Desta forma, a utilização de manejos mais expressivos com o uso da tecnologia de inoculação de microrganismos se faz promissora no desenvolvimento de alternativas sustentáveis para alcançar máximas produtividades com baixos custos de produção em solos ácidos na presença de alumínio fitotóxico.

A região do solo onde os processos realizados pelos microrganismos são influenciados pelo sistema radicular é chamada de rizosfera, onde exsudados liberados pelas raízes das plantas atraem organismos benéficos, neutros e até prejudiciais. Dentre eles estão as Bactérias Promotoras de Crescimento Vegetal (BPCV), um grupo benéfico e heterogêneo de microrganismos capazes de aumentar o crescimento das plantas e proteger contra o ataque de doenças e estresses abióticos (Farth et al., 2017).

Os mecanismos pelos quais BPCV estimulam o crescimento da planta envolve o alívio do estresse abiótico por meio da modulação da expressão de ACC desaminase, produção de fitormônios e sideróforos, entre vários outros (Souza et al., 2015). A produção de sideróforos ajuda na redução da disponibilidade de metais que são tóxicos para as plantas (Dimkpa et al., 2009) e as BPCV podem induzir a tolerância da planta pela indução da expressão de genes relacionados ao estresse deste metal (Sukweenadhi et al., 2015).

Portanto, visando responder a seguinte hipótese: as bactérias promotoras de crescimento vegetal contribuem com o crescimento, incremento fotossintético e de produção na cultura do trigo em solo ácido com a presença de alumínio fitotóxico, este estudo tem por objetivo analisar a ação do *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* no crescimento, trocas gasosas e fatores de produção em cultivares de trigo submetidas a presença de alumínio.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Delineamento experimental e tratamentos

O ensaio foi conduzido em blocos casualizados com quatro repetições, com duas plantas por repetição. Para isto, adotou-se o esquema fatorial 3 x 4, sendo três cultivares de trigo com diferentes níveis de resistência ao Al: IAC 5 Maringá (resistente), BRS Sanhaço (intermediária) e Anahuac 75 (sensível), em quatro condições de cultivo: 1. Controle; 2. Inoculação com *Azospirillum brasilense* + alumínio; 3. Inoculação com *Pseudomonas fluorescens* + alumínio; e 4. Sem inoculação + alumínio.

3.2.2 Implantação e condução do experimento

O experimento foi implantado e conduzido em estufa de cultivo protegido pertencente ao Núcleo de Estações Experimentais (NEE) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE, *campus* de Marechal Cândido Rondon, PR, com teto tipo arco, revestida com filme de polietileno de baixa densidade (150 μm de espessura) e laterais protegidas com tela branca de 40% de sombreamento em vasos de 10 litros preenchidos com substrato contendo 0,00 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$ de Al^{3+} (tratamento sem alumínio) (Tabela 1) e vasos preenchidos com substrato contendo 1,29 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$ de Al^{3+} (tratamento com alumínio) (Tabela 2), de acordo com a análise química do solo.

Tabela 1 - Análise de solo para o substrato sem alumínio.

pH CaCl_2	M.O	P	H+Al	Al^{3+}	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	V	m
	g dm^{-3}	mg dm^{-3}			$\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$			%	
5,65	23,24	32,30	4,02	0,00	0,31	2,72	1,44	52,67	0,00

Tabela 2 - Análise de solo para o substrato com alumínio.

pH CaCl ₂	M.O	P	H+Al	Al ³⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	V	m
	g dm ⁻³	mg dm ⁻³			cmol _c dm ⁻³			%	
4,22	21,11	1,89	10,45	1,29	0,08	1,78	0,50	18,42	35

Para isto, os vasos foram separados em: tratamentos sem alumínio, em que se utilizou substrato já corrigido e tratamentos com alumínio, no qual o solo utilizado estava sem correção e com a presença de alumínio. Antes da semeadura os vasos com substratos sem presença de alumínio foram homogeneizados com adubo NPK (2-20-20) e 5,5 g de uréia de acordo com a adubação recomendada para condução de ensaios em ambiente controlado em vasos (Novaes et al., 1991).

Foram realizadas as inoculações das sementes de trigo com as estirpes AbV5+AbV6 de *A. brasilense* e com *P. fluorescens* - cerca de 2×10^8 UFC mL⁻¹, dos quais se aplicou a proporção de 2,0 mL para cada 1000 sementes. O experimento foi conduzido até o período de maturação, em que durante sua condução a irrigação ocorreu diariamente respeitando a capacidade de campo e foi necessário o controle de oídios, pulverizando-se bicarbonato de sódio (Moreira, 2014).

3.2.3 Medidas de trocas gasosas e índice SPAD

A análise de trocas gasosas foi realizada na fase de espigamento em folhas completamente expandidas e expostas ao sol. Com o auxílio do medidor portátil de trocas gasosas *Infra-Red Gas Analyzer* (IRGA) Li-6400XT, medidas tipo “survey” foram realizadas obtendo-se as seguintes variáveis: *A* – Taxa de assimilação líquida de CO₂ ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); *E* – Taxa de transpiração ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); *g_s* – Condutância estomática ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); *C_i* – Concentração interna de CO₂ ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$); *EUA* – Eficiência no uso da água *A/E*; *EiUA* – Eficiência intrínseca no uso da água *A/g_s*.

Com o auxílio do medidor portátil SPAD 502 plus Konica Minolta, aferiu-se o teor relativo de clorofila foliar, índice SPAD, no perfilhamento e espigamento com o intuito de avaliar a variação do teor relativo de clorofila foliar em função da fitotoxidez de alumínio e das bactérias promotoras de crescimento após avaliação das medidas de trocas gasosas.

3.2.4 Variáveis biométricas

Nas fases de perfilhamento e espigamento foi mensurado o comprimento da parte

aérea (CPA) (cm) com auxílio de uma régua graduada, o diâmetro basal do colmo (DBC) (mm) utilizando-se um paquímetro digital, e foram contabilizados o número de folhas (NF) e o número de perfilhos (NP). Na maturação, as amostras de parte aérea e de raiz foram coletadas e foi realizado a mensuração do comprimento da raiz (CR) mediante uma régua graduada. Concomitantemente avaliou-se a área foliar (AF), a qual foi obtida pela equação proposta por Benincasa (2003):

$$AF: [(AF_A \times MSF_T) / MSF_A]$$

Onde AF_A representa a área foliar da amostra coletada, MSF_T é a massa de matéria seca foliar total e MSF_A é a massa de matéria seca foliar da amostra.

A parte aérea e de raiz coletadas foram armazenadas em sacos tipo kraft e mantidas em estufas com circulação de ar forçado a $65 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ por 72 horas até o peso constante para obtenção das variáveis massa de matéria seca da parte aérea (MSPA) e massa de matéria seca da raiz (MSR).

3.2.5 Componentes da produção

Na maturação houve a colheita para as avaliações de variáveis relacionadas à produção da cultura, em que seus valores foram obtidos pela média das duas plantas de cada vaso. Os componentes da produção avaliados foram: número de espigas (NE), comprimento médio de espigas (CE), diâmetro médio de espigas (DE) - mensurado em mm com auxílio de um paquímetro digital -, número de espiguetas por espiga (NEE), número de grãos por espiga (NGE) e massa de 100 grãos (M100).

3.2.6 Análise estatística

Os dados foram tabulados e avaliados quanto à normalidade (Shapiro-Wilk) e homoscedasticidade (Levene), e aqueles com distribuição normal foram submetidos à análise de variância (ANOVA) acompanhada por teste de Tukey ($P < 0,05$). As avaliações estatísticas foram realizadas através do SISVAR (Ferreira, 2019).

3.3. RESULTADOS

3.3.1 Trocas gasosas e índice SPAD

Os resultados demonstraram diferença significativa apenas para as condições de cultivo, não havendo interação entre os fatores estudados. Dentre eles, a inoculação com a BPCV *Pseudomonas fluorescens* apresentou maiores médias para a dinâmica de trocas gasosas, porém não diferenciou significativamente da *Azospirillum brasilense* (Tabela 3).

Em contraste observou-se redução das variáveis em estudo na condição de cultivo com a presença de alumínio (Tabela 3), inferindo atenuação do efeito fitotóxico pela ação da inoculação das BPCV, contribuindo com o desempenho fotossintético da cultura, sendo até superior ao controle.

Mesmo que os resultados tenham apresentado incrementos na fotossíntese e na taxa de transpiração, a eficiência no uso da água e eficiência intrínseca no uso da água não apresentaram diferença significativa, o que pode indicar maior necessidade de água para manutenção das taxas fotossintéticas.

Tabela 3. Taxa de assimilação líquida de CO₂ (*A*); Taxa de transpiração (*E*); Condutância estomática (*g_s*); Concentração interna de CO₂ (*C_i*) em cultivares de trigo inoculadas com bactérias promotoras de crescimento vegetal e cultivadas em solo com presença de alumínio.

Condições de cultivo	<i>A</i>	<i>g_s</i>	<i>C_i</i>	<i>E</i>
	μmol [CO ₂] m ⁻² s ⁻¹	mol [H ₂ O] m ⁻² s ⁻¹	μmol [CO ₂] mol ⁻¹	mmol [H ₂ O] mol ⁻¹
Controle	11,2 ± 2,6 bc	0,49 ± 0,13 b	346,7 ± 8,2 ab	4,4 ± 1,0 b
<i>Azospirillum brasilense</i> + Alumínio	13,6 ± 2,9 ab	0,64 ± 0,11 a	346,9 ± 5,5 a	5,3 ± 0,4 a
Alumínio sem BPCV	11,0 ± 1,5 c	0,47 ± 0,10 b	339,8 ± 6,4 b	4,6 ± 0,6 b
<i>Pseudomonas fluorescens</i> + Alumínio	15,2 ± 2,0 a	0,66 ± 0,10 a	347,0 ± 6,5 a	5,4 ± 0,3 a

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Valores descritos correspondem à médias de quatro repetições e desvio padrão.

Não foi observado interação significativa para a variável índice Spad (perfilhamento), índice relacionado ao teor relativo de clorofila, mas sim de forma isolada para as condições de cultivo (Tabela 4) e cultivares, em que a cultivar IAC 5 Maringá se sobressaiu as demais apresentando médias de 6% a mais que a BRS Sanhaço e 14% a mais em relação a cultivar Anahuac 75 (Tabela 4).

Tabela 4 - Índice Spad em cultivares de trigo inoculadas com bactérias promotoras de crescimento vegetal e cultivadas em solo com presença de alumínio.

Cultivares	Índice Spad
	Perfilhamento
IAC 5 Maringá	52,52 ± 2,36 a
BRS Sanhaço	49,77 ± 1,74 ab
Anahuac 75	45,07 ± 1,38 b

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Valores descritos correspondem à médias de quatro repetições e desvio padrão.

Em média houve um crescimento do índice Spad tanto no perfilhamento quanto no espigamento com a inoculação das BPCV em comparação ao cultivo somente com a presença de alumínio (Tabela 5). De modo geral, o incremento positivo das BPCV relaciona o índice Spad ao aumento da dinâmica de trocas gasosas pela manutenção de maiores teores de clorofila com o aproveitamento da energia luminosa (Tabela 3).

Tabela 5 - Índice Spad no perfilhamento e espigamento em cultivares de trigo inoculadas com bactérias promotoras de crescimento vegetal e cultivadas em solo com presença de alumínio.

Condições de cultivo	Índice Spad	
	Perfilhamento	Espigamento
Controle	50,13 ± 2,11 a	52,31 ± 2,28 a
<i>Azospirillum brasilense</i> + Alumínio	53,25 ± 2,73 a	58,32 ± 3,39 a
Alumínio sem BPCV	42,17 ± 1,21 b	46,36 ± 0,97 b
<i>Pseudomonas fluorescens</i> + Alumínio	50,92 ± 1,69 a	54,05 ± 1,85 a

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Valores descritos correspondem à médias de quatro repetições e desvio padrão.

3.3.2 Variáveis biométricas

Devido as medidas biométricas terem sido avaliadas em fases da cultura, separou-se as variáveis demonstrando a significância para as cultivares e para condições de cultivo. Assim, efeitos significativos foram verificados nas cultivares para número de perfilho e comprimento do dossel (espigamento) e massa seca da parte aérea e massa seca da raiz (maturação) (Tabela 6).

A partir deles, de forma geral, observou-se maiores desempenhos nas cultivares IAC 5 Maringá e BRS Sanhaço, corroborando com as características de cultivar resistente e cultivar intermediária, respectivamente, para a fitotoxicidade do alumínio, sendo superiores a cultivar Anahuac 75, considerada sensível a esse metal.

Tabela 6 - Número de perfilho (NP), Comprimento da parte aérea (CPA) medidos na fase de Espigamento; Massa seca da parte aérea (MSPA) e Massa seca da raiz (MSR) medidos na fase de Maturação em cultivares de trigo inoculadas com bactérias promotoras de crescimento vegetal e cultivadas em solo com presença de alumínio.

Cultivares	NP	CPA (cm)	MSPA (g)	MSR (g)
	Espigamento		Maturação	
IAC 5 Maringá	17,19 ± 1,12 b	83,61 ± 3,61 a	21,47 ± 1,31 a	6,59 ± 0,36 a
BRS Sanhaço	22,09 ± 1,69 a	57,26 ± 3,15 b	21,64 ± 1,58 a	6,03 ± 0,60 a
Anahuac 75	18,81 ± 1,29 ab	62,53 ± 1,82 b	17,44 ± 1,42 b	4,26 ± 0,39 b

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Valores descritos correspondem à médias de quatro repetições e desvio padrão.

Para as condições de cultivo estudadas, a inoculação com a bactéria *Pseudomonas fluorescens* + alumínio apresentou médias superiores às demais, porém não foi significativamente diferente da *Azospirillum brasilense* + alumínio e, em algumas variáveis, em relação ao controle. Ao se observar os resultados para a condição de cultivo somente com o alumínio fitotóxico, houve redução das variáveis biométricas em todo o período de perfilhamento e espigamento.

Houve aumento significativo do número de folhas em 37% para *A. brasilense* + alumínio e 38% para *P. fluorescens* + alumínio no perfilhamento e, 22% para *A. brasilense* + alumínio e 30% para *P. fluorescens* + alumínio no espigamento; também do número de perfilhos em 43% para *A. brasilense* + alumínio e 52% para *P. fluorescens* + alumínio no perfilhamento e, 32% para *A. brasilense* + alumínio e 39% para *P. fluorescens* + alumínio no espigamento quando se compara a condição de cultivo somente com alumínio àquelas com a inoculação das bactérias (Tabela 7).

Tabela 7 - Número de folhas (NF) no espigamento e perfilhamento e Número de Perfilhos (NP) no espigamento e perfilhamento em cultivares de trigo inoculadas com bactérias promotoras de crescimento vegetal e cultivadas em solo com presença de alumínio.

Condições de cultivo	NF		NP	
	Perfilhamento	Espigamento	Perfilhamento	Espigamento
Controle	59,00 ± 7,03 b	75,58 ± 6,95 b	15,25 ± 0,90 b	19,33 ± 1,27 a
<i>Azospirillum brasilense</i> + Alumínio	84,75 ± 4,56 a	97,75 ± 4,60 ab	16,36 ± 1,19 ab	20,67 ± 1,53 a
Alumínio sem BPCV	53,21 ± 5,55 b	76,83 ± 4,71 b	9,38 ± 1,17 c	14,13 ± 1,25 b
<i>Pseudomonas fluorescens</i> + Alumínio	86,08 ± 5,76 a	109,83 ± 7,39 a	19,55 ± 1,32 a	23,33 ± 1,57 a

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Valores descritos correspondem à médias de quatro repetições e desvio padrão.

Foi observado diferença significativa para as condições de cultivos deste estudo, em que houve um crescimento do diâmetro basal do colmo, apresentando acréscimos significativos com a inoculação nas duas fases analisadas (Tabela 8). Em relação ao comprimento da parte

aérea na fase de espigamento, observou-se diferença significativa apenas entre a condição de cultivo com *P. fluorescens* e com presença apenas de alumínio, sendo as maiores médias apresentadas por essa bactéria.

Para o comprimento da raiz (Figura 6), massa seca da parte aérea, massa seca da raiz e área foliar observou-se decréscimos significativos sem a inoculação das bactérias promotoras de crescimento vegetal, mas a partir da inoculação, os resultados mostraram maiores incrementos nessas variáveis mesmo em presença de alumínio fitotóxico (Tabela 9).

No perfilhamento, o resultado de comprimento da parte aérea apresentou uma interação entre as condições de cultivos e as cultivares, em que a IAC 5 Maringá obteve resultados significativos e a condição de cultivo com apenas alumínio, decréscimos significativos, inferindo ação positiva das BPCV nas cultivares de trigo (Tabela 10).

Tabela 8 - Diâmetro da base do colmo (DBC) no espigamento e perfilhamento e Comprimento da parte aérea (CPA) no espigamento em cultivares de trigo inoculadas com bactérias promotoras de crescimento vegetal e cultivadas em solo com presença de alumínio.

Condições de cultivo	DBC (mm)		CPA (cm)
	Perfilhamento	Espigamento	Espigamento
Controle	3,79 ± 0,26 a	4,19 ± 0,27 a	66,20 ± 4,94 ab
<i>Azospirillum brasilense</i> + Alumínio	3,93 ± 0,24 a	4,35 ± 0,16 a	70,48 ± 4,91 ab
Alumínio sem BPCV	2,13 ± 0,13 b	3,21 ± 0,13 b	60,16 ± 4,61 b
<i>Pseudomonas fluorescens</i> + Alumínio	3,88 ± 0,22 a	4,33 ± 0,18 a	74,36 ± 3,86 a

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Valores descritos correspondem à médias de quatro repetições e desvio padrão.

Tabela 9 - Comprimento da raiz (CR), Massa seca da parte aérea (MSPA), Massa seca da raiz (MSR) e Área foliar (AF) na maturação em cultivares de trigo inoculadas com bactérias promotoras de crescimento vegetal e cultivadas em solo com presença de alumínio.

Condições de cultivo	CR (cm)	MSPA (g)	MSR (g)	AF (dm ² vaso ⁻¹)
	Maturação			
Controle	29,30 ± 0,90 bc	18,74 ± 1,46 ab	5,98 ± 0,71 a	4,16 ± 0,52 a
<i>Azospirillum brasilense</i> + Alumínio	30,03 ± 0,86 b	23,73 ± 2,03 a	5,98 ± 0,61 a	4,29 ± 0,54 a
Alumínio sem BPCV	25,98 ± 0,80 c	15,24 ± 1,00 b	4,45 ± 0,42 b	2,25 ± 0,26 b
<i>Pseudomonas fluorescens</i> + Alumínio	34,32 ± 0,93 a	23,01 ± 1,08 a	6,04 ± 0,59 a	3,70 ± 0,38 a

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Valores descritos correspondem à médias de quatro repetições e desvio padrão.

Tabela 10 - Comprimento da parte aérea (CPA) no perfilhamento em cultivares de trigo inoculadas com bactérias promotoras de crescimento vegetal e cultivadas em solo com presença de alumínio.

Cultivares	CPA (cm) - Perfilhamento			
	Condições de cultivo			
	Controle	<i>Azospirillum brasilense</i> + Alumínio	Alumínio sem BPCV	<i>Pseudomonas fluorescens</i> + Alumínio
IAC 5 Maringá	47,60 ± 4,46 Aab	55,45 ± 4,55 Aa	34,88 ± 0,94 Ab	48,53 ± 5,12 Aa
BRS Sanhaço	20,03 ± 1,90 Ca	15,08 ± 1,17 Cbc	12,59 ± 0,63 Cc	17,63 ± 1,50 Cab
Anahuac 75	34,48 ± 2,42 Ba	24,30 ± 2,11 Bb	18,85 ± 1,80 Bc	27,30 ± 1,53 Bab

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Valores descritos correspondem à médias de quatro repetições e desvio padrão.

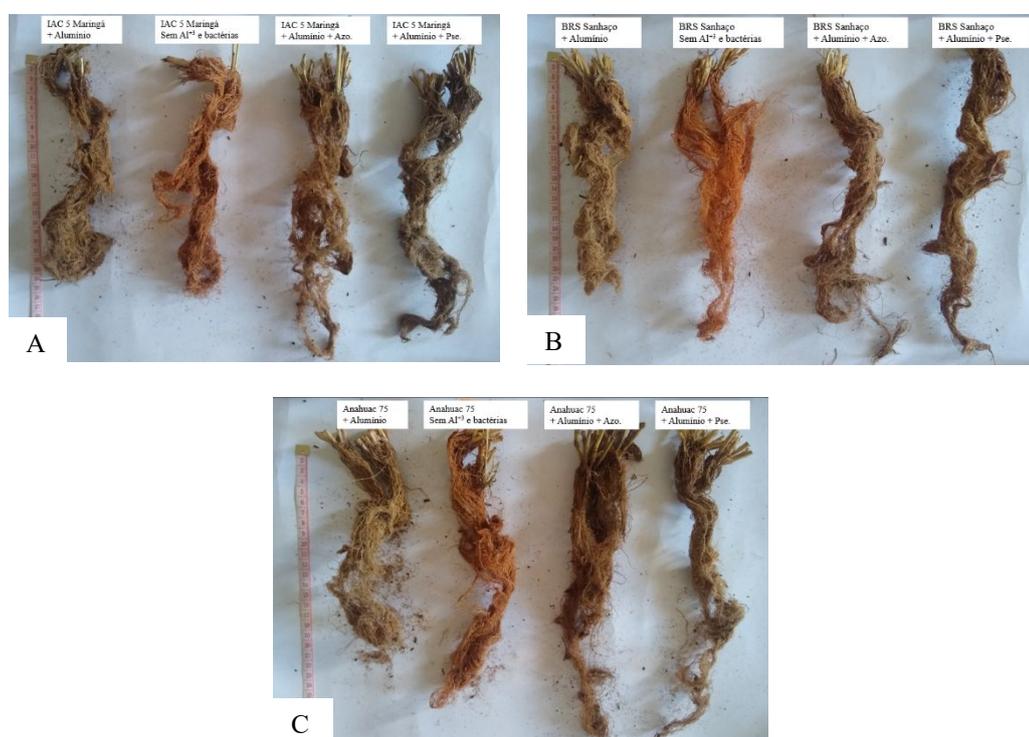


Figura 6 - Raízes das cultivares IAC 5 Maringá (A), BRS Sanhaço (B) e Anahuac (C), demonstrando o resultado visual em relação às condições de cultivo.

3.3.3 Componentes de produção

Dentre as variáveis analisadas, o número de espigas por espiguetas e a massa de 100 grãos responderam a interação entre as condições de cultivo e as cultivares. Para o número de espigas por espiguetas a cultivar BRS Sanhaço demonstrou resultados superiores em relação as condições de cultivo, em que apresentou acréscimos de 18% para *A. brasilense* + alumínio e 21% para *P. fluorescens* + alumínio ao comparar-se à condição de cultivo somente com alumínio (Tabela 11).

Ainda que a cultivar IAC 5 Maringá e Anahuac 75 tenham tido as melhores médias, essas não se demonstraram significativamente diferentes na interação. Portanto, observando o comportamento das cultivares em relação as condições de cultivo deste estudo, a BRS Sanhaço apresentou diferença significativa quando submetida a presença somente do alumínio e bom desempenho quando inoculada com as BPCV. A inoculação com a *P. fluorescens* e *A. brasilense* não demonstraram diferença significativa, porém a *P. fluorescens* apresentou melhores médias neste estudo (Tabela 11).

Do mesmo modo, a massa de 100 grãos foi reduzida quando as cultivares foram submetidas a condição de cultivo apenas com a presença de alumínio, demonstrando melhores médias para a inoculação com a *P. fluorescens* (Tabela 11). Ainda que as cultivares IAC 5 Maringá e Anahuac 75 tenham demonstrado melhores médias, a BRS Sanhaço se destacou apresentando diferença significativa entre as condições estabelecidas neste estudo.

Tabela 11 - Número de espigas por espiguetas (NEE) e Massa de 100 grãos (M100) em cultivares de trigo inoculadas com bactérias promotoras de crescimento vegetal e cultivadas em solo com presença de alumínio.

Cultivares	Condições de cultivo			
	Controle	<i>Azospirillum brasilense</i> + Alumínio	Alumínio sem BPCV	<i>Pseudomonas fluorescens</i> + Alumínio
NEE				
IAC 5 Maringá	36,9 ± 6,5 Ab	42,1 ± 1,5 ABab	37,2 ± 0,8 Aab	45,3 ± 6,3 ABa
BRS Sanhaço	38,9 ± 4,5 Aa	36,1 ± 2,4 Ba	29,5 ± 1,8 Bb	37,4 ± 3,3 Ba
Anahuac 75	38,3 ± 4,8 Ab	46,9 ± 5,8 Aab	40,2 ± 3,0 Aab	49,8 ± 5,5 Aa
M100				
IAC 5 Maringá	3,5 ± 0,2 Aab	3,6 ± 0,3 Aab	3,0 ± 0,3 Ab	4,0 ± 0,6 Aa
BRS Sanhaço	2,3 ± 0,1 Bb	2,7 ± 0,5 Bb	1,5 ± 0,4 Bc	3,5 ± 0,4 Aa
Anahuac 75	3,3 ± 0,2 Aab	3,8 ± 0,2 Aa	2,7 ± 0,4 Ab	3,6 ± 0,3 Aa

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Valores descritos correspondem à médias de quatro repetições e desvio padrão.

O número de espigas, número de grãos por espiga, diâmetro da espiga e comprimento da espiga não apresentou interação, porém foi possível observar diferença significativa para as cultivares e para as condições do solo de forma isolada. A partir dos resultados as cultivares IAC 5 Maringá e BRS Sanhaço apresentaram melhores resultados nos componentes de produção e houve decréscimo significativo quando foram submetidas a condição de cultivo somente com a presença de alumínio (Tabela 12).

Assim, para o número de espigas, número de grãos por espiga, diâmetro de espiga e comprimento de espiga, em geral observou-se diferença significativa entre as cultivares, porém,

a Anahuac 75, por ser uma cultivar sensível a fitotoxidade por alumínio, apresentou menores médias (Tabela 12).

Tabela 12. Número de espigas (NE), número de grãos por espiga (NGE), diâmetro da espiga (DE) e comprimento da espiga (CE) em cultivares de trigo inoculadas com bactérias promotoras de crescimento vegetal e cultivadas em solo com presença de alumínio.

Cultivares	NE	NGE	DE (mm)	CE (cm)
IAC 5 Maringá	12,3 ± 3,7 b	33,7 ± 6,3 a	7,9 ± 0,8 a	9,4 ± 0,8 a
BRS Sanhaço	12,8 ± 3,1 ab	34,4 ± 8,4 a	7,6 ± 0,7 b	9,9 ± 0,7 a
Anahuac 75	15,8 ± 5,0 a	24,6 ± 6,0 b	6,9 ± 0,6 c	8,6 ± 0,7 b

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Valores descritos correspondem à médias de quatro repetições e desvio padrão.

Nas condições de cultivo deste estudo, houve redução dos componentes de produção na presença apenas do alumínio. Em contraste, quando ocorreu a inoculação das BPCV em solo com presença de alumínio, observou-se o aumento dos componentes de produção em 39% (*Azospirillum brasilense* + Alumínio) e 35% (*Pseudomonas fluorescens* + Alumínio) para número de espigas; 37% (*Azospirillum brasilense* + Alumínio e *Pseudomonas fluorescens* + Alumínio) para número de grãos por espiga; 20% (*Azospirillum brasilense* + Alumínio) e 15% (*Pseudomonas fluorescens* + Alumínio) para diâmetro de espiga; 10% (*Azospirillum brasilense* + Alumínio) e 13% (*Pseudomonas fluorescens* + Alumínio) para comprimento de espiga (Tabela 13).

Tabela 13. Número de espigas (NE), número de grãos por espiga (NGE), diâmetro da espiga (DE) e comprimento da espiga (CE) em cultivares de trigo inoculadas com bactérias promotoras de crescimento vegetal e cultivadas em solo com presença de alumínio.

Condições de cultivo	NE	NGE	DE (mm)	CE (cm)
Controle	12,6 ± 2,9 ab	30,2 ± 5,7 b	7,5 ± 0,5 b	9,3 ± 0,5 ab
<i>Azospirillum brasilense</i> + Alumínio	16,3 ± 4,6 a	35,5 ± 8,7 ab	8,2 ± 0,7 a	9,5 ± 1,2 a
Alumínio sem BPCV	10,0 ± 3,0 b	22,4 ± 4,7 c	6,6 ± 0,5 c	8,6 ± 0,6 b
<i>Pseudomonas fluorescens</i> + Alumínio	15,4 ± 3,3 a	35,5 ± 5,6 a	7,7 ± 0,7 b	9,8 ± 0,8 a

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Valores descritos correspondem à médias de quatro repetições e desvio padrão.

3.4 DISCUSSÃO

O sistema radicular é estudado como sendo o primeiro órgão afetado pela ação do alumínio fitotóxico e as bactérias promotoras de crescimento vegetal tem seus efeitos conhecidos na capacidade de excreção de compostos auxínicos (Masciarelli et al., 2013) e da atividade da enzima ACC-deaminase resultando no desenvolvimento radicular, acumulando massa nos tecidos (Puente et al., 2009; Fukami et al., 2016).

Dessa forma, o incremento no comprimento da raiz e na massa seca da raiz (Tabela 9) pela ação do *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* se torna promissor na busca de manejos mais sustentáveis em meio ao estresse por alumínio. Em consonância, houve maior capacidade de exploração do solo (Hungria et al., 2010) e o consequente desenvolvimento da parte aérea (Tabela 10) possibilitando manutenção da atividade bioquímica (Fukami et al., 2016).

Uma grande diversidade no desempenho da planta foi detectada, permitindo identificar as variações ocorridas entre as cultivares IAC 5 Maringá, BRS Sanhaço e Anahuac 75 ao alumínio fitotóxico (Tabela 6 e 7), em que os resultados do presente estudo sugerem que o comportamento na presença do alumínio seja devido à diferença nos níveis e tipos secretados de ácidos orgânicos pelas suas raízes (Garcia-Oliveira et al., 2016).

Com relação a atividade fotossintética, Bashan et al. (2006) verificaram que a inoculação de sementes de trigo com *A. brasilense* promoveu incrementos significativos em alguns pigmentos fotossintéticos, o que corrobora com este estudo, em que a ação da *P. fluorescens* também apresentou maiores resultados (Tabela 3) quando as cultivares de trigo foram submetidas a presença de alumínio fitotóxico.

A capacidade de estímulo da fotossíntese pelas bactérias promotoras de crescimento vegetal está associada ao impulsionamento da produção de citocininas, que promove maior atividade da enzima RUBPcase e regeneração do substrato RUBPi (Ali et al., 2011) – importantes no processo fotossintético.

Aliado a isto, os resultados da condutância estomática e taxa transpiratória (Tabela 3) possibilitaram maior turgor celular ativando a atividade bioquímica (Filippou et al., 2014) pela maior exploração do sistema radicular (Figura 6). Segundo Masciarelli et al. (2013), os maiores teores de auxinas ocasionados pela ação de BPCV também incrementam o transporte hídrico aumentando a atividade da fotossíntese.

Vale ressaltar que o aumento em concentração de CO₂ no interior da câmara subestomática também eleva a taxa de assimilação líquida de CO₂ pela planta, porém, em um determinado momento, a entrada do CO₂ na folha não infere diretamente em aumento da taxa

de assimilação, sendo então esse ponto definido como o de máxima eficiência de carboxilação (Farquhar e Sharkey, 1982).

A adoção das bactérias promotoras de crescimento vegetal tem estabelecido melhores aproveitamentos da luminosidade, confirmados por este estudo (Tabela 3). E mesmo que valores elevados de índice Spad acarretem em maior abertura estomática por molécula de CO₂ fixada, não houve prejuízo a fotossíntese.

Em componentes de produção, houve eficiência no uso de BPCV com aumento das variáveis quando as cultivares foram inoculadas na presença de alumínio fitotóxico (Tabela 11 e 12). Sala et al. (2007) trabalhando somente com diferentes estirpes de bactérias promotoras do crescimento vegetal, verificaram que independente da bactéria utilizada, houve maior massa de mil grãos e, neste estudo, mesmo na presença de alumínio fitotóxico, as BPCV possibilitaram maior incremento em relação as condições de cultivo somente com a presença de alumínio.

Ainda, o número de perfilhos por planta é uma importante variável que se relaciona indiretamente com o rendimento, em que se a disponibilidade de nutrientes for adequada ao crescimento e desenvolvimento, vem a contribuir para elevação do rendimento de grãos (Camponogara et al., 2016).

De modo geral, a cultivar BRS Sanhaço apresentou bom desempenho nas condições de cultivo estudadas pela sua característica de não ser nem tolerante e nem sensível ao alumínio fitotóxico e a *P. fluorescens* se destacou, possivelmente, devido as questões que envolvem a sobrevivência dessas bactérias em meio ácido.

Assim, as questões de especificidade entre BPCV e as cultivares devem ser levadas em conta considerando fatores externos como a própria presença do alumínio fitotóxico no solo para que seja entendida a exploração positiva e significativa da inoculação no crescimento vegetal e redução de perdas em produtividade.

Essa interação ainda que seja promissora para o aumento da produtividade do trigo, estudos que visem entender os fatores limitantes da sobrevivência dessas bactérias em solos ácidos e na relação solo-planta-bactéria tornam-se de fundamental importância a partir dos levantamentos abordados neste trabalho.

3.5 CONCLUSÃO

A inoculação com *P. fluorescens* aliada a cultivar BRS Sanhaço proporciona maior exploração radicular e desenvolvimento de parte aérea, conjuntamente com maior desempenho fotossintético e nos componentes de produção. Estas respostas evidenciam a capacidade desta

bactéria promotora de crescimento em amenizar os efeitos deletérios do alumínio na cultura do trigo em solos ácidos.

3.6 REFERÊNCIAS

Adesemoye A O, Torbert HÁ, Kloepper JW (2009): Plant growth-promoting rhizobacteria allow reduced application rates of chemical fertilizers. *Microb Ecol*, 58: 921-929.

Bashan Y, Bustillos J J, Leyva L A, Hernandez J P, Bacilio M (2006): Increase in auxiliary photoprotective photosynthetic pigments in wheat seedlings induced by *Azospirillum brasilense*. *Biology and Fertility of Soils*, 42: 279-285.

Camponogara, A S, Oliveira G A, Georgin J, Rosa A L D (2016): Avaliação dos Componentes de Rendimento do Trigo quando Submetido a Diferentes Fontes de Nitrogênio *Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental Santa Maria*, 20: 524–532.

Dimkpa C, Weinand T and Asch F (2009): Plant-rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. *Plant Cell Environ*, 32:1682-1694.

Environmental and Experimental Botany, 97: 1–10.

Farh M El-A, Kim Y-J, Sukweenadhi J, Singh P, Yang D-C (2017): Aluminium resistant, plant growth-promoting bacteria induce overexpression of Aluminium stress related genes in *Arabidopsis thaliana* and increase the ginseng tolerance against Aluminium stress. *Microbiol Res*, 200: 45-52.

Farquhar G D, Sharkey T D (1982): Stomatal conductance and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology*, 33: 317-345.

Ferreira DF (2019): Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciênc Agrotec*, 35: 1039-1042.

Filippou, P. et al. (2014): Proline and reactive oxygen/nitrogen species metabolism is involved in the tolerant response of the invasive plant species *Ailanthus altissima* to drought and salinity.

Fukami J. et al. (2016): Accessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum brasilense*. *AMB Express*, 6: 3.

Garcia-Oliveira A L, Lopes P M, Tolra R, Poschenrieder C, Guedes-Pinto H, Benito C (2016): Respostas Fisiológicas diferenciais de Português do pão de trigo (*Triticum aestivum* L.) sob stress alumínio. *Diversidade*, 8: 26.

Hungria M. et al. (2010) Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. *Plant and Soil*, 331: 413–425.

Masciarelli, O. et al. (2013) Alternative mechanism for the evaluation of indole-3-acetic acid (IAA) production by *Azospirillum brasilense* strains and its effects on the germination and growth of maize seedlings. *Journal of Microbiology*, 51: 590–597.

Puente M L, Garcia J E, Alejandro P (2009): *Azospirillum brasilense* in the inoculum and its plant growth regulator compounds on crop yield of corn (*Zea mays* L.) in the field. *World Journal of Agricultural Sciences*, 5: 604–608.

Schmitt M, Watanabe T, Jansen S (2016): The effects of aluminium on plant growth in a temperate and deciduous aluminium accumulating species. *AoB Plants* doi: <http://dx.doi.org/10.1093/aobpla/plw065>.

Shweta S, Durgesh Kuma T, Swati S, Shivesh S, Nawal K D, Devendra K C, Marek V (2017): Toxicity of aluminium on various levels of plant cells and organism: A review. *Environmental and Experimental Botany*, 137: 177–193.

Souza R, Ambrosini A, Passaglia L M P (2015): Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. *Genetics and Molecular Biology*, 38: 401-419.

4 CAPÍTULO 3: INOCULAÇÃO DE *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* INCREMENTA O METABOLISMO DO NITROGÊNIO EM CULTIVARES DE TRIGO SUBMETIDAS A PRESENÇA DE ALUMÍNIO FITOTÓXICO

Resumo: Técnicas de manejo estratégicas que visem o posicionamento mais sustentável da cultura em campo é ponto-chave para alcançar máximas produtividades com aproveitamento dos recursos naturais. Assim, o uso de bactérias promotoras de crescimento vegetal torna-se promissoras no aporte bioquímico do vegetal. Deste modo, objetivou-se avaliar as variáveis bioquímicas a partir do metabolismo do nitrogênio em três cultivares de trigo inoculadas com *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* submetidas a presença de alumínio. O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados, em esquema fatorial 3 x 4, com quatro repetições, sendo 3 cultivares de trigo com diferentes níveis de resistência ao Al: IAC 5 Maringá (resistente), BRS Sanhaço (intermediária) e Anahuac 75 (sensível), em quatro condições de cultivo: 1. Controle; 2. Inoculação com *Azospirillum brasilense* + alumínio; 3. Inoculação com *Pseudomonas fluorescens* + alumínio; e 4. Sem inoculação + alumínio. As variáveis analisadas foram: extravasamento de eletrólitos em tecidos foliares e radiculares, bem como os teores de nitrato, amônio livre, N-aminossolúveis, proteínas solúveis totais, prolina e glicina-betaína. Houve aumento do extravasamento de eletrólitos quando as cultivares foram submetidas ao alumínio, mas foi atenuado pela inoculação de *A. brasilense* e *P. fluorescens*. Para os teores de nitrato, amônio foi observada diferença significativa somente entre as cultivares; o teor de proteínas solúveis totais foi reduzido na presença de alumínio e os de N-aminossolúveis não se alteraram. As concentrações de osmólitos compatíveis aumentaram quando as cultivares de trigo foram inoculadas com as bactérias promotoras de crescimento vegetal. A bactéria promotora de crescimento vegetal *Pseudomonas fluorescens* proporciona maior incremento bioquímico, sendo potencializado pela cultivar BRS Sanhaço, culminando em redução dos danos.

Palavras-chave: Comportamento Bioquímico; Fitotoxicidade; Microrganismos benéficos.

4.1 INTRODUÇÃO

A cultura do trigo (*Triticum aestivum* (L.) Thell]) por ter grande importância no sistema de produção agrícola do centro-sul do Brasil, devido ser uma opção economicamente viável durante o período de inverno (Pereira et al., 2017), tem sido alvo de pesquisas para estabelecer condições mais favoráveis de cultivo (Maciel et al., 2017; Mumbach et al., 2017; Santi et al., 2017).

Dentre estas condições de cultivo, o alumínio exerce efeito nocivo a cultura que, embora seja o metal mais abundante na crosta terrestre, não é um elemento essencial para a maioria das plantas, sendo tóxico quando em excesso. Assim, a fitotoxicidade do alumínio (Al^{3+}) limita a produtividade da planta em solos ácidos e esses tipos de solo cobrem aproximadamente 70% dos solos potencialmente agricultáveis no mundo (Von Uexküll e Mutert, 1995; Zhao et al., 2014).

Os seus efeitos fitotóxicos são observados primeiramente nas raízes com inibição do alongamento radicular, o que é causado por reduções na divisão celular pelo comprometimento da parede celular, membrana plasmática, citoesqueleto e estresse oxidativo, afetando, inclusive, o transporte e o metabolismo dos nutrientes nas plantas (Zhao e Shen, 2018).

Diante disto, a assimilação do nitrogênio (N), responsável por diversas funções metabólicas na planta, pode ser afetada na presença de concentrações tóxicas de Al^{3+} (Li et al., 2013). Stitt et al. (2002) afirmam que os processos de absorção, assimilação e mobilização de N são prejudicados inviabilizando a eficiência de utilização do sistema complexo de vias metabólicas, tornando as funções ineficientes na presença do alumínio tóxico.

Em contraste, no estudo realizado por Bojórquez-Quintal et al. (2017) demonstrou que o alumínio pode ser benéfico para algumas espécies de plantas por estimular a absorção de nutrientes. Assim, entender as possíveis interações Al-N é um desafio realizado desde a década de 1990.

A partir disto, dentre as pesquisas, Osaki et al. (1997) demonstraram que o alumínio estimulou a absorção de N por várias espécies de plantas adaptadas a solos ácidos; Dinev e Stancheva (1993), viram que os tratamentos com Al aumentaram os teores de N na parte aérea do trigo e do centeio.

Apesar de se ter na literatura artigos destacando este tema, o conhecimento sobre a interação alumínio e Bactérias Promotoras de Crescimento Vegetal (BPCV) se faz de fundamental importância na cultura do trigo aliados a tecnologias atuais para estabelecer

informações e explicar casos em que as BPCV podem até beneficiar a cultura em estresse de fitotoxicidade por alumínio.

Portanto, visando responder a seguinte hipótese: as bactérias promotoras de crescimento vegetal atenuam o estresse causado por alumínio fitotóxico na cultura do trigo, este estudo tem por objetivo avaliar as variáveis bioquímicas a partir do metabolismo do nitrogênio em três cultivares de trigo inoculadas com *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* submetidas a presença de alumínio.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Delineamento experimental e tratamentos

O ensaio foi conduzido em blocos casualizados com quatro repetições, com duas plantas por repetição. Para isto, adotou-se o esquema fatorial 3 x 4, sendo três cultivares de trigo com diferentes níveis de resistência ao Al: IAC 5 Maringá (resistente), BRS Sanhaço (intermediária) e Anahuac 75 (sensível), em quatro condições de cultivo: 1. Controle; 2. Inoculação com *Azospirillum brasilense* + alumínio; 3. Inoculação com *Pseudomonas fluorescens* + alumínio; e 4. Sem inoculação + alumínio.

4.2.2 Implantação e condução do experimento

O experimento foi implantado e conduzido em estufa de cultivo protegido pertencente ao Núcleo de Estações Experimentais (NEE) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE, *campus* de Marechal Cândido Rondon, PR, com teto tipo arco, revestida com filme de polietileno de baixa densidade (150 μm de espessura) e laterais protegidas com tela branca de 40% de sombreamento em vasos de 10 litros preenchidos com substrato contendo 0,00 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$ de Al^{+3} (tratamento sem alumínio) (Tabela 1) e vasos preenchidos com substrato contendo 1,29 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$ de Al^{+3} (tratamento com alumínio) (Tabela 2), de acordo com a análise química do solo.

Tabela 14 - Análise de solo para o substrato sem alumínio.

pH CaCl ₂	M.O	P	H+Al	Al ³⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	V	m
	g dm ⁻³	mg dm ⁻³			cmol _c dm ⁻³				%
5,65	23,24	32,30	4,02	0,00	0,31	2,72	1,44	52,67	0,00

Tabela 15. Análise de solo para o substrato com alumínio.

pH CaCl ₂	M.O	P	H+Al	Al ³⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	V	m
	g dm ⁻³	mg dm ⁻³			cmol _c dm ⁻³				%
4,22	21,11	1,89	10,45	1,29	0,08	1,78	0,50	18,42	10,07

Para isto, os vasos foram separados em: tratamentos sem alumínio, em que se utilizou substrato já corrigido e tratamentos com alumínio, no qual o solo utilizado estava sem correção e com a presença de alumínio. Antes da semeadura os vasos com substratos sem presença de alumínio foram homogeneizados com adubo NPK (2-20-20) e 5,5 g de uréia de acordo com a adubação recomendada para condução de ensaios em ambiente controlado em vasos (Novaes et al., 1991).

Foram realizadas as inoculações das sementes de trigo com as estirpes AbV5+AbV6 de *A. brasilense* e com *P. fluorescens* - cerca de 2×10^8 UFC mL⁻¹, dos quais se aplicou a proporção de 2,0 mL para cada 1000 sementes. O experimento foi conduzido até o período de maturação, em que durante sua condução a irrigação ocorreu diariamente respeitando a capacidade de campo e foi necessário o controle de oídios, pulverizando-se bicarbonato de sódio (Moreira, 2014).

4.2.3 Extravasamento de eletrólitos

O extravasamento de eletrólitos foi determinado de acordo com Blum e Ebercon (1981), com modificações, no qual foram pesados, separadamente, 100 mg de folhas e raízes de massa fresca (MF), seguindo-se de tripla lavagem com água deionizada, e posterior transferência do material vegetal para tubos de ensaio, nos quais foram adicionados 10 mL de água deionizada.

Os frascos fechados foram deixados em repouso sob temperatura ambiente (25 °C) durante 6 horas, com agitação em mesa agitadora a cada 20 minutos. Após esse período, com o auxílio de um condutivímetro, foi mensurada a condutividade elétrica da solução determinando a primeira leitura (L1). Em seguida, os tubos foram novamente fechados e aquecidos em “banho-maria” a 100 °C, por 1 hora. Após resfriamento dos tubos de ensaio à temperatura ambiente, a condutividade elétrica do extrato foi novamente medida obtendo-se a segunda leitura (L2), após as leituras o cálculo abaixo foi realizado:

$$VE (\%) = (L1 / L2) \times 100$$

4.2.4 Análises bioquímicas

A determinação das análises bioquímicas foi realizada a partir de folhas e raízes separadas e levadas à estufa de ventilação de ar forçada a 65 °C por 48 horas. O material seco foi triturado em moinho até a obtenção de um pó fino sendo devidamente armazenado até sua utilização nos ensaios. As análises foram realizadas no Laboratório de Fisiologia Vegetal/ Estudos da Biodiversidade em Plantas Superiores, localizado no Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal Rural da Amazônia.

4.2.5 Análise bioquímica das amostras

4.2.5.1 Determinação do teor de nitrato

Para a determinação do teor de nitrato (NO_3^-) utilizou-se a metodologia de Cataldo et al. (1975), na qual preparou-se em tubos de ensaio, adicionando 100 μL do extrato, a partir da massa seca (MS) e 200 μL de solução de ácido salicílico 5 % (p/v), em ácido sulfúrico concentrado. Após vigorosa agitação em agitador do tipo vortex, foram adicionados lentamente 4700 μL de NaOH 2N. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro na absorvância de 410 nm.

4.2.5.2 Determinação do teor de amônio livre

O teor de amônio livre (NH_4^+) foi determinado utilizando-se o método segundo Weatherburn (1967), no qual alíquotas de 400 μL do extrato total, 2,5 mL da solução A (5 g de fenol + 0,025 g de nitroprussiato de sódio/ 500 mL de água destilada) e 2,5 mL da solução B (2,5 g de NaOH + 12,6 mL de hipoclorito de sódio/ 500 mL de água destilada) foram homogeneizadas e, após repouso de 40 minutos, realizou-se a leitura a 625 nm. As concentrações de amônio livre foram estimadas a partir da curva-padrão construída com $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ p.a (Sigma).

4.2.5.3 Determinação dos teores de N-aminossolúveis

O método de Yemm e Cocking (1955) foi utilizado para determinar os teores de N-aminossolúveis, no qual foram adicionados aos tubos de ensaio 500 µL do extrato, 250 µL do tampão citrato 0,2 M, 500 µL do KCN 0,2 mM e 100 µL de ninhidrina 5%, em seguida foram a “banho-maria” por 20 minutos, a 100 °C e, após este tempo, interrompida a reação resfriando os tubos em banho de gelo. Após, foram adicionados 650 µL de etanol 60% para fixar a cor desenvolvida (violeta). A leitura foi realizada em espectrofotômetro à 570 nm.

4.2.5.4 Determinação do teor de proteínas solúveis totais

O teor de proteínas solúveis totais foram determinadas a partir do método descrito por Bradford (1976). Em tubos de ensaio adicionou-se 100 mg MS e 5,0 mL do tampão de extração (Tris-HCl 25 mM pH 7,6). Alíquotas de 100 µL da amostra foram homogeneizadas em 2,5 mL do reagente de Bradford. Após 15 minutos realizou-se as leituras a 595 nm.

4.2.5.5 Determinação do teor de prolina

Para determinação do teor de prolina, foram adicionados 1,0 mL de ninhidrina ácida e 1,0 mL de ácido acético glacial. Após 1 hora no “banho-maria” a 100 °C, foi interrompida a reação em banho de gelo adicionando-se 2,0 mL de tolueno. A leitura foi feita a 520 nm e as 30 concentrações de prolina determinadas a partir da curva-padrão com L-prolina p.a (Sigma) (Bates et al., 1973).

4.2.5.6 Determinação do teor de glicina-betaína

O teor de glicina-betaína foi determinado segundo Greive e Grattan (1983), no qual foi adicionado 250 µL de H₂SO₄ 2N (diluição da amostra 1:2) e 200 µL de KI-I₂ gelado, durante 16 horas a 0 °C. O precipitado foi lavado 2 vezes com 2 mL de H₂SO₄ 1N gelado com centrifugações por 5 minutos a 10.000 rpm em 0 °C a cada lavagem. Após as lavagens, foi dissolvido o precipitado em 3 mL de 1,2-dicloroetano. A leitura foi feita a 365 nm.

4.2.6 Análise estatística

Os dados, após tabulados, foram avaliados quanto à normalidade (Shapiro-Wilk) e homoscedasticidade (Levene), e aqueles com distribuição normal foram submetidos à análise de variância (ANOVA) acompanhada por teste de Tukey ($P < 0,05$). As avaliações estatísticas foram realizadas através do SISVAR (Ferreira, 2019).

4.3 RESULTADOS

4.3.1 Extravazamento de eletrólitos

Houve efeito significativo do extravasamento de eletrólitos somente para as condições de cultivo, em que na condição que havia apenas a presença de alumínio observou-se um aumento de 48% na folha e 51% na raiz em relação ao *A. brasilense* e 64% na folha e 45% na raiz em relação a *P. fluorescens* (Tabela 16). Para tais efeitos, as duas bactérias não diferiram estatisticamente entre si e nem em comparação ao controle e as cultivares não apresentaram efeitos significativos de acordo com a análise de variância.

Tabela 16 - Extravazamento de eletrólitos em folha e raiz de cultivares de trigo inoculadas com bactérias promotoras de crescimento vegetal e cultivadas em solo com presença de alumínio.

Condição de cultivo	Folha	Raiz
	%	
Controle	17,29 ± 1,57 b	40,40 ± 5,66 b
<i>Azospirillum brasilense</i> + Alumínio	22,31 ± 2,71 b	36,61 ± 5,93 b
Alumínio sem BPCV	42,75 ± 4,74 a	72,38 ± 4,42 a
<i>Pseudomonas fluorescens</i> + Alumínio	15,76 ± 2,04 b	40,23 ± 3,73 b

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Valores descritos correspondem à médias de quatro repetições e desvio padrão.

Dessa forma, com a presença das BPCV em solo com alumínio, pode-se observar efeitos mitigadores, reduzindo o extravasamento de componentes citoplasmáticos pela membrana celular. Em contraste, efeitos negativos do alumínio principalmente na raiz, órgão mais afetado por este metal.

4.3.2 Efeito do Al e da inoculação de BPCV nos teores de nitrato e amônio livre

Não foi observado diferença significativa para as condições de cultivo em estudo, porém os resultados entre as cultivares apresentaram diferença significativa quando avaliados os teores de nitrato e amônio livre para as folhas das cultivares, em que a cultivar Anahuac 75 diferiu significativamente da cultivar IAC 5 Maringá apresentando média de 0,104 μmol de $\text{NO}_3^- \text{g}^{-1}$ MS para a variável nitrato, enquanto para o amônio livre, a cultivar BRS Sanhaço diferiu significativamente da Anahuac 75, com média de 25,14 mmol $\text{NH}_4^+ \text{kg}^{-1}$ MS (Tabela 17).

Tabela 17 - Teores de Nitrato e Amônio livre em folhas de cultivares de trigo inoculadas com bactérias promotoras de crescimento vegetal e cultivadas em solo com presença de alumínio.

Cultivares	Nitrato	Amônio livre
	μmol de $\text{NO}_3^- \text{g}^{-1}$ MS	mmol $\text{NH}_4^+ \text{kg}^{-1}$ MS
IAC 5 Maringá	0,084 \pm 0,009 b	20,66 \pm 1,47 ab
BRS Sanhaço	0,104 \pm 0,011 ab	25,14 \pm 1,47 a
Anahuac 75	0,121 \pm 0,008 a	17,93 \pm 1,44 b

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Valores descritos correspondem à médias de quatro repetições e desvio padrão

4.3.3 N-aminossolúveis e proteínas solúveis totais

Embora as cultivares estudadas sejam resistentes, intermediária e sensível ao alumínio, os resultados não mostraram diferença estatística para os teores de N-aminossolúveis, somente apresentando diferença estatística para os tratamentos em relação a variável proteínas solúveis totais na folha.

Para tanto, ao se observar a condição de cultivo com inoculação com *P. fluorescens* nota-se diferença significativa em comparação as demais, com aumento de 19% em relação ao tratamento somente com alumínio. Ainda que tenham ocorrido aumentos para o tratamento com *A. brasilense*, estes foram menos expressivos (3,38 mg proteína g^{-1} MS), demonstrando que o metabolismo bioquímico das cultivares inoculadas com as BPCV distinguiram-se quanto ao acúmulo ou síntese de proteínas (Tabela 18).

Tabela 18 - Teores de proteínas solúveis totais em folhas de cultivares de trigo inoculadas com bactérias promotoras de crescimento vegetal e cultivadas em solo com presença de alumínio.

Condição de cultivo	Folha
	mg proteína g ⁻¹ MS
Controle	3,88 ± 0,27 b
<i>Azospirillum brasilense</i> + Alumínio	3,41 ± 0,32 b
Alumínio sem BPCV	3,38 ± 0,22 b
<i>Pseudomonas fluorescens</i> + Alumínio	4,17 ± 0,32 a

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Valores descritos correspondem à médias de quatro repetições e desvio padrão.

4.3.4 Efeito da inoculação com BPCV e da presença de Al nos osmólitos compatíveis

Para a variável glicina-betaína os resultados demonstraram redução significativa de 34% nas folhas e 29% nas raízes ao comparar-se a condição de cultivo somente com alumínio àquela inoculada com *P. fluorescens* e de 23% nas folhas e 27% nas raízes em relação a condição com o metal com a BPCV *A. brasilense* (Figura 7). Desse modo, considera-se que as duas bactérias proporcionaram atenuação dos efeitos deletérios do alumínio, não sendo observado diferença significativa entre as cultivares estudadas.

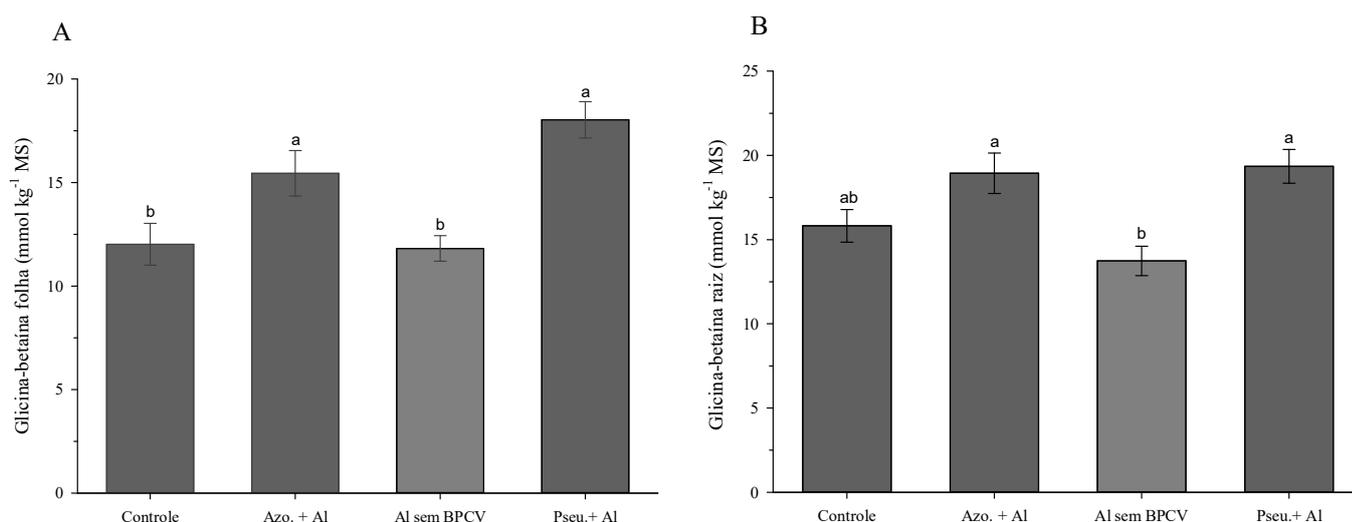


Figura 7 - Glicina-betaína em folhas (A) e raízes (B) de cultivares de trigo inoculadas com bactérias promotoras de crescimento vegetal e cultivadas em solo com presença de alumínio.

Sob os efeitos somente do alumínio foi observado decréscimos significativos no conteúdo de prolina livre nas raízes das cultivares estudadas, apresentando média de 1,96 μmol

Prolina g^{-1} MS, sendo 29% e 51% menor em comparação a condição de cultivo com inoculação de *A. brasilense* e *P. fluorescens*, respectivamente (Tabela 20).

Tabela 20 - Prolina livre em raízes de cultivares de trigo inoculadas com bactérias promotoras de crescimento vegetal e cultivadas em solo com presença de alumínio.

Condição de cultivo	Prolina livre
	$\mu\text{mol Prolina g}^{-1}$ MS
Controle	$2,23 \pm 0,23$ bc
<i>Azospirillum brasilense</i> + Alumínio	$2,78 \pm 0,31$ b
Alumínio sem BPCV	$1,96 \pm 0,16$ c
<i>Pseudomonas fluorescens</i> + Alumínio	$4,01 \pm 0,47$ a

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Valores descritos correspondem à médias de quatro repetições e desvio padrão.

Interação significativa entre as condições de cultivo e as cultivares foi verificada para as concentrações de prolina livre nas folhas, em que a cultivar BRS Sanhaço apresentou médias superiores as demais cultivares para todos as condições de cultivo. Apesar disto, os resultados apontam que quando as cultivares foram inoculadas com as bactérias promotoras de crescimento vegetal, houve um aumento significativo de prolina livre nas folhas em comparação a condição de cultivo apenas com alumínio (Tabela 21).

Quando as cultivares foram submetidas a condição com presença apenas de alumínio, diferiram estatisticamente das demais condições de cultivo, em conjunto, a cultivar BRS Sanhaço obteve melhor média nessa condição (Tabela 21). Ao se observar as bactérias promotoras de crescimento vegetal, a inoculação com a *P. fluorescens* não demonstrou diferença significativa entre as cultivares, porém para a inoculação com *A. brasilense*, as cultivares BRS Sanhaço e IAC 5 Maringá obtiveram as melhores médias.

Tabela 21 - Prolina livre em folhas de cultivares de trigo inoculadas com bactérias promotoras de crescimento vegetal e cultivadas em solo com presença de alumínio.

Cultivares	Condições de cultivo			
	Controle	<i>Azo.</i> + Al	Al sem BPCV	<i>Pseu.</i> + Al
	Prolina livre ($\mu\text{mol Prolina g}^{-1}$ MS)			
IAC 5 Maringá	$5,09 \pm 0,68$ Bb	$10,96 \pm 2,52$ Aa	$4,19 \pm 0,67$ Bb	$7,53 \pm 1,17$ Aa
BRS Sanhaço	$10,69 \pm 3,29$ Aa	$11,53 \pm 2,63$ Aa	$6,88 \pm 1,22$ Ab	$10,13 \pm 3,09$ Aa
Anahuac 75	$4,54 \pm 0,57$ Ba	$6,16 \pm 2,08$ Ba	$3,86 \pm 0,39$ Bb	$6,21 \pm 1,32$ Aa

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Valores descritos correspondem à médias de quatro repetições e desvio padrão.

4.4 DISCUSSÃO

4.4.1 Extravazamento de eletrólitos

A membrana plasmática é muito afetada pela ação do alumínio trivalente, em que este metal interage com lipídeos e proteínas da membrana modificando a estrutura molecular, aumentando a densidade de empacotamento dos lipídios e, conseqüentemente, aumentando a sua permeabilidade (Krtková et al., 2012). Dessa forma, o vazamento de eletrólitos observado neste estudo na condição de cultivo com alumínio, indica a passagem de não-eletrólitos e de permeadores tanto nas raízes quanto nas folhas das cultivares estudadas (Tabela 3).

Importante inferir que cerca de 75% do alumínio adsorvido à parede celular está ligado à fração hemicelulose, assim, há ligação deste metal a componentes da parede celular, que altera a sua capacidade de troca catiônica (Yang et al., 2011), ou seja, ao se ligar a moléculas de pectina, em uma ligação mais forte e rápida do que o cálcio (Ca^{2+}), podem influenciar a passagem de íons tanto para o interior quanto para o exterior das células da planta.

Ainda que as cultivares não demonstraram diferença significativa entre si foi observado que a inoculação com *A. brasilense* e *P. fluorescens* atenuaram os efeitos deletérios do alumínio sobre o vazamento de eletrólitos, em que na condição de cultivo com inoculação houve diferença significativa em relação àquela somente com alumínio, isso se deve ao fato das bactérias modificarem as reações químicas e bioquímicas, no interior da planta ou na rizosfera, melhorando os parâmetros fotossintéticos, a condutância estomática e a elasticidade da parede celular (Zuffo, 2016; Kaushal e Wani, 2016).

4.4.2 Efeito do Al e da inoculação de BPCV nos teores de nitrato e amônio livre

A nitrificação e altos níveis de alumínio caracterizam os solos ácidos e como as duas principais fontes de N inorgânico disponíveis para o crescimento das plantas são NH_4^+ e NO_3^- (Che et al., 2015), estudos têm mostrado que as plantas de trigo preferem NO_3^- ao NH_4^+ (Dinev e Stancheva, 1993; Famoso et al., 2010), porém embora esses efeitos da nitrificação no pH do

solo e na solubilidade do Al sejam conhecidos, menos se sabe sobre os efeitos do Al nas transformações do N do solo, como nitrificação e amonificação.

Contudo é possível observar que há uma complexa interação entre Al e N no sistema solo-planta, em que a toxicidade do Al inibe a absorção de NO_3^- pelas raízes das plantas porque o Al se liga ao transportador de NO_3^- e estimula o seu efluxo (Justino et al., 2006) e em alguns casos, o Al pode estimular a absorção de NO_3^- , devido, provavelmente, a um aumento na carga elétrica positiva na superfície da raiz, em que aumenta o co-transporte $\text{H}^+ - \text{NO}_3^-$ e diminui o efluxo de NO_3^- (Zhao e Shen, 2018).

Assim, os efeitos fisiológicos são indiretamente afetados por muitos fatores e não são específicos, demonstrando diferença significativa para as cultivares, em que para a variável nitrato a cultivar Anahuac 75 teve melhor performance, enquanto que para a variável amônio livre a cultivar BRS Sanhaço obteve as melhores médias. Indicando que as diferenças na absorção de NH_4^+ e NO_3^- entre as cultivares de trigo foram sugeridas como sendo o resultado e não a causa das diferenças na tolerância ao alumínio (Ikeda e Yamanishi, 1999).

Assim, mesmo que as bactérias promotoras de crescimento vegetal tenham aumentado os teores de nitrato e amônio, isso não foi significativo devido as interações Al-N, inferindo que os mecanismos exatos subjacentes estão descritos a nível molecular. Ainda, este estudo corroborou com as afirmações feitas pelo Zhao e Shen (2018), em que apesar das diversas interações entre Al e N observou-se que as cultivares resistentes ao Al geralmente preferem NH_4^+ , enquanto as sensíveis ao Al preferem NO_3^- (Tabela 4).

É importante salientar que a absorção de NH_4^+ pelas raízes das plantas pode tornar o meio de crescimento da planta acidificado, em contraste, pode haver a alcalinização deste meio de crescimento com a absorção de NO_3^- pelas raízes das plantas (Taylor e Foy, 1985). Para tanto, como a toxicidade do Al ocorre em solos ácidos, pode-se entender que a utilização preferencial de NO_3^- em relação ao NH_4^+ pode aumentar o pH do meio de crescimento inferindo atenuação dos efeitos deletérios do alumínio (Justino et al., 2006).

4.4.3 N-aminossolúveis e proteínas solúveis totais

Neste estudo, a inoculação com a bactéria *P. fluorescens* foi significativamente diferente das demais (Tabela 5), o que pode estar relacionado as interações ocorridas entre Al-N nos níveis transcricionais, que codificam enzimas envolvidas no metabolismo (He et al. 2014). A glutamina sintetase (GS) é uma enzima precursora na formação dos aminoácidos em plantas

superiores (Sarangthem et al. 2017), assim, as respostas deste estudo correlacionam-se com as vias de assimilação das fontes de N e suas interações com o alumínio.

Por conseguinte, a *P. fluorescens* demonstrou aumento do teor de proteínas solúveis totais nas folhas das cultivares estudadas quando submetidas a presença de alumínio, indicando efeitos diretos e/ ou indiretos na relação causa-efeito de biossíntese proteica ou de proteólise (Kováčik et al., 2010).

4.4.4 Efeito da inoculação com BPCV e da presença de Al nos osmólitos compatíveis

Em situações de estresse, o teor de prolina tende a acumular em células vegetais para ser usada como energia após o fim do estresse, com a redistribuição de nitrogênio e carbono e para a recuperação de atividades fisiológicas na planta (Hemaprabha et al., 2013). No entanto, neste estudo encontrou-se menores médias na condição de cultivo em que as cultivares foram submetidas apenas a presença do alumínio (Tabela 7).

Mas de forma essencial, as BPCV agiram atenuando os efeitos negativos do alumínio, porém a BPCV *P. fluorescens* obteve melhor resultado na concentração de prolina nas folhas e raízes das cultivares em estudo. Isso se deve a indução de resistência a estresses, possibilitando acúmulo de prolina em células vegetais (Hemaprabha et al., 2013). Importante entender que a prolina atua como osmorregulador (Cia et al., 2012), assim tanto o *A. brasilense* como a *P. fluorescens* promoveram efeitos na biossíntese e no seu acúmulo no vacúolo ou citosol a fim de manter as funções celulares das cultivares (Kavikishor et al., 2005).

A glicina-betaína também aumentou sua concentração quando as cultivares foram inoculadas com as BPCV, mas obteve resultados mais satisfatórios na condição de cultivo com inoculação da *P. fluorescens* (Figura 1), isso possibilitou a ativação de mecanismo de defesa e proteção do metabolismo vegetal (Carlin e Santos, 2009).

Ainda que esta variável atue no potencial hídrico das células isso indiretamente relaciona-se com o estresse causado pelo alumínio, no qual pode também afetar a estabilidade osmótica das células. Portanto, as bactérias promotoras de crescimento vegetal podem levar à produção de substâncias osmoprotetoras pela planta e assim atuar de forma sinérgica, além de induzir ou ser mediadoras de tolerância a estresses abióticos (Dimkpa et al., 2009).

4.5 CONCLUSÃO

A bactéria promotora de crescimento vegetal *Pseudomonas fluorescens* proporciona atenuação dos estresses causados pela presença de alumínio fitotóxico reduzindo as perdas no metabolismo do nitrogênio e contribuindo para o aumento de osmólitos compatíveis, sendo a BRS Sanhaço a cultivar que apresentou resultados que culminaram em redução dos danos.

4.6 REFERÊNCIAS

Abdul Jaleel C, Manivannan P, Kishorekumar A, Sankar B, Gopi R, Somasundaram R, Panneerselvam R (2007): Alterations in osmoregulations, antioxidant enzymes and indole alkaloid levels in *Catharanthus roseus* exposed to water deficit. *Colloid Surface B*, 59: 150-157.

Bates L, Waldren RP, Teare ID (1973): Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil*, 39: 205-207.

Blum A, Ebercon A (1981): *Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat*. *Crop Sci*, 21: 43-47.

Bojórquez-Quintal E, Escalante-Magaña C, Echevarría-Machado I, Martínez-Estévez M (2017): Aluminum, a friend or foe of higher plants in acid soils. *Front. Plant Sci*, 8:1767.

Bradford M (1976): A Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 72: 248-254.

Carlin SD, Santos DMM (2009): Indicadores fisiológicos da interação entre déficit hídrico e acidez do solo em cana-de-açúcar. *Pesq Agropec Bras*, 44: 1106-1113.

Cataldo DA, Haroon M, Schrader LE, Youngs VL (1975): Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Commun Soil Sci Plan*, 6: 71-80.

Che J, Zhao X Q, Zhou X, Jia, Z J, Shen R F (2015): High pH-enhanced soil nitrification was associated with ammonia-oxidizing bacteria rather than archaea in acidic soils. *Appl. Soil Ecol*, 85: 21–29.

Cia MC, Guimarães ACR, Medici LO, Chabregas SM, Azevedo RA (2012): Antioxidant responses to water deficit by drought-tolerant and – sensitive sugarcane varieties. *Ann Appl Biol*, 161: 313-324.

Dimkpa C, Weinand T, Asch F (2009): Plant-rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. *Plant Cell Environ*, 32:1682-1694.

Dinev N, Stancheva I (1993): Changes in nitrate reductase activity, plastid pigment content, and plant mineral composition of wheat, rye, and triticale grown in the presence of aluminum. *J. Plant Nutr.*, 16: 2397–2409.

Dinev N, Stancheva I (1993): Changes in nitrate reductase activity, plastid pigment content, and plant mineral composition of wheat, rye, and triticale grown in the presence of aluminum. *J. Plant Nutr.*, 16: 2397–2409.

Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F (1956): Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem*, 28: 350-356.

Fajardo A, Piper F I, Hoch G (2013): Similar variation in carbon storage between deciduous and evergreen treeline species across elevational gradients. *Annals of Botany*, 112: 623–631.

Famoso A N, Clark R T, Shaff J E, Craft E, McCouch S R, Kochian L V (2010): Development of a novel aluminum tolerance phenotyping platform used for comparisons of cereal aluminum tolerance and investigations into rice aluminum tolerance mechanisms. *Plant Physiol*, 153: 1678–1691.

Ferreira DF (2019): Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciênc Agrotec*, 35: 1039-1042.

Freitas FA, Kopp MM, Sousa RO, Zimmer PD, Carvalho FIF, Oliveira AC (2006): Absorção de P, Mg, Ca e K e tolerância de genótipos de arroz submetidos a estresse por alumínio em sistemas hidropônicos. *Ciênc Rural*, 36: 72-79.

Greive CM, Grattan SR (1983): Rapid assay for determination of water-soluble quaternary amino compounds. *Plant Soil*, 70: 303-307.

Hemaprabha G, Swapna S, Lavanya DL, Sajtha B, Venkataramana S (2013): Evaluation of Drought Tolerance Potential of Elite Genotypes and Progenies of Sugarcane (*Saccharum sp.* hybrids). *Sugar Tech*, 15: 9-16.

Ikeda M, Yamanishi T (1999): Acúmulo de nitrogênio fornecido como amônio nas pontas das raízes de cultivares de trigo estressadas com alumínio, diferindo na sensibilidade ao alumínio. *J. Fac. Agric. Kyushu Univ.*, 44: 33–38.

Jouve L, Hoffmann L, Hausman J F (2004): Polyamine, carbohydrate, and proline content changes during salt stress exposure of aspen (*Populus tremula L.*): involvement of oxidation and osmoregulation metabolism. *Plant Biol*, 6: 74-80.

Jouve L, Hoffmann L, Hausman JF (2004): Polyamine, carbohydrate, and proline content changes during salt stress exposure of aspen (*Populus tremula L.*): involvement of oxidation and osmoregulation metabolism. *Plant Biol*, 6: 74-80.

Justino G C, Cambraia J, Oliva M A, Oliveira J A (2006): Absorção e redução de nitrato em duas cultivares de arroz na presença de alumínio. *Pesqui. Agropec. Bras.*, 41: 1285–1290.

Kaushal M, Wani S P (2016): Plant-growth-promoting rhizobacteria: drought stress alleviators to ameliorate crop production in drylands. *Ann Microbiol*, 66:35–42.

Kováčik J, Klejdus B, Hedbavny J (2010): Effect of aluminium uptake on physiology, phenols and amino acids in *Matricaria chamomilla* plants. *J Hazard Mater*, 178: 949–955.

Krtková J, Havelková L, Ki Repelová A F R, Vosolsobe S, Novotná Z, Martinec J, Schwarzerová K R (2012): Loss of membrane fluidity and endocytosis inhibition are involved

in rapid aluminum-induced root growth cessation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol Bioch*, 60: 88-97.

Li S X, Wang Z H, Stewart B A (2013): Responses of crop plants to ammonium and nitrate N. *Adv Agron*, 118: 205-397.

Maciel J C, Santos J B, Reis R F, Ferreira E A, Pereira G A M (2017) Interferência de plantas daninhas no crescimento da cultura do trigo. *Revista de Agricultura Neotropical*, 4: 23-29.

Miyasaka S C, Kochian L V, Shaff J E, Foy C D (1989): Mecanismos de tolerância ao alumínio em trigo - uma investigação das diferenças genótípicas no pH da rizosfera, transporte de K^+ e H^+ e potenciais de membrana celular da raiz. *Plant Physiol.*, 91: 1188–1196.

Mumbach G L, Kotowski I E, Schneider F J A, Mallmann M S, Bonfada É B, Portela V O, Bonfada É B, Kaiser D R (2017): Resposta da inoculação com *Azospirillum brasilense* nas culturas de trigo e de milho safrinha. *Revista Scientia Agraria*, 18: 97 – 103.

Novaes R F, Neves J C L, Barros N F (1991): Ensaio em ambiente controlado. In: OLIVEIRA, A. J. et al. (Eds.). Métodos de pesquisa em fertilidade do solo. Brasília DF: Embrapa-SE, p. 189–253.

Osaki M, Watanabe T, Tadano T (1997): Beneficial effect of aluminum on growth of plants adapted to low pH soils. *Soil Sci. Plant Nutr*, 43: 551–563.

Price J, Laxmi A, Martin S K S, Jang J C (2004): Global transcription profiling reveals multiple sugar signal transduction mechanisms in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 16: 2128-2150.

Pereira L C, Piana S C, Braccini A L, Garcia M M, Ferri G C, Felber P H, Marteli D C V, Bianchessi P A, Dametto I B (2017): Rendimento do trigo (*Triticum aestivum*) em resposta a diferentes modos de inoculação com *Azospirillum brasilense*. *Revista de Ciências Agrárias*, 40: 105-113.

Rinner KT, Saurer M, Streit K, Siegwolf RTW (2012): Evaluation of a liquid chromatography method for compound-specific $\delta^{13}\text{C}$ analysis of plant carbohydrates in alkaline media. *Rapid Comm Mass Spec*, 26: 2173-2185.

Sarangthem J, Dhamgaye S, Gadre R (2017): Cadmium Effects on Enzymes of Ammonia Assimilation in Excised Etiolated Maize Leaf Segments during Greening: A Mechanistic Approach. *Am J Plant Sci*, 8: 1399-1410.

Souza A, Moraes M G, Figueiredo-Ribeiro R C L (2005): Gramíneas do cerrado: carboidratos não-estruturais e aspectos ecofisiológicos. *Acta Botanica Brasilica*, 19: 81-90.

Stitt M, Muller C, Matt P, Gibon Y, Carillo P, Morcuende R, Scheible WR, Krapp A (2002): Steps towards an integrated view of nitrogen metabolism. *J Exp Bot*, 53: 959-970.

Taylor G J, Foy C D (1985): Mecanismos de tolerância ao alumínio em *Triticum aestivum* (trigo). IV. O papel da nutrição de amônio e nitrato. *Lata. J. Bot.*, 63: 2181–2186.

Von Uexküll H R, Mutert E (1995): Global extent, development and economic impact of acid soils. *Plant Soil*, 171: 1–15.

Weatherburn MW (1967): Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. *Anal Chem*, 39: 971-974.

Yang JL, Zhu XF, Peng YX, Zheng C, Li GX, Liu Y, Shi YZ, Zheng SJ (2011): Cell wall hemicellulose contributes significantly to aluminum adsorption and root growth in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 155: 1880–1892.

Yemm EW, Cocking EC (1955): The determination of amino-acids with ninhydrin. *Analyst*, 80: 209-213.

Zhao X Q, Chen R F, Shen R F (2014): Coadaptation of plants to multiple stresses in acidic soils. *Soil Sci*, 179:503–513.

Zhao X Q, Shen RF (2018): Aluminum–Nitrogen Interactions in the Soil–Plant System. *Front. Plant Sci*, 9: 807.

Zuffo A M (2016): Aplicações de *Azospirillum brasilense* na cultura da soja. 101 p. Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras.

5 CONSIDERAÇÕES GERAIS

O alumínio fitotóxico presente em solos ácidos gera um efeito em cascata prejudicando desde a raiz até a parte aérea nas cultivares de trigo. Porém, alterações positivas são encontradas quando há inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal promovendo incrementos a níveis bioquímicos, biométricos, fotossintéticos e na produção.

Em momentos de estresse por alumínio, a cultivar BRS Sanhaço, considerada intermediária quanto ao nível de resistência a este metal, se faz promissora para manter o desenvolvimento que, aliada a inoculação com *Pseudomonas fluorescens*, favorece o desempenho em ambientes mais desfavoráveis a cultura, em que a maior exploração radicular do solo, estimulação do comportamento bioquímico e fotossíntese são fatores primordiais para o equilíbrio da cultura em campo.

Assim, os resultados obtidos nesta pesquisa não só ressaltam o papel de microrganismos benéficos como também contribui para os avanços em pesquisas na busca de alternativas mais sustentáveis para a redução de perdas em produtividade na cultura do trigo em solos ácidos com presença de alumínio fitotóxico.