

## POTENCIAL DA CO-INOCULAÇÃO COM *Bacillus aryabhatai* E *Trichoderma asperelloides* NA MITIGAÇÃO DO ESTRESSE SALINO EM FEIJÃO-CAUPI

Rennan Fernandes Pereira<sup>1</sup>, Iwry Dantas de Medeiros<sup>2</sup>, Samuel Saldanha Rodrigues<sup>3</sup>, Caio da Silva Sousa<sup>4</sup>, Evandro Franklin de Mesquita<sup>5</sup>, Alberto Soares de Melo<sup>6</sup>

**RESUMO:** Objetivou-se avaliar os efeitos da inoculação com *Bacillus aryabhatai*, *Trichoderma asperelloides* e sua co-inoculação sobre as trocas gasosas e o crescimento do feijão-caupi irrigado com águas de diferentes condutividades elétricas (0,3 e 4,5 dS m<sup>-1</sup>), visando à mitigação do estresse salino. O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação, em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 × 4, com quatro repetições. Aos 40 dias após emergência, mediram-se condutância estomática (gs), assimilação de CO<sub>2</sub> (A), transpiração (E), comprimento (CRP) e diâmetro do ramo principal (DRP). A irrigação salina reduziu gs, A e E em 71%, 66% e 65%, e CRP e DRP em 50% e 30%, respectivamente, nas plantas não inoculadas. A inoculação com *B. aryabhatai* atenuou essas perdas (27% em gs, 50% em A; sem efeito em E) e reduziu CRP e DRP em 22% e 16%. Com *T. asperelloides*, as perdas foram de 30% (CRP) e 14% (DRP). A co-inoculação apresentou o melhor desempenho, com apenas 47% de redução em A e 21% (CRP) e 11% (DRP). Em síntese, a inoculação com os microrganismos, isoladamente ou em co-inoculação, aliviou os efeitos nocivos da salinidade em feijão-caupi.

**PALAVRAS-CHAVE:** Bioinsumos, estresse abiótico, morfofisiologia.

<sup>1</sup> Pós-Doutorando, Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias (PPGCA), UEPB, Campina Grande, PB

<sup>2</sup> Graduando em Agronomia, Depto. de Agrárias e Exatas, UEPB, Catolé do Rocha, PB, CEP 58.884-000, e-mail: iwrydantas36@gmail.com.

<sup>3</sup> Graduando em Agronomia, Depto. de Agrárias e Exatas, UEPB, Catolé do Rocha, PB.

<sup>4</sup> Pesquisador, Depto. de Agrárias e Exatas, UEPB, Catolé do Rocha, PB.

<sup>5</sup> Prof. Doutor, Depto. de Agrárias e Exatas, UEPB, Catolé do Rocha, PB.

<sup>6</sup> Prof. Doutor, Depto. de Biologia, UEPB, Campina Grande, PB.

## POTENTIAL OF CO-INOCULATION WITH *Bacillus aryabhatai* AND *Trichoderma asperelloides* IN MITIGATING SALT STRESS IN COWPEA

**ABSTRACT:** The objective of this study was to evaluate the effects of inoculation with *Bacillus aryabhatai*, *Trichoderma asperelloides*, and their co-inoculation on gas exchange and growth of cowpea irrigated with water of different electrical conductivities (0.3 and 4.5 dS m<sup>-1</sup>), aiming at mitigating salt stress. The experiment was conducted in a greenhouse, in a completely randomized design, in a 2 × 4 factorial arrangement, with four replicates. At 40 days after emergence, stomatal conductance (gs), CO<sub>2</sub> assimilation (A), transpiration (E), length (CRP), and diameter of the main shoot (DRP) were measured. Saline irrigation reduced gs, A, and E by 71%, 66%, and 65%, and CRP and DRP by 50% and 30%, respectively, in uninoculated plants. Inoculation with *B. aryabhatai* attenuated these losses (27% in gs, 50% in A; no effect in E) and reduced CRP and DRP by 22% and 16%. With *T. asperelloides*, losses were 30% (CRP) and 14% (DRP). Co-inoculation performed best, with only a 47% reduction in A and 21% (CRP) and 11% (DRP). In summary, inoculation with these microorganisms, alone or in co-inoculation, alleviated the harmful effects of salinity in cowpea.

**KEYWORDS:** Bioinputs, abiotic stress, morphophysiology.

### INTRODUÇÃO

A agricultura familiar no semiárido brasileiro enfrenta, há décadas, o desafio de produzir alimentos de forma sustentável diante da escassez hídrica e das elevadas temperaturas características da região (Paredes-Trejo et al., 2023; José et al., 2025). Nesse cenário, o feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.], cultura tradicional e fonte acessível de proteína, destaca-se pela adaptação às condições edafoclimáticas locais, desempenhando papel essencial na segurança alimentar e na geração de renda de pequenos produtores (Ferreira et al., 2022; Franco et al., 2024; Silva et al., 2024).

Em áreas irrigadas no semiárido, a salinidade constitui um dos principais fatores limitantes ao cultivo, especialmente quando se utiliza água subterrânea, frequentemente de elevada condutividade elétrica (Castro & Santos, 2020). O excesso de sais compromete processos fisiológicos essenciais ao desenvolvimento vegetal, tanto pela alteração do potencial osmótico do solo quanto pelos efeitos tóxicos e desequilíbrios nutricionais decorrentes da elevada concentração de íons Na<sup>+</sup> (Loiola et al., 2022; Sousa et al., 2022).

A aplicação de bioinsumos à base de microrganismos promotores de crescimento vegetal tem se destacado como alternativa para mitigar o estresse salino. Esses produtos contribuem para melhorar a saúde do solo, aprimorar o ciclo de nutrientes e aumentar a tolerância das plantas a estresses ambientais (Alori & Babalola, 2018; Neuhoff et al., 2024).

Dentro desse grupo de microrganismos, destaca-se a bactéria *Bacillus aryabhatai*, isolada pela primeira vez em 2009, na Índia (Shivaji et al., 2009). No Brasil, a cepa CMAA 1363, oriunda da rizosfera do mandacaru (*Cereus jamacaru*), tem apresentado elevado potencial agronômico (Kavamura et al., 2017). Estudos indicam que essa rizobactéria atua por múltiplos mecanismos, incluindo regulação fitormonal, produção de ACC-desaminase, ativação de defesas antioxidantes e síntese de exopolissacarídeos (Kavamura et al., 2017; Park et al., 2017; Castro & Silva, 2023; Fuga et al., 2023). Apesar dos avanços, a maioria das investigações concentra-se na mitigação do estresse hídrico, havendo necessidade de estudos que explorem seu potencial na atenuação dos efeitos da salinidade.

De forma complementar, fungos do gênero *Trichoderma* têm sido associados a diversos benefícios, como solubilização de nutrientes, produção de fitormônios e aumento da tolerância a condições ambientais adversas (Tyśkiewicz et al., 2022). Assim, este trabalho parte da hipótese de que a combinação de *Bacillus* e *Trichoderma* pode resultar em efeitos sinérgicos, potencializando o desempenho fisiológico e o crescimento do feijão-caupi sob estresse salino. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da inoculação com *Bacillus aryabhatai*, *Trichoderma asperelloides* e sua co-inoculação sobre as trocas gasosas e o crescimento do feijão-caupi irrigado com água salina.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foi conduzido um experimento em casa-de-vegetação, no Centro de Ciências Humanas e Agrárias (CCHA) da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), localizado no município de Catolé do Rocha, PB, Brasil (6°21'10.295" S, 37°43'24.029" O e 252 m de altitude). As plantas foram conduzidas em vasos de polietileno com capacidade de 8 dm<sup>3</sup>, perfurados na base para coleta da água de drenagem. Cada vaso recebeu uma camada de 2 cm de brita, que foi coberta com tela de polipropileno para evitar a obstrução do dreno. Em seguida, os vasos foram preenchidos com material de um Neossolo Flúvico Eutrófico, conforme o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (Embrapa, 2018), coletado no campo experimental do CCHA/UEPB.

Foram avaliados dois níveis de condutividade elétrica da água de irrigação (0,3 e 4,5 dS m<sup>-1</sup>) e quatro condições de inoculação (controle sem inoculação; inoculação com *Bacillus aryabhatai*; inoculação com *Trichoderma asperelloides*; e co-inoculação com *B. aryabhatai* e *T. asperelloides*), em esquema fatorial 2 × 4, no delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições.

As inoculações foram realizadas diretamente nas sementes, utilizando os bioinsumos comerciais Auras<sup>®</sup> (*B. aryabhatai*, cepa CMAA 1363, 1 × 10<sup>8</sup> UFC mL<sup>-1</sup>) e Beifort FT10<sup>®</sup> (*T. asperelloides*, cepa MMBF 94/17, 1 × 10<sup>10</sup> UFC g<sup>-1</sup>), diluídos em água destilada, utilizando as concentrações recomendadas pelos fabricantes. Em todas as condições de inoculação, as sementes foram imersas nos inoculantes por um período de seis horas. No controle sem inoculação, as sementes foram imersas em água destilada pelo mesmo período.

A salinização da água foi obtida por meio da diluição de NaCl em água de abastecimento local. As irrigações salinas foram iniciadas aos cinco dias após a emergência (DAE) e foram realizadas diariamente, às 17h, aplicando-se, em cada vaso, o volume de água correspondente à necessidade hídrica das plantas. Esse volume foi determinado com base no balanço hídrico, calculado pela diferença entre o volume aplicado e o volume drenado na irrigação anterior, acrescido de uma fração de lixiviação de 10%, aplicada quinzenalmente.

Aos 40 DAE, no início da fase fenológica R1, foram avaliadas as trocas gasosas das plantas, entre 7h e 8h da manhã, utilizando um analisador de gás infravermelho (IRGA), modelo Pro<sup>+</sup> Portable Photosynthesis System<sup>®</sup> (ADC BioScientific Limited, UK), na terceira folha completamente expandida. As condições da câmara do aparelho durante as medições foram: fluxo de ar de 200 mL min<sup>-1</sup> e densidade de fluxo de fótons de 1.200 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. Foram registrados os seguintes parâmetros: condutância estomática (gs), taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> (A) e taxa de transpiração (E).

No mesmo dia, foram mensurados o comprimento do ramo principal (CRP) e o diâmetro do ramo principal (DRP) das plantas. O CRP foi determinado medindo-se a distância da base da planta até a inserção da última folha, enquanto o DRP foi obtido com o auxílio de um paquímetro digital, modelo Stainless Steel.

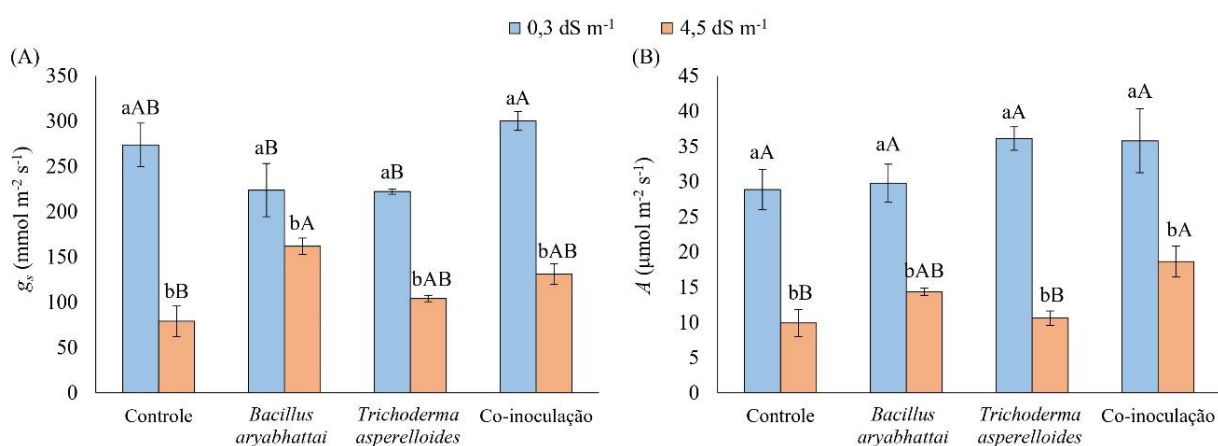
Inicialmente, os dados foram submetidos ao teste de normalidade dos resíduos pelo método de Shapiro-Wilk. Quando atendida a premissa de distribuição normal, procedeu-se à análise de variância utilizando o teste F, a 5% de probabilidade ( $p \leq 0,05$ ), e à comparação de médias pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). As análises estatísticas foram realizadas no programa Sisvar, versão 5.8.

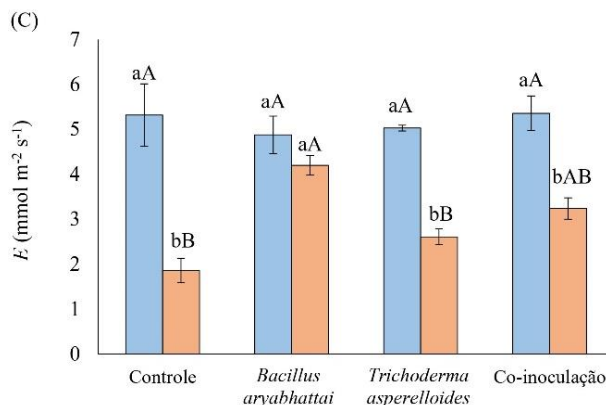
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com as análises de variância, verificou-se que houve efeitos significativos da interação entre salinidade e condições de inoculação sobre todas as variáveis analisadas ( $p \leq 0,05$ ). De modo geral, a irrigação com água salina ( $4,5 \text{ dS m}^{-1}$ ) promoveu reduções expressivas nas trocas gasosas do feijão-caupi (Figura 1).

Nas plantas não inoculadas sob estresse salino, observaram-se decréscimos de 71% na condutância estomática (Figura 1A), 66% na taxa de assimilação de  $\text{CO}_2$  (Figura 1B) e 65% na transpiração (Figura 1C), em comparação com as plantas irrigadas com água de baixa salinidade ( $0,3 \text{ dS m}^{-1}$ ). Esses resultados refletem os efeitos combinados do estresse osmótico e da toxicidade iônica, que limitam a abertura estomática, reduzem a difusão de  $\text{CO}_2$  para os cloroplastos e afetam o balanço hídrico, comprometendo o processo fotossintético (Oliveira et al., 2017; Taiz et al., 2017).

No entanto, verificou-se que a inoculação com microrganismos benéficos atenuou os efeitos deletérios da salinidade. Nas plantas submetidas à irrigação salina e tratadas com *Bacillus aryabhatai*, as reduções nas trocas gasosas foram menos acentuadas, com decréscimos de 27% na  $g_s$  e 50% na  $A$ , enquanto a E não apresentou diferença significativa entre os níveis de salinidade, indicando manutenção mais eficiente do controle estomático e da fotossíntese, possivelmente associada à produção de exopolissacarídeos, auxinas e ACC-desaminase pela bactéria (Park et al., 2017; Fuga et al., 2023).

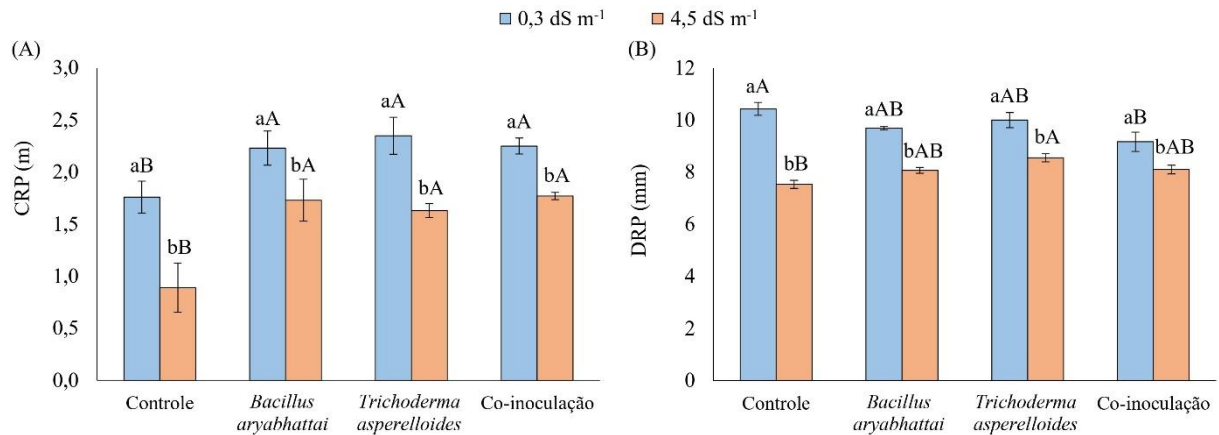




**Figura 1.** Trocas gasosas em feijão-caupi sob irrigação salina e inoculação com microrganismos. A – condutância estomática (gs); B – assimilação de CO<sub>2</sub> (A); C – transpiração (E). Letras minúsculas distintas indicam diferenças entre níveis de salinidade dentro de cada inoculação (teste F,  $p \leq 0,05$ ); e letras maiúsculas distintas indicam diferenças entre inoculações dentro de cada nível de salinidade (teste de Tukey,  $p \leq 0,05$ ). Barras indicam o erro padrão da média ( $n = 4$ ).

Nas plantas que receberam a co-inoculação com *B. aryabhatai* e *Trichoderma asperelloides*, a assimilação de CO<sub>2</sub> foi reduzida em 47% sob salinidade (Figura 1B), valor inferior ao observado no controle sem inoculação, sugerindo efeito sinérgico na promoção da tolerância fisiológica ao estresse salino. Esse comportamento pode ser explicado pela combinação de mecanismos bacterianos e fúngicos, incluindo a solubilização de nutrientes, produção de fitormônios e indução de sistemas antioxidantes, que juntos favorecem a manutenção da fotossíntese e do metabolismo energético (Egamberdieva et al., 2013; Tyśkiewicz et al., 2022; Abd-Alla et al., 2019).

O crescimento das plantas também foi significativamente comprometido pela salinidade, sobretudo quando não houve inoculação (Figura 2). Nesse grupo, registraram-se reduções de 50% no comprimento do ramo principal (Figura 2A) e de 30% no diâmetro do ramo principal (Figura 2B), em relação ao controle irrigado com água de baixa salinidade, evidenciando o efeito negativo do estresse osmótico e iônico sobre a expansão celular, limitando o crescimento vegetativo. Contudo, com as aplicações dos bioinsumos à base de microrganismos, os efeitos negativos dos sais sobre o crescimento das plantas foram reduzidos. Quando houve irrigação com água de condutividade elétrica de 4,5 dS m<sup>-1</sup>, as reduções no CRP e no DRP foram de 22% e 16%, respectivamente, quando inoculadas com *B. aryabhatai*, e de 30% (CRP) e 14% (DRP) quando inoculadas com *T. asperelloides*. A co-inoculação com ambas as espécies resultou nos menores decréscimos, de 21% no CRP e 11% no DRP, evidenciando maior eficácia na mitigação dos efeitos da salinidade.



**Figura 2.** Crescimento de feijão-caupi sob irrigação salina e inoculação com microrganismos. A – comprimento do ramo principal (CRP); B – diâmetro do ramo principal (DRP). Letras minúsculas distintas indicam diferenças entre níveis de salinidade dentro de cada inoculação (teste F,  $p \leq 0,05$ ); e letras maiúsculas distintas indicam diferenças entre inoculações dentro de cada nível de salinidade (teste de Tukey,  $p \leq 0,05$ ). Barras indicam o erro padrão da média ( $n = 4$ ).

Em síntese, os resultados obtidos indicam que *B. aryabhatai* e *T. asperelloides*, isoladamente ou em combinação, contribuíram para uma modulação parcial das trocas gasosas e do crescimento de feijão-caupi sob estresse salino. A co-inoculação destacou-se como uma estratégia promissora para mitigar os efeitos deletérios da salinidade sobre os parâmetros relacionados à fotossíntese e o crescimento do feijão-caupi, corroborando estudos que relatam a atuação sinérgica de bactérias e fungos na tolerância ao estresse salino em leguminosas (Egamberdieva et al., 2013; Abd-Alla et al., 2019; Silva et al., 2019). Esses achados reforçam o potencial agrônomo de bioinsumos microbianos como ferramentas para mitigar os impactos da salinidade em feijão-caupi.

## CONCLUSÕES

A salinidade comprometeu de forma significativa as trocas gasosas e o crescimento do feijão-caupi. No entanto, a inoculação com *Bacillus aryabhatai* e *Trichoderma asperelloides*, isoladamente ou em co-inoculação, atenuou os efeitos negativos da irrigação com água salina na cultura.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias (PPGCA) e ao Departamento de Agrárias e Exatas (DAE) da UEPB, pelo apoio institucional, assim como à Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado da Paraíba (FAPESQ), pela concessão da bolsa de Pós-Doutorado ao primeiro autor (Edital 09/2023).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABD-ALLA, M. H.; NAFADY, N. A.; BASHANDY, S. R.; HASSAN, A. A. Mitigation of effect of salt stress on the nodulation, nitrogen fixation and growth of chickpea (*Cicer arietinum* L.) by triple microbial inoculation. **Rhizosphere**, v. 10, p. 100148, 2019.
- ALORI, E. T.; BABALOLA, O. O. Microbial inoculants for improving crop quality and human health in Africa. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, 2213, 2018.
- CASTRO, F. C.; SANTOS, A. M. DOS. **Salinidade do solo e risco de desertificação na região semiárida**. Mercator, v. 19, n. 1, p. 1-13, 2020.
- EGAMBERDIEVA, D.; JABBOROVA, D.; WIRTH, S. Alleviation of salt stress in legumes by co-inoculation with *Pseudomonas* and *Rhizobium*. In: ARORA, N. (Ed.). **Plant microbe symbiosis: fundamentals and advances**. New Delhi: Springer, 2013. p. 291-303.
- EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: Embrapa Solos, 2018.
- FERREIRA, W. M.; LIMA, G. R.; MACEDO, D. C.; JÚNIOR, M. F.; PIMENTEL, C. A low-cost quality protein source for food safety in marginal areas for agriculture. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 29, n. 12, 03431, 2022.
- FRANCO, A. A. N.; OKUMURA, R. S.; CARVALHO, A. J.; ROCHA, M. M.; ORMOND, A. T. S.; COGO, F. D.; QUEIROZ, M. G.; OLIVEIRA, S. M.; MARIANO, D. C. Agronomic performance of cowpea cultivars in first crop in Southwest of Minas Gerais, Brazil. **Caderno Pedagógico**, v. 21, n. 7, e5819, 2024.
- FUGA, C. A. G.; CAIXETA, G. A. N.; CAIXETA, C. F.; MELO, I. S. Growth promotion in maize (*Zea mays* L.) by *Bacillus aryabhatai* strain CMAA 1363. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 18, n. 3, e3340, 2023.

JOSÉ, R. V. S.; MARTINS, L. L.; COLTRI, P. P.; STEINKE, E. T.; GRECO, R. Performance of meteorological data for drought monitoring in areas of the Brazilian Semi-Arid. **Theoretical and Applied Climatology**, v. 156, n. 4, p. 190, 2025.

KAVAMURA, V. N.; SANTOS, S. N.; TAKETANI, R. G.; VASCONCELLOS, R. L.; MELO, I. S. Draft genome sequence of plant growth-promoting drought-tolerant *Bacillus* sp. strain CMAA 1363 isolated from the Brazilian Caatinga biome. **Genome Announcements**, v. 5, n. 5, e01534-16, 2017.

LOIOLA, A. T.; SÁ, F. V. S.; FERREIRA NETO, M.; TORRES, S. B.; PRAXEDES, S. S. C.; REGES, L. B. L.; OLIVEIRA, R. R.; ALVES, T. R. C. Phenology and production of traditional seeds of cowpea irrigated with saline water. **Ciência Agronômica**, v. 53, 2022.

NEUHOFF, D.; NEUMANN, G.; WEINMANN, M. Testing plant growth promoting microorganisms in the field—a proposal for standards. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, p. 1324665, 2024.

OLIVEIRA, W. J.; SOUZA, E. R.; CUNHA, J. C.; SILVA, Ê. F. F.; VELOSO, V. L. Leaf gas exchange in cowpea and CO<sub>2</sub> efflux in soil irrigated with saline water. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 21, n. 1, p. 32-37, 2017.

PAREDES-TREJO, F.; BARBOSA, H. A.; DALDEGAN, G. A.; TEICH, I.; GARCÍA, C. L.; KUMAR, T. V. L.; BURITI, C. O. Impact of drought on land productivity and degradation in the Brazilian semiarid region. **Land**, v. 12, n. 5, 954, 2023.

PARK, Y. G.; MUN, B. G.; KANG, S. M.; HUSSAIN, A.; SHAHZAD, R.; SEO, C. W.; KIM, A. Y.; LEE, S. U.; OH, K. Y.; LEE, D. Y.; LEE, I. J.; YUN, B. W. *Bacillus aryabhatai* SRB02 tolerates oxidative and nitrosative stress and promotes the growth of soybean by modulating the production of phytohormones. **PloS One**, v. 12, n. 3, e0173203, 2017.

SHIVAJI, S.; CHATURVEDI, P.; BEGUM, Z.; PINDI, P. K.; MANORAMA, R.; PADMANABAN, D. A.; SHOUCHE, Y.S.; PAWAR, S.; VAISHAMPAYAN, P.; DUTT, C. B.; DATTA, G. N.; MANCHANDA, R. K.; RAO, U. R.; BHARGAVA, P. M.; NARLIKAR, J. V. *Janibacter hoylei* sp. nov., *Bacillus isronensis* sp. nov. and *Bacillus aryabhatai* sp. nov., isolated from cryotubes used for collecting air from the upper atmosphere. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 59, p. 2977-2986, 2009.

SILVA, J. A.; BARROS, J. R. A.; SILVA, E. G. F.; ROCHA, M. M.; ANGELOTTI, F. Cowpea: prospecting for heat-tolerant genotypes. **Agronomy**, v. 14, n. 9, p. 1969, 2024.

SILVA, L. V.; OLIVEIRA, S. B. R.; AZEVEDO, L. A.; RODRIGUES, A. C.; BONIFACIO, A. Coinoculation with Bradyrhizobium and Trichoderma alleviates the effects of salt stress in cowpea. **Revista Caatinga**, v. 32, n. 2, p. 336-344, 2019.

SOUSA, D. J. P.; NOGUEIRA, G. A. S.; TEIXEIRA, K. B. S.; MONTEIRO, G. G. T. N.; BRITO, A. E. A.; NASCIMENTO, V. R.; ALBUQUERQUE, G. D. P.; OLIVEIRA, T. J. M.; SOUZA, L. C.; FREITAS, J. M. N.; OLIVEIRA NETO, C. F.; OKUMURAB, R. S. Mitigation of the effects of salt stress in cowpea bean through the exogenous application of brassinosteroid. **Brazilian Journal of Biology**, v. 82, 2022.

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

TYŚKIEWICZ, R.; NOWAK, A.; OZIMEK, E.; JAROSZUK-ŚCISEŁ, J. Trichoderma: the current status of its application in agriculture for the biocontrol of fungal phytopathogens and stimulation of plant growth. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 4, p. 2329, 2022.