

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**CAPACIDADE ENDOFÍTICA E PROMOÇÃO
DO CRESCIMENTO DE AMENDOIM POR
MICRORGANISMOS**

Edvan Teciano Frezarin

Biólogo

2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**CAPACIDADE ENDOFÍTICA E PROMOÇÃO
DO CRESCIMENTO DE AMENDOIM POR
MICRORGANISMOS**

Discente: Edvan Teciano Frezarin

Orientador: Prof. Dr. Everlon Cid Rigobelo

Coorientadora: Dra. Roberta Mendes dos Santos

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Microbiologia Agropecuária

2023

F896c

Frezarin, Edvan Teciano

Capacidade endofítica e promoção do crescimento de amendoim por microrganismos / Edvan Teciano Frezarin. -- Jaboticabal, 2023
59 p. : tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Everlon Cid Rigobelo

Coorientadora: Roberta Mendes dos Santos

1. *Arachis hypogaea*. 2. Endofíticos. 3. Fosfatase ácida. 4. Urease. I.
Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Impacto esperado: Na busca de uma agricultura sustentável, o desenvolvimento de práticas agrícolas eficientes e benéficas ao meio ambiente é de grande importância. O uso de microrganismos promotores do crescimento de plantas, pode, de forma significativa, reduzir o uso de fertilizantes minerais em campo, mantendo a produtividade e o rendimento de diferentes culturas. Muitos microrganismos já possuem e sua eficácia comprovada para diferentes espécies vegetais, porém, poucos são os trabalhos envolvendo o seu uso na cultura do amendoim. Com isso, espera-se que os dados obtidos nesta pesquisa, possam contribuir para o desenvolvimento de um inoculante para a cultura do amendoim, além de, possibilitar, uma maior compreensão dos mecanismos associados ao processo de promoção de crescimento de plantas.

Expected impact: In the pursuit of sustainable agriculture, the development of efficient and environmentally beneficial farming practices is of great importance. The use of plant growth-promoting microorganisms can significantly reduce the use of mineral fertilizers in the field, maintaining the productivity and yield of different crops. Many microorganisms already have and their proven effectiveness for different plant species, however, there are few studies involving its use in peanut culture. Thus, it is expected that the data obtained in this research can contribute to the development of an inoculant for the peanut crop, in addition to enabling a greater understanding of the mechanisms associated with the process of promoting plant growth.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

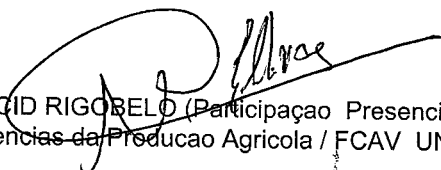
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: CAPACIDADE ENDOFÍTICA E PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO DE AMENDOIM POR MICRORGANISMOS.

AUTOR: EDVAN TECIANO FREZARIN

ORIENTADOR: EVERLON CID RIGOBELLO

COORDINADORA: ROBERTA MENDES DOS SANTOS

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Microbiologia Agropecuária, pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. EVERLON CID RIGOBELLO (Participação Presencial)
Departamento de Ciências da Produção Agrícola / FCAV UNESP Jaboticabal


Prof. Dr. FÁBIO CAMILOTTI (Participação Presencial)
Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza / FATEC - Jaboticabal/SP


Dra. GABRIELA CABRAL FERNANDES (Participação Presencial)
Usina São Martinho / Pradópolis/SP

Jaboticabal, 17 de fevereiro de 2023

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Edvan Teciano Frezarin, nascido em 17 de março de 1995, no município de Ribeirão Preto, São Paulo, filho de Cleusa Aparecida Teciano Frezarin e José Donizete Frezarin. Formou-se em Técnico em Agropecuária (2010-2012) pelo Colégio Técnico Agrícola “José Bonifácio”. Graduiu-se como Bacharel em Ciências Biológicas (2015-2018) pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) – Câmpus de Jaboticabal, onde, sob orientação do Prof. Dr. Everlon Cid Rigobelo, desenvolveu o trabalho de conclusão de curso (TCC), intitulado “Influência de inoculação de microrganismos na absorção de nutrientes do solo na cultura do milho”. Em março de 2021, iniciou o curso de mestrado junto ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária, na FCAV/UNESP, sob também orientação do Prof. Dr. Everlon Cid Rigobelo, desenvolvendo o projeto intitulado “Capacidade endofítica e promoção do crescimento de amendoim por microrganismos”, culminando no presente documento.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Cleusa e José, por todo o apoio e incentivo nesta jornada.

Ao professor Dr. Everlon Cid Rigobelo, pela orientação, ensinamentos e, principalmente, pela confiança no meu trabalho.

À Dra. Roberta Mendes dos Santos, pela coorientação, auxílio e prestatividade sempre que necessário.

Aos meus colegas do Laboratório de Microbiologia do solo, Carlos, Luziane e Luana, pelo auxílio nas análises, por todos os momentos vividos e pela amizade criada.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal – UNESP/FCAV, pelo suporte acadêmico e por toda a infraestrutura disponibilizada.

À Paulo Roberto Messana Natal, proprietário do Sítio Santa Rosa, que generosamente emprestou parte de sua propriedade para a execução do experimento em campo.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Portanto, agradeço-os pelo auxílio financeiro.

A qualquer outra pessoa que tenha colaborado de alguma forma para o desenvolvimento desse trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO.....	iii
ABSTRACT	iv
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Cultura do amendoim	3
2.2. Microrganismos promotores do crescimento de plantas	5
2.2.1. <i>Azospirillum</i>	7
2.2.2. <i>Bacillus</i>	7
2.2.3. <i>Bradyrhizobium</i>	7
2.2.4. <i>Trichoderma</i>	8
2.3. Interação Planta-Microrganismo	8
2.4. Enzimas	10
2.4.1. Atividade enzimática da urease	10
2.4.2. Atividade enzimática da fosfatase ácida	11
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	12
3.1. Montagem dos vasos em casa de vegetação	12
3.2. Montagem do experimento em campo	12
3.3. Preparo dos inóculos e aplicações.....	13
3.4. Delineamento experimental.....	13
3.5. Avaliações.....	15

3.5.1.	Altura	15
3.5.2.	Matéria seca	15
3.5.3.	Concentração de nitrogênio e fósforo.....	15
3.5.4.	Atividade enzimática da urease e da fosfatase ácida	15
3.5.5.	Produção e Produtividade	15
3.6.	Obtenção das comunidades microbianas endofíticas	16
3.7.	Extração do DNA metagenômico e sequenciamento	16
3.8.	Análise dos dados de amplicons	17
3.9.	Análises descritivas e estatísticas do microbioma	18
3.10.	Análise dos resultados	18
4.	RESULTADOS.....	19
4.1.	Altura.....	19
4.2.	Matéria seca.....	21
4.3.	Urease e concentração de nitrogênio.....	24
4.4.	Fosfatase ácida e concentração de fósforo.....	27
4.5.	Produtividade	30
4.6.	Endofíticos – Abundância relativa (Bactérias).....	31
4.7.	Endofíticos – Abundância relativa (Fungos).....	35
5.	DISCUSSÃO	41
6.	CONCLUSÕES	47
7.	REFERÊNCIAS.....	48

CAPACIDADE ENDOFÍTICA E PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO DE AMENDOIM POR MICRORGANISMOS

RESUMO – Estima-se que a área plantada com amendoim no Brasil incluindo 1ª e 2ª safra 2022/23 chegue a 192,3 mil hectares, com uma expectativa de produção de 725,5 mil toneladas, mas apesar da elevada produção ainda não existe nenhum inoculante para esta cultura. Somado a isso, não é comum a utilização de microrganismos promotores de crescimento de plantas e a cultura é muito dependente de fertilizantes minerais. Uma alternativa para diminuir a utilização destes fertilizantes na cultura do amendoim diminuindo também o custo de produção e o impacto ambiental é a utilização de microrganismos promotores do crescimento de plantas. Estes microrganismos podem ser encontrados em associações simbióticas com plantas ou serem de vida livre no solo. Promovem o crescimento de plantas de diferentes formas, como fixando nitrogênio, solubilizando fosfatos, produzindo fitohormônios ou mesmo indiretamente suprimindo patógenos. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos na promoção do crescimento e na produtividade da cultura do amendoim, nas condições de casa-de-vegetação e campo inoculados com os microrganismos *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis*, *Bradyrhizobium japonicum* e *Trichoderma harzianum* e em como estes microrganismos introduzidos no ambiente influenciam a microbiota endofítica destas plantas. Os resultados mostraram que de modo geral, todos os microrganismos avaliados no presente estudo promoveram incrementos nos diversos parâmetros analisados, massa seca de raiz e de parte aérea, concentrações de fósforo e de nitrogênio e altura das plantas, em condições de campo e de casa de vegetação, comparados com os tratamentos controle, que não receberam inoculação microbiana. Também mostraram que é possível obter incrementos na cultura do amendoim com a inoculação de microrganismos promotores de crescimento de plantas sem grandes mudanças no manejo e na condução da cultura. Interessante notar que as misturas de microrganismos inoculados nas plantas de amendoim não promoveram maiores crescimento e desenvolvimento vegetal comparado com as inoculações dos microrganismos de forma separada. A maior produtividade foi encontrada na inoculação do *B. japonicum* isolado e a menor produtividade foi encontrada na mistura de *A. brasilense* com *T. harzianum*. Esses resultados indicam que a mistura de microrganismos com diferentes habilidades não garante, necessariamente, uma vantagem para a cultura. De todos os tratamentos realizados, a inoculação da bactéria *B. japonicum* se mostrou a mais promissora para a cultura do amendoim.

Palavras-chave: *Arachis hypogaea*, endofíticos, fosfatase ácida, urease.

ENDOPHYTIC CAPACITY AND PROMOTION OF PEANUT GROWTH BY MICROORGANISMS

ABSTRACT – It is estimated that the area planted with peanuts in Brazil including 1st and 2nd crop 2022/23 reaches 192,3 thousand hectares, with an expected production of 725,5 thousand tons, but despite the high production there is still no inoculant for this crop. Added to this, it is not common to use plant growth-promoting microorganisms and the crop is very dependent on mineral fertilizers. An alternative to reduce the use of these fertilizers in peanut cultivation also reducing the cost of production and environmental impact is the use of microorganisms that promote plant growth. These microorganisms can be found in symbiotic associations with plants or be free-living in the soil. They promote plant growth in different ways, such as fixing nitrogen, solubilizing phosphates, producing phytohormones or even indirectly suppressing pathogens. The objective of this study was to evaluate the effects on the promotion of growth and productivity of peanut crops, in the conditions of greenhouse and field inoculated with the microorganisms *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis*, *Bradyrhizobium japonicum* and *Trichoderma harzianum* and on how these microorganisms introduced into the environment influence the endophytic microbiota of these plants. The results showed that in general, all microorganisms evaluated in the present study promoted increments in the various parameters analyzed, root and shoot dry mass, phosphorus and nitrogen concentrations and plant height, under field and greenhouse conditions, compared to the control treatments, which did not receive microbial inoculation. They also showed that it is possible to obtain increments in peanut culture with the inoculation of plant growth-promoting microorganisms without major changes in crop management and conduction. It is interesting to note that the mixtures of microorganisms inoculated in peanut plants did not promote greater plant growth and development compared to the inoculations of microorganisms separately. The highest yield was found in the inoculation of *B. japonicum* isolate and the lowest productivity was found in the mixture of *A. brasilense* with *T. harzianum*. These results indicate that the mixture of microorganisms with different abilities does not necessarily guarantee an advantage for the culture. Of all the treatments performed, the inoculation of the bacterium *B. japonicum* proved to be the most promising for peanut culture.

Keywords: *Arachis hypogaea*, endophytes, acid phosphatase, urease.

1. INTRODUÇÃO

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) é uma herbácea de ciclo anual originária da América do Sul (Correia, 2014), pertencente à família Fabaceae, ordem Fabales. É utilizado principalmente na alimentação humana, seja pelo consumo direto ou na produção de óleo. Seus grãos e o bagaço na forma de torta gerado na extração do óleo são também utilizados na alimentação animal (Rao et al., 2014).

A cultura do amendoim apresenta grande importância econômica e social no Brasil. Segundo dados da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2022), estima-se que a área plantada com amendoim no Brasil, incluindo 1º e 2º safra 2022/23, chegue a 192,3 mil hectares, com uma expectativa de produção de 725,5 mil toneladas. Deste total, o estado de São Paulo contribui com mais de 90% de toda a produção nacional (CONAB, 2022), em Ribeirão Preto, o amendoim assume especial importância, pois em função do seu ciclo curto, constitui a principal alternativa na reforma de canaviais como cultura de rotação (Correia, 2014).

Apesar do amendoim ser uma cultura agrícola rentável, existem muitas perdas econômicas relacionadas a diminuição da produtividade provocadas por estresses bióticos e/ou abióticos. Os fatores bióticos que mais afetam a cultura do amendoim são insetos-pragas ou doenças provocadas por microrganismos patogênicos; os fatores abióticos envolvem estresses provocados pela seca, salinidade, temperaturas extremas ou alagamentos (Krishna et al., 2015).

Por ser uma espécie leguminosa, o amendoim apresenta a característica de associação com bactérias fixadoras de nitrogênio, o que lhe permite eficiência no processo de absorção deste nutriente (Santos et al., 2017). O nitrogênio é o elemento que mais limita o crescimento vegetal seguido pelo fósforo (Moreira et al., 2010). A utilização de microrganismos solubilizadores de fosfato é uma alternativa para melhorar a disponibilidade de fósforo para as plantas devido a capacidade destes microrganismos em extrair ou solubilizar fósforo de frações

insolúveis no solo e de fosfatos inorgânicos naturais pouco solúveis (Guimarães et al., 2017).

O uso de bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) de maneira geral, é uma alternativa promissora e de baixo impacto ambiental que aumenta a eficiência dos fertilizantes minerais, elevando a produtividade em uma melhor relação custo-benefício (Spolaor, 2016). Estes microrganismos promovem o crescimento através de mecanismos diretos e indiretos (Ribeiro, 2019). Dentre os gêneros com potencial já conhecido como promotores do crescimento em algumas espécies de plantas, temos o *Azospirillum*, o *Bacillus*, o *Bradyrhizobium* e o *Trichoderma*.

Estes microrganismos podem ser encontrados em associações simbióticas com plantas ou serem de vida livre no solo (Esposito-Polesi, 2020). São denominados endofíticos os microrganismos que habitam o interior das plantas, seja, em partes ou em todo o seu ciclo de vida. Este tipo de relação recebe importância, pois, em situações de estresse, seja hídrico, motivado por substâncias tóxicas ou mesmo pelo ataque de insetos-praga, os microrganismos atuam protegendo e auxiliando o desenvolvimento da planta (Barbosa, 2005), por esse motivo, há um interesse biotecnológico acerca do potencial dos microrganismos endofíticos e o estudo de seu microbioma se torna relevante. Contudo, são escassos os estudos sobre inoculação e, principalmente, sobre coinoculação de microrganismos em plantas de amendoim e os seus efeitos na promoção do crescimento na cultura (Gericó, 2019).

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos na promoção do crescimento e na produtividade da cultura do amendoim quando inoculada com microrganismos promotores do crescimento de plantas, identificar se ocorre o endofitismo dos microrganismos inoculados e aferir em como estes microrganismos influenciam a microbiota endofítica destas plantas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Cultura do amendoim

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) é uma espécie originária da América do Sul (Correia, 2014). Seu gênero, *Arachis*, compreende cerca de 80 espécies, que podem ser encontradas em uma grande variedade de ambientes (Bertioli et al., 2011). A cultura possui grande importância econômica no cenário agrícola mundial, sendo uma das oleaginosas mais cultivadas no mundo (FAO, 2020). Seus grãos podem ser consumidos “in natura” ou serem processados industrialmente, para a produção de óleo e/ou farelo, também podem ser utilizados na fabricação de produtos alimentícios, na indústria farmacêutica (Pezzopane, 2009) e na produção de biodiesel (Goes et al., 2021). Atualmente, seu maior produtor é a China, seguido por Índia, Nigéria e Estados Unidos (USDA, 2022).

No Brasil, a ampla adaptabilidade da cultura a diferentes condições climáticas permite, que o amendoim, seja cultivado de norte a sul (Peixoto et al., 2008). Porém, mais de 90% de toda a produção brasileira restringe-se ao estado de São Paulo (CONAB, 2022). A produção, concentra-se principalmente na região de Ribeirão Preto, em áreas arrendadas, em esquemas de rotação de cultura, especialmente, para reforma de canaviais (Barbosa et al., 2014). E é justamente essa consolidação do amendoim como leguminosa utilizada para a reforma de canaviais, que possibilitou o aumento da área cultivada e da produtividade da cultura no Brasil, que se encontrava em declínio desde meados da década de 70, onde, dentre muitos fatores envolvidos, estava a substituição das áreas cultivadas por lavouras de soja (Montovani et al., 2013).

Por produzir frutos abaixo da superfície do solo, a cultura do amendoim necessita de um ambiente que lhe proporcione um bom crescimento radicular, para isto, por vezes, é importante realizar o preparo do solo (Brito Filho et al., 2019). O preparo convencional consiste na mobilização do solo com o objetivo de nivelá-lo e destorroá-lo. O modo e os equipamentos para a sua realização variam de acordo com as condições do solo (Brito Filho et al., 2019). A semeadura da cultura no Brasil acontece, principalmente, de forma mecanizada,

por meio de semeadoras de precisão, porém, semeadoras manuais também são utilizadas por pequenos produtores (da Costa et al., 2017).

É uma planta herbácea, ereta ou prostrada, anual. Seu ciclo varia entre 90 e 160 dias e podem atingir uma altura de 15 a 50 cm, de acordo com o hábito de crescimento do cultivar (dos Santos et al., 2021). O estágio fenológico do amendoimzeiro pode ser dividido em duas fases distintas: vegetativa e reprodutiva (Boote, 1982). No aspecto fenológico, as fases de crescimento e desenvolvimento são particularmente definidas, mas mudam de acordo com o genótipo utilizado e sofrem interferências quanto ao local, condições climáticas e principalmente da temperatura (Ferreira, 2015).

Solos bem drenados, férteis e arenosos favorecem a penetração dos ginóforos ou “esporões” no solo (Beltrão et al., 2011). Temperaturas entre 25°C e 35°C são consideradas ótimas para o crescimento vegetativo do amendoim (Nogueira & Távora, 2005). O consumo de água é relativamente baixo até o início da floração do amendoimzeiro, posterior a este período, a demanda por água cresce proporcionalmente ao desenvolvimento da cultura até o momento em que as vagens são formadas, onde, então, o consumo permanece estável até a maturação das sementes (Silva & Rao, 2006). A irrigação quando necessária viabiliza uma segurança na produção, fornecendo à cultura condições ideais para o seu desenvolvimento (Goes et al., 2021). Outro fator importante, diretamente relacionado com a produtividade do amendoim, é a nutrição das plantas. Dentre os macronutrientes, o nitrogênio, o fósforo e o potássio são os mais expressivos para o desenvolvimento da cultura (da Costa et al., 2017).

Parte aérea e raízes das plantas de amendoim podem ser atacadas por diferentes insetos e ácaros ao longo do ciclo fenológico da cultura, contudo, o que indica, se a ocorrência desses organismos representa um risco ou não a produtividade e ao desenvolvimento das plantas, é o nível populacional da praga e os danos por ela provocados (Fernandes & Albuquerque, 2014). O tripses-do-prateamento e a lagarta-do-pescoço-vermelho são atualmente, as principais pragas que acometem as plantas de amendoim, com alta ocorrência e elevados níveis populacionais, trazendo prejuízos aos produtores (Di Bello, 2019). O controle químico (Marasigan et al., 2015) e o uso de cultivares resistentes (Di

Bello, 2019) estão entre os principais métodos de controle de pragas para a cultura.

Doenças ligadas ao ataque de fungos fitopatogênicos são consideradas o principal problema da cultura no Brasil (Fávero, 2004). A mancha castanha, a mancha preta e a ferrugem são as doenças de maior importância no estado de São Paulo, seus danos, além de, afetar a qualidade do produto, podem reduzir a produção em até 70% se não controladas (Michelotto et al., 2013). Dentre os métodos de controle e prevenção, estão a incorporação de restos culturais, a rotação de culturas, o uso de cultivares resistentes e o uso de fungicidas (Barreto, 1997).

A presença de plantas daninhas é um outro fator que pode gerar prejuízos econômicos ao produtor de amendoim, reduzindo a produtividade, interferindo negativamente no arranquio e inversão das plantas, além de, desfavorecer a secagem da cultura pós-colheita (Suassuna et al., 2008). No estado de São Paulo, as principais espécies de plantas daninhas em áreas de cultivo de amendoim, são: picão-preto (*Bidens pilosa*), tiririca (*Cyperus rotundus*), guanxuma (*Sida rhombifolia*), caruru-de-mancha (*Amaranthus viridis*), fedegoso (*Sena macranthera*), apaga-fogo (*Alternanthera tenella*), capim colchão (*Digitaria sanguinalis*) e braquiária (*Urochloa spp.*) (Kasai & Deuber 2011). Entre os métodos de controle estão o controle cultural, o mecânico e o químico (Suassuna et al., 2008).

Como as vagens são formadas abaixo da superfície do solo, a colheita não é feita em apenas uma única operação como em outras culturas. O arranquio, enleiramento, cura e recolhimento das vagens podem ser realizados de forma totalmente mecanizada, semimecanizada, ou mesmo, manualmente. (Silva & Sofiatti, 2014). A secagem pode ser realizada de forma natural, ou através de equipamentos de secagem artificial. O armazenamento ocorre geralmente em ambiente controlado (Sampaio & Fredo, 2021).

2.2. Microrganismos promotores do crescimento de plantas

O uso de microrganismos promotores do crescimento de plantas, de maneira geral, é um método econômico e benéfico ao meio ambiente, pois, reduz

os custos de produção, bem como, o uso de fertilizantes minerais, sem decair a produtividade da cultura (Sangoi et al., 2015).

A promoção do crescimento pode acontecer através de mecanismos diretos e indiretos. O controle de um fitopatógeno por microrganismos, por exemplo, pode promover o crescimento da cultura de forma indireta, controlando e reduzindo os danos que seriam gerados por esses organismos na planta (Correa et al., 2008). Como exemplos de mecanismos que favorecem de forma direta o crescimento e o desenvolvimento de plantas, temos a fixação biológica de nitrogênio (Sangoi et al., 2015), a solubilização de fosfatos orgânicos (Souchie et al., 2005) e a produção de fitohormônios (Aioub et al., 2022).

A fixação biológica de nitrogênio é promovida por bactérias que possuem uma enzima denominada nitrogenase. Esta enzima é responsável por converter o nitrogênio atmosférico (N_2) em amônia (NH_3), forma em que a planta consegue absorvê-lo (Altaf, 2021). Fungos não possuem essa habilidade, porém, são capazes de sintetizar enzimas, como a urease, que faz parte do ciclo do nitrogênio, além de, disponibilizar o nitrogênio proveniente da mineralização da matéria orgânica (Duff et al., 2022). Alguns microrganismos possuem também a capacidade de produção de diferentes ácidos orgânicos e enzimas, como as fitases e as fosfatases, que solubilizam o fósforo inorgânico e o fósforo adsorvido no solo, aumentando sua disponibilidade para as plantas e para os microrganismos do solo (Huang et al., 2021).

A síntese de fitohormônios promovida por alguns microrganismos possibilitam um maior desenvolvimento radicular, aumentando a absorção de água e nutrientes pela planta, bem como, tornando possível a exploração de um maior volume de solo (Chandran et al., 2021). Os fitohormônios também promovem um maior desenvolvimento de parte aérea aumentando a eficiência fotossintética (Aioub et al., 2022).

Alguns gêneros bacterianos e fúngicos são conhecidos por tais habilidades em diferentes culturas, dentre eles o *Azospirillum*, o *Bacillus*, o *Bradyrhizobium* e o *Trichoderma*.

2.2.1. *Azospirillum*

É um gênero bacteriano, composto por microrganismos Gram-negativos, em formato de haste, que podem ser levemente curvadas ou retas, com locomoção flagelar (Rosenberg et al., 2014). Promovem o crescimento através de diferentes mecanismos, aos quais se incluem a biossíntese de compostos e a fixação biológica do nitrogênio (Zeffa et al., 2019). São denominados diazotróficos endofíticos facultativos, pois, colonizam tanto o interior quanto a superfície das raízes (Dartora et al., 2013), favorecendo o crescimento radicular, o que conseqüentemente, aumenta a absorção de água e nutrientes pela planta (Zeffa et al., 2019). Também atuam na produção de antioxidantes, que protegem as raízes das plantas de estresses abióticos como a seca e as inundações, além de, controlar ou mesmo competir com fitopatógenos presentes no ambiente (Fukami et al., 2018).

2.2.2. *Bacillus*

Bacillus é um gênero bacteriano composto por microrganismos Gram-positivos, em formato de bastonetes. Estão incluídas espécies independentes, ou mesmo, simbióticas (Silva et al., 2021). Muitas são as estratégias de promoção de crescimento dentre as bactérias do gênero *Bacillus*. Estas podem atuar no controle e na produção de fitohormônios (Miranda et al., 2020) e outros metabólicos que estimulam o desenvolvimento das plantas. Além disso, geram tolerância a planta à estresses bióticos e abióticos e fazem um trabalho de prevenção e inibição de infecções ocasionadas por patógenos (Hashem et al., 2019). Também facilitam a absorção de nutrientes por processos como a fixação biológica de nitrogênio, e apresentam, potencial de biorremediação em solos contaminados (Mattei et al., 2022).

2.2.3. *Bradyrhizobium*

O gênero *Bradyrhizobium* abrange os chamados rizóbios de crescimento lento. São bactérias Gram-negativas em formato de bastonete que possuem a capacidade de nodular e fixar o nitrogênio atmosférico em simbiose com leguminosas (Avontuur et al., 2019) e em associação com não leguminosas, como arroz, milho e pinheiros (Ormeño-Orrillo & Martínez-romero, 2019). São

endossimbiontes (Costa, 2011) e devido a ciclagem de nutrientes, há a possibilidade de uso como adubo verde, das plantas que receberam a inoculação com este microrganismo, trazendo benefícios a culturas subsequentes (Ferreira et al., 2012).

2.2.4. *Trichoderma*

Trichoderma é um gênero de fungo filamentoso encontrado tanto em associação com as raízes quanto no interior dos tecidos vegetais (Manganiello et al., 2018) é muito utilizado na agricultura devido ao seu potencial como agente de biocontrole, atuando por antibiose, micoparasitismo ou por competição com nematoides e fitopatógenos (Poveda et al., 2019), podem produzir auxinas e outros compostos que trazem benefícios ao crescimento e ao desenvolvimento das plantas (Saravanakumar et al., 2017). Porém, os mecanismos de ação desse fungo, são influenciados por fatores bióticos e abióticos específicos, como temperatura, pH, umidade e disponibilidade de nutrientes (Nieto-Jacobo et al., 2017), a espécie vegetal, assim como, os componentes genéticos intraespecíficos, também estão diretamente relacionados com as respostas apresentadas por *Trichoderma* em campo (de Medeiros et al., 2019).

2.3. Interação Planta-Microrganismo

Os microrganismos estão presentes nos mais variados ambientes, muitos conseguem até mesmo, se adaptar e sobreviver em áreas consideradas hostis. Interagem com diversas formas de vida e desempenham papel fundamental na manutenção de ecossistemas (da Silva, 2021). Podem ser encontrados em praticamente todas as plantas da Terra e possuem uma variedade de relações que vão de simbióticas a patogênicas (Franco et al., 2022).

A habilidade de algumas bactérias e fungos em produzir substâncias que promovem o crescimento de plantas é altamente específica, influenciada por fatores como a própria espécie vegetal, o cultivar da espécie utilizado e o ambiente onde estão inseridos (Bergamaschi, 2006).

A maior parte dos microrganismos promotores de crescimento são de vida livre, outros formam associações simbióticas com as plantas, fornecendo compostos químicos, como enzimas, alcaloides e antibióticos, além do nitrogênio fixado em troca de outros nutrientes e carboidratos da planta hospedeira (Taiz &

Zeiger, 2006). Fungos endofíticos são uma rica fonte de bioativos, que vão de agentes antimicrobianos, hormônios, até enzimas hidrolíticas (Eid et al., 2019).

O termo endofítico foi inicialmente descrito por De Bary em 1866 como qualquer microrganismo que vive no interior das plantas. Diferenciando-se assim, dos epifíticos, grupo de microrganismos que vivem na superfície dos órgãos e tecidos vegetais (da Silva, 2021).

É um grupo composto por fungos e bactérias que não causam aparentemente nenhum dano a seus hospedeiros, diferenciando-se também dos microrganismos patogênicos (Bogas et al., 2020). Porém, essa divisão, é apenas didática, pois, é natural a sobreposição entre os grupos, que sofrem interferências do estado fisiológico do hospedeiro, bem como, das condições ambientais (Santos, 2019).

Um microrganismo de vida livre pode se tornar endofítico através de diferentes mecanismos, seja por meio de aberturas naturais, como estômatos, hidatódios, ferimentos, via raízes e sementes, ou mesmo ativamente, pela produção de enzimas ou estruturas que facilitem a sua penetração (Assumpção, 2008). Estes microrganismos interagem mais intimamente com a planta, e assim como os microrganismos encontrados na rizosfera favorecem o crescimento e o desenvolvimento vegetal, promovendo resistência a planta a estresses abióticos e atuando na biorremediação (Bashan et al., 2012).

Os endofíticos podem ser isolados dos tecidos vegetais por desinfestação superficial (Esposito-Polesi, 2020). Tal isolamento pode ser realizado de forma direta ou indireta, utilizando meios de cultura ou via técnicas moleculares (Lacava et al., 2006). Diferentes grupos de microrganismos podem ser isolados de um único hospedeiro (Sobral et al., 2014).

Araujo et al (2002), indicou que os microrganismos endofíticos colonizam nichos ecológicos semelhantes aos ocupados por fitopatógenos, sendo importantes para o controle destes. Contudo, a relação entre microrganismo endofítico e a planta hospedeira, é determinada pelo equilíbrio entre os mecanismos de defesa da planta e a virulência dos microrganismo a ela associados. Em caso de quebra desse equilíbrio, desenvolve-se a patogenia (Oliveira et al., 2019).

De maneira geral, os trabalhos envolvendo endofíticos se dividem entre estudos de aplicações biotecnológicas e estudos de diversidade (Nisa et al., 2015). Os endofíticos são muito utilizados na agricultura, como agentes do controle biológico de doenças ou na promoção do crescimento de plantas (Torres et al., 2022), mas podem ser utilizados também, na produção de fármacos, ou mesmo, na recuperação de áreas contaminadas através da biorremediação (Oliveira et al., 2019). É de suma importância o aprofundamento de estudos envolvendo o uso de endofíticos, entender sua base biológica, assim como, expandir o conhecimento acerca de seus benefícios (Santos, 2019).

2.4. Enzimas

Enzimas, de maneira geral, são proteínas que aceleram a velocidade das reações químicas em sistemas biológicos (Singh et al., 2019). Muitas estão envolvidas na quebra da matéria orgânica do solo em compostos menores, de forma que, para entender a funcionalidade dos solos, por vezes, também é necessário avaliar a presente atividade de algumas enzimas (Cordero et al., 2019). Dentre as enzimas encontradas em solo, com elevada importância agrícola estão a urease e a fosfatase ácida.

2.4.1. Atividade enzimática da urease

A urease é uma enzima chave do ciclo global do nitrogênio, produzida por bactérias, fungos, leveduras e plantas (Kafarski & Talma, 2018). Atua na transformação de pequenos substratos orgânicos contendo nitrogênio em compostos inorgânicos de nitrogênio (Cordero et al., 2019).

O nitrogênio participa ativamente de funções metabólicas e está presente em diferentes compostos na planta (Barros et al., 2013). Para suprir sua demanda, a ureia tem sido o fertilizante químico mais utilizado na agricultura nos últimos anos (Silva et al., 2017). Posterior a sua aplicação, a urease presente no solo catalisa a hidrólise da ureia, a transformando em CO_2 e NH_3 (Lanna et al., 2010), a amônia em solo é transformada em íon amônio e dessa forma, pode ser absorvida pelas plantas, nitrificada, ou perdida por volatilização (Melo et al., 2012). Como boa parte do nitrogênio aplicado em campo é perdido, alguns compostos químicos têm sido misturados a ureia com o objetivo de inibir a

atividade da urease, reduzindo a velocidade de hidrólise, e como consequência, as perdas por volatilização (Tasca et al., 2011). Contudo, a análise da atividade da urease no solo é muito importante, pois, fornece uma indicação do potencial do solo em converter nitrogênio orgânico em mineral (Lanna et al., 2010).

2.4.2. Atividade enzimática da fosfatase ácida

As fosfatases ácida e alcalina são enzimas produzidas por raízes de plantas, fungos ou bactérias micorrízicas e saprotróficas (Margalef et al., 2021) capazes de transformar o fósforo insolúvel presente no solo (Duarte, 2015).

O fósforo é um macronutriente essencial encontrado no solo nas formas orgânica e inorgânica. Desempenha um papel fundamental na produção agrícola, porém, apresenta baixa disponibilidade em solos tropicais (Withers et al., 2018). A adubação com este nutriente é uma prática comum em solos agrícolas, porém, grande parte do fósforo aplicado acaba se tornando indisponível para as plantas, por ser rapidamente imobilizado por íons de ferro e alumínio em solos ácidos e por íons de cálcio em solos alcalinos (Moreira et al., 2010).

Esta enzima atua catalisando a hidrólise de ésteres de fosfatos, os transformando em fosfato solúvel (Silva et al., 2013). Normalmente, pesquisas envolvendo a fosfatase ácida são mais frequentes, pois, a maior parte dos solos utilizados pela agricultura são ácidos (Navroski et al., 2016).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido inicialmente em casa de vegetação na UNESP – Campus de Jaboticabal, sob condições controladas de água e temperatura. O cultivar utilizado foi o IAC-503, variedade com hábito de crescimento rasteiro. Ao todo, foram 45 dias de experimento, que teve início com a semeadura dos vasos e fim no início do florescimento da cultura. O clima da região de Jaboticabal é do tipo Cwa, de acordo com a classificação de Köppen, com verão úmido e inverno seco. A unidade da UNESP está localizada na região noroeste do Estado de São Paulo (21° 15' 22" S, 48° 18' 58" W e altitude de 605m). Posteriormente, o estudo foi também desenvolvido em condições de campo, com os tratamentos que mostraram os melhores resultados na primeira etapa do estudo em termos de altura e matéria seca. A área agrícola é pertencente ao município de Taiuva-SP (21° 18' 52" S, 48° 37' 63" W e altitude de 608m) e o clima dessa região é também do tipo Cwa. Dessa vez, utilizou-se o cultivar IAC-OL3, variedade também com hábito de crescimento rasteiro e o período de permanência da cultura em campo foi de 120 dias.

3.1. Montagem dos vasos em casa de vegetação

Foram utilizados vasos de 5 dm³ preenchidos com solo do tipo latossolo. Este solo foi peneirado e adubado de acordo com uma análise química do solo realizada previamente. Seguindo as recomendações de Malavolta et al. (1989), porém, com redução de 20% da adubação necessária para a cultura, os macronutrientes cálcio, enxofre, fósforo, magnésio e nitrogênio foram fornecidos, assim como os micronutrientes boro, cobre, molibdênio e zinco. Após o preenchimento dos vasos com o solo adubado foi realizada a semeadura do amendoim a uma profundidade de 5 cm.

3.2. Montagem do experimento em campo

Foram determinadas vinte parcelas de 15m² (5m x 3m), correspondentes a cinco tratamentos que foram selecionados com quatro repetições cada tratamento, o espaçamento entre as plantas foi de 0,5m x 0,2m. O solo da propriedade é também do tipo latossolo e a profundidade de semeadura do amendoim foi a mesma do experimento em vasos (5cm). Os micronutrientes e

os macronutrientes primários (N, P e K) foram fornecidos por adubação mineral de acordo com a análise química do solo, também com redução de 20%. Os macronutrientes secundários (Ca, Mg e S) foram fornecidos via calagem e gessagem (Quaggio et al., 2022).

3.3. Preparo dos inóculos e aplicações

As cepas utilizadas no presente estudo são pertencentes à coleção de microrganismos do Laboratório de Microbiologia do Solo (LSM) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP de Jaboticabal.

O inoculante *B. subtilis* foi preparado em caldo nutriente, o fungo *T. harzianum* em extrato de malte, *A. brasilense* em meio de cultura DIGs com o pH ajustado em 6,8 e o *B. japonicum* em meio Yeast Manitol (YM). Todos cresceram em câmara BOD durante 72 horas e foram aplicados em uma concentração final de 1×10^8 unidades formadoras de colônia (CFU) mL⁻¹. Com exceção do *B. japonicum* que foi utilizado apenas no tratamento das sementes, os demais microrganismos foram aplicados diretamente sobre o solo num total de quatro aplicações em casa de vegetação e uma única aplicação em campo. Em casa de vegetação, a primeira aplicação foi realizada no sétimo dia após a semeadura e posteriormente a cada dez dias, em campo a aplicação foi realizada no trigésimo dia após a semeadura.

3.4. Delineamento experimental

Em casa de vegetação, os vasos foram dispostos em blocos casualizados, com doze tratamentos e seis repetições. Os tratamentos podem ser visualizados na Tabela 1.

Tabela 1. Inoculantes microbiológicos, com inclusão do grupo controle utilizados em casa de vegetação.

Tratamentos*	Inoculantes
1	Controle (Sem inoculante)
2	<i>Azospirillum brasilense</i>
3	<i>Bacillus subtilis</i>
4	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>
5	<i>Trichoderma harzianum</i>
6	<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>
7	<i>A. brasilense</i> + <i>B. japonicum</i>
8	<i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>
9	<i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i>
10	<i>B. subtilis</i> + <i>T. harzianum</i>
11	<i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>
12	Consórcio (<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>B. japonicum</i> + <i>T. harzianum</i>)

* Ao todo doze tratamentos, com seis repetições cada.

O experimento em casa de vegetação foi concluído e o grupo controle e outros quatro tratamentos avaliados foram selecionados para serem testados em campo. Os resultados considerados para o processo de seleção foram a altura e a matéria seca encontrados em parte aérea e raízes das plantas. As parcelas foram divididas em blocos casualizados, com 4 repetições. A lista de tratamentos selecionados pode ser observada na tabela 2.

Tabela 2. Inoculantes microbiológicos selecionados, com inclusão do grupo controle utilizados em campo.

TRATAMENTOS*	INOCULANTES
1	Controle – Sem inoculante
2	<i>Azospirillum brasilense</i>
4	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>
7	<i>A. brasilense</i> + <i>B. japonicum</i>
8	<i>A. brasilense</i> + <i>Trichoderma harzianum</i>

*Ao todo cinco tratamentos, com quatro repetições cada.

3.5. Avaliações

3.5.1. Altura

A altura (cm) foi determinada medindo da base da planta até o seu ápice utilizando régua graduada. Em casa de vegetação, a altura de todas as plantas foi determinada, em campo, cinco plantas foram escolhidas aleatoriamente em cada parcela.

3.5.2. Matéria seca

Parte aérea e raízes foram coletadas ao final de ambos os experimentos: casa de vegetação e campo (5 plantas/parcela escolhidas aleatoriamente). Foi necessário lavagem em água corrente das raízes para a remoção do solo ainda presente. Todo o material foi colocado em estufa com circulação forçada de ar a uma temperatura de 65°C por 72 horas. Após esse período, o material foi pesado em balança semi-analítica para a determinação de matéria seca de raiz (MSR) e matéria seca de parte aérea (MSPA).

3.5.3. Concentração de nitrogênio e fósforo

Raízes e parte aérea após secas foram moídas em moinho tipo wiley. A concentração de nitrogênio foi determinada através da digestão sulfúrica do material e posterior titulometria. Para determinar a concentração de fósforo foi realizado a digestão nítrico-perclórica do material, seguido por espectrofotometria, ambas as análises de acordo com Malavolta (1989).

3.5.4. Atividade enzimática da urease e da fosfatase ácida

A atividade enzimática da fosfatase ácida foi determinada de acordo com Silveira et al. (2022). Para a determinação da atividade enzimática da urease, seguiu-se o método de McGaraty & Myers (1967). Ambas foram realizadas utilizando-se amostras de solo coletadas do experimento em casa de vegetação.

3.5.5. Produção e Produtividade

Ao final do experimento em campo, o amendoim foi colhido de forma mecanizada e pesado ainda em vagens em balança semi-analítica para determinação da produção total de vagens. A produtividade em Kg/ha relacionando a produção por unidade de área também foi determinada.

3.6. Obtenção das comunidades microbianas endofíticas

Em casa de vegetação, raízes foram coletadas e parte deste material foi destinado a identificação da comunidade endofítica presente nos tecidos vegetais. O intuito foi avaliar a ocorrência de uma possível transferência dos microrganismos inoculados do solo para o interior dos tecidos vegetais e em como estes microrganismos influenciam na microbiota endofítica da planta. Para isso foi realizado uma desinfestação superficial do material vegetal seguindo o método de Pereira et al. (1993) e Araújo et al. (2001) com modificações, para a remoção das comunidades epifíticas. Este método consiste na imersão das raízes em álcool 70% durante 1 minuto, seguido pela imersão do material em hipoclorito de sódio a 2,5% por 4 minutos e, por fim, novamente em solução de álcool 70% durante 30 segundos. Após as imersões as raízes foram enxaguadas em água destilada e corrente.

Raízes foram picadas em porções de até 10g. O material picado foi, individualmente, triturado e homogeneizado, junto à solução fosfato-salina (PBS) gelada sem adição de Tween-20, por liquidificação mecânica. O resultado do processamento foi filtrado e centrifugado (6000 x g por 40 min. a 4°C), para a obtenção de pellets enriquecidos com as comunidades endofíticas. Após a obtenção dos pellets, o líquido sobrenadante foi descartado, deixando apenas quantidades mínimas para a ressuspensão e transferência das comunidades para microtubos de 1,5 ml contendo PBS. Esses tubos foram centrifugados (12000 x g) para concentrar as amostras. Esse processo se repetiu até a obtenção de pellets de 500 mg. As amostras dos pellets definitivos foram então resfriadas em nitrogênio líquido e acondicionadas em freezer a -80 °C até o momento da extração de DNA.

3.7. Extração do DNA metagenômico e sequenciamento

A extração do DNA microbiano das amostras foi realizada utilizando o kit DNAeasy PowerSoil (Qiagen©) de acordo com as recomendações dos fabricantes e implementando as modificações de Souza et al. (2016), que incluem o aquecimento da solução de extração a 65°C por 10 minutos após a adição do reagente “C1”, e uma lavagem dupla com etanol após a adição da solução “C5”.

A região V4 do gene codificador da subunidade ribossomal – 16 rRNA foi utilizada para a avaliação da fração bacteriana das comunidades. Foram usados os primers 515F (5'-GTGYCAGCMGCCGCGGTAA-3') e 806R (5'-GGACTACNVGGGTWTCTAAT-3'). Para as reações do gene 16S, foram adicionadas sequências de PNA clamp (PNA Bio), com o objetivo de minimizar a amplificação de regiões 16S de mitocôndrias e cloroplastos. Para a fração fúngica, foi utilizado o segundo Espaçador Interno Transcrito (ITS2), por meio dos primers 28 ITS9F (5'-GAACGCAGCRAAIIGYGA-3') e ITS4R (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC3'), região com média de 310 ± 67 pares de base (Porrás-Alfaro et al., 2014).

O sequenciamento foi realizado no equipamento Illumina® HiSeq2500, em modo “Rapid Run”, configurado para a produção leituras (Reads) em layout paired-end de 2x250pb (pares de base). As leituras foram obtidas com o programa CASAVA (v.1.8.2; Illumina®) de acordo com Carvalho (2021).

3.8. Análise dos dados de amplicons

O programa bcl2fastq (v.2.20.0.422; Illumina®) de acordo com os parâmetros default estabelecidos pelos autores, foi utilizado para realizar o processo de demultiplexação das bibliotecas de amplicons. Com isso, foram obtidas sequências de reads em formato FASTQ, que foram submetidas as funções do pacote USEARCH (v.11.0; Edgar, 2010) para controle de qualidade.

O processo de fusão das reads pareadas foi realizado de forma distinta para os conjuntos de dados de 16S rRNA e ITS, de acordo com Carvalho (2021). Os dados de amplicons de 16S e ITS foram introduzidos então no pipeline de detecção de Variantes de Sequências de Amplicons (ASVs), seguindo também as recomendações de Carvalho (2021).

Para a obtenção das ASVs, foi utilizado o pacote R: DADA2 (v.1.14.1; Callahan et al., 2016). A atribuição taxonômica das ASVs ocorreu de forma integrada ao pipeline do DADA2 (tópico 3.8.4), pela função “assignTaxonomy”. Para isto, foram utilizados bancos de dados contendo conjuntos de sequências-referência. Contudo, sequências espúrias e contaminantes de ASVs não classificadas a nível taxonômico de Reino (16S – Bactéria e ITS – Fungi) foram

removidas através de filtros, obtendo-se com isso as ASVs utilizadas para a análise comparativa dos microbiomas.

3.9. Análises descritivas e estatísticas do microbioma

A avaliação da efetividade da amostragem foi inferida pela obtenção das curvas de rarefação, pela análise "amp_rarecurve" do pacote R "ampvis2" (v.2.7.17; Andersen et al., 2018). A alfa diversidade foi estimada através da averiguação da riqueza observada e de medidas de diversidade (índice de Shannon e Gini-Simpson), obtidas com a função "alpha" do pacote R "microbiome" (v.1.16.0; Lahti & Shetty, 2012). As medidas obtidas foram comparadas estatisticamente através do teste de Kruskal-Wallis (p-valor < 0,05), através função "kruskal" do pacote R "agricolae" (v.1.3.5; Mendiburu, 2021), levando em consideração dois ambientes distintos (Solo e Raiz).

A análise de beta diversidade se deu pelo cálculo das dissimilaridades de Bray-Curtis entre as amostras, obtidas pela função "distance" do pacote R "phyloseq" (v.1.32.0; McMurdie & Holmes, 2013). Realizou-se uma análise PERMANOVA (função "adonis" do pacote R "vegan"; v.2.6.2; Oksanen et al., 2019) para avaliar se houve diferença entre os ambientes (p-valor < 0,05). A fim de reduzir a multidimensionalidade das distâncias, realizou-se uma Análise de Coordenadas Principais (PCoA), da qual utilizou-se posteriormente para a plotagem do gráfico.

A avaliação dos táxons diferencialmente abundantes permitiu identificar aqueles cuja presença foi significativamente distinta entre os ambientes. Para isso, utilizamos a abordagem do "DESeq2" (pacote R v.1.34.0; Love et al., 2014), a qual compara as médias com base em um modelo binomial-negativo, por meio do teste Wald (p-valor ajustado < 0,05). As representações gráficas das análises supracitadas e dos perfis taxonômicos foram feitas no "R" (v.4.1.2; R Core Team, 2020), por meio do pacote "ggplot2" (v.3.3.6; Kassambara, 2020).

3.10. Análise dos resultados

Os dados obtidos foram submetidos para a análise de variância, com aplicação do teste F, utilizando o programa AgroEstat (Barbosa & Maldonado Junior, 2011). Quando houve significância foi realizada comparação de médias pelo teste Duncan ao nível de 5 a 10% de probabilidade.

4. RESULTADOS

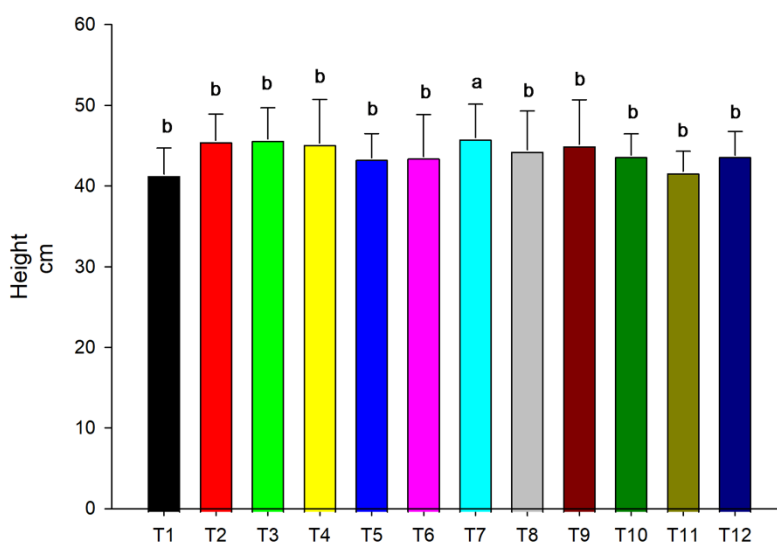
4.1. Altura

O tratamento 7 (*A. brasilense* + *B. japonicum*) foi o que obteve a maior média de altura em casa de vegetação (46 cm) ($p < 0,05$), valor 9,78% maior do que o encontrado nas plantas do grupo controle (41,5cm), do qual, diferiu-se estatisticamente. Os demais tratamentos não diferiram do controle (Figura 1).

Fig. 1 Altura em centímetros das plantas de amendoim tratadas com diferentes inoculantes bacterianos e fúngico em casa de vegetação.

T1= controle; T2= *Azospirillum brasilense*; T3 = *Bacillus subtilis*; T4 = *Bradyrhizobium japonicum*; T5 = *Trichoderma harzianum*; T6= *A. brasilense* + *B. subtilis*; T7= *A. brasilense* + *B. japonicum*; T8= *A. brasilense* + *T. harzianum*; T9= *B. subtilis* + *B. japonicum*; T10= *B. subtilis* + *T. harzianum*; T11= *B. japonicum* + *T. harzianum*; T12= consórcio (*A. brasilense* + *B. subtilis* + *B. japonicum* + *T. harzianum*).

Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Duncan, a 10% de probabilidade.

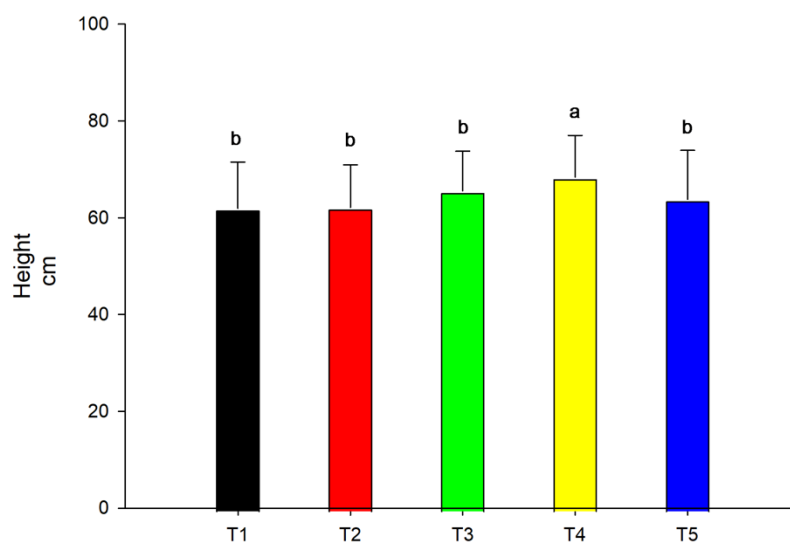


Em condições de campo, as plantas de amendoim tratadas com *Azospirillum brasilense* + *Bradyrhizobium japonicum* (T4) apresentaram também a maior média de altura (68,42cm) ($p < 0,05$), resultado 9,38% maior que o obtido pelo grupo controle (62cm), do qual, diferiu-se estatisticamente. Os demais tratamentos não diferiram do controle ($p > 0,05$), conforme Figura 2.

Fig. 2 Altura em centímetros das plantas de amendoim tratadas com diferentes inoculantes bacterianos e fúngico em campo.

T1 – controle; T2 = *Azospirillum brasilense*; T3 = *Bradyrhizobium japonicum*; T4 = *A. brasilense* + *B. japonicum* e T5 = *A. brasilense* + *T. harzianum*.

Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Duncan, a 10% de probabilidade.



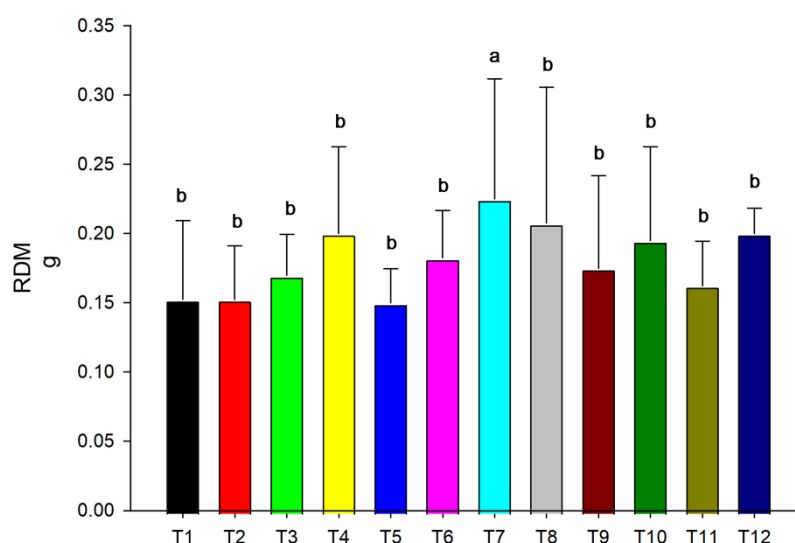
4.2. Matéria seca

Em casa de vegetação, as plantas de amendoim tratadas com *Azospirillum brasilense* + *Bradyrhizobium japonicum* (T7) apresentaram a maior média de matéria seca de raiz (0,225g), resultado 32,44% maior que o obtido pelo grupo controle (0,152g), ao qual, diferiu-se estatisticamente. Os demais tratamentos não diferiram para a matéria seca de raiz (MSR) em relação ao grupo controle ($p>0,05$). Esses resultados podem ser observados na Figura 3.

Fig. 3 Matéria seca em gramas das raízes de plantas de amendoim tratadas com diferentes inoculantes bacterianos e fúngico em condições de casa de vegetação.

T1= controle; T2= *Azospirillum brasilense*; T3 = *Bacillus subtilis*; T4 = *Bradyrhizobium japonicum*; T5 = *Trichoderma harzianum*; T6= *A. brasilense* + *B. subtilis*; T7= *A. brasilense* + *B. japonicum*; T8= *A. brasilense* + *T. harzianum*; T9= *B. subtilis* + *B. japonicum*; T10= *B. subtilis* + *T. harzianum*; T11= *B. japonicum* + *T. harzianum*; T12= consórcio (*A. brasilense* + *B. subtilis* + *B. japonicum* + *T. harzianum*).

Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Duncan, a 10% de probabilidade.

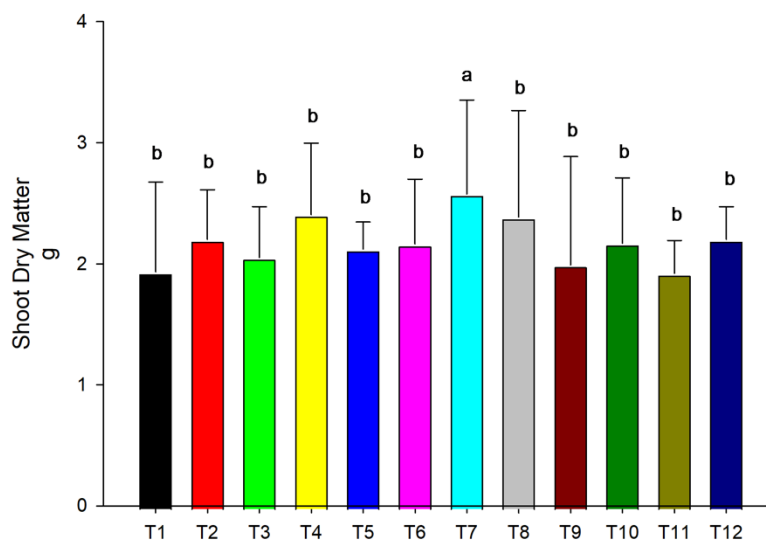


Quanto a matéria seca de parte aérea, o tratamento com *A. brasilense* + *B. japonicum* (T7) foi também o que apresentou maior média (2,578g) ($p<0,05$), valor 24,94% maior do que o encontrado no grupo controle (1,935g). Os demais tratamentos não diferiram do grupo controle ($p<0,05$), conforme Figura 4.

Fig. 4 Matéria seca em gramas da parte aérea de plantas de amendoim tratadas com diferentes inoculantes bacterianos e fúngico em casa de vegetação.

T1= controle; T2= *Azospirillum brasilense*; T3 = *Bacillus subtilis*; T4 = *Bradyrhizobium japonicum*; T5 = *Trichoderma harzianum*; T6= *A. brasilense* + *B. subtilis*; T7= *A. brasilense* + *B. japonicum*; T8= *A. brasilense* + *T. harzianum*; T9= *B. subtilis* + *B. japonicum*; T10= *B. subtilis* + *T. harzianum*; T11= *B. japonicum* + *T. harzianum*; T12= consórcio (*A. brasilense* + *B. subtilis* + *B. japonicum* + *T. harzianum*).

Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Duncan, a 10% de probabilidade.

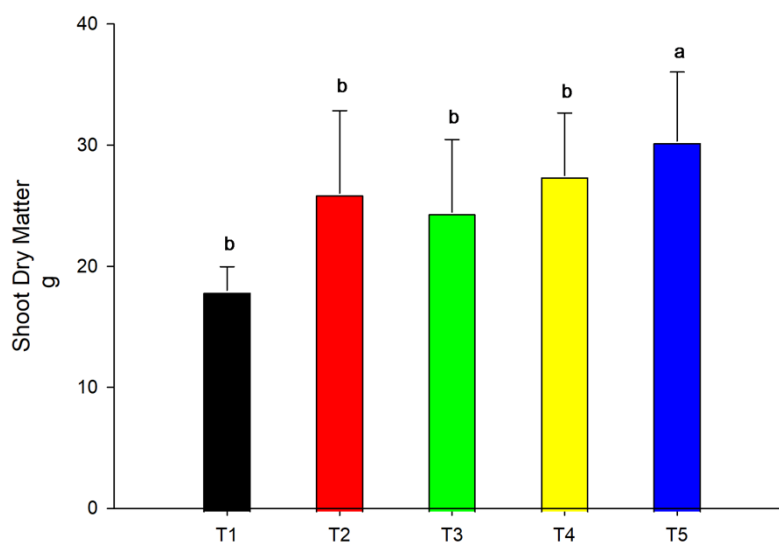


Dentre os tratamentos realizados em condições de campo a mistura de *A. brasilense* + *T. harzianum* (T5) foi a que obteve maior média de matéria seca de parte aérea (30,34g) ($p < 0,05$), valor 40,57% maior que o encontrado no grupo controle (18,03g), diferindo-se estatisticamente, esta relação pode ser observada na Figura 5.

Fig. 5 Matéria seca em gramas da parte aérea de plantas de amendoim tratadas com diferentes inoculantes bacterianos e fúngico em campo.

T1 – controle; T2 = *Azospirillum brasilense*; T3 = *Bradyrhizobium japonicum*; T4 = *A. brasilense* + *B. japonicum* e T5 = *A. brasilense* + *T. harzianum*.

Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Duncan, a 10% de probabilidade.



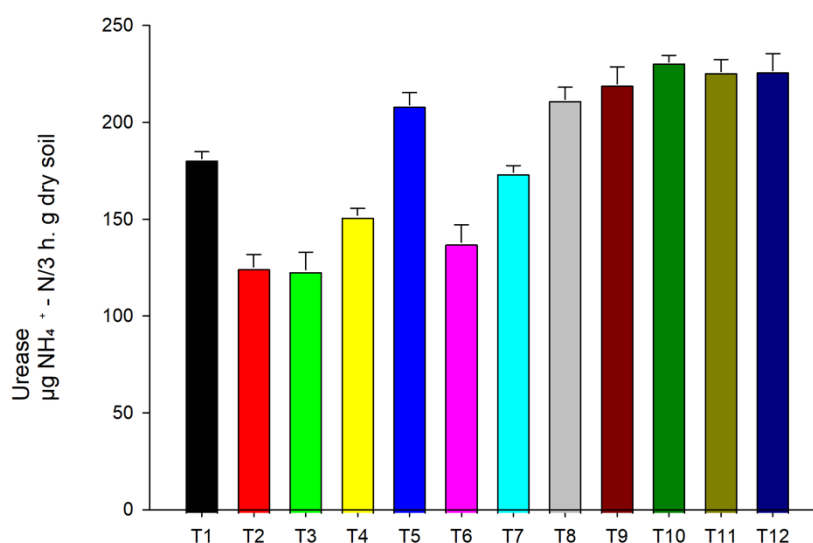
4.3. Urease e concentração de nitrogênio

O tratamento 10 (*B. subtilis* + *T. harzianum*) apresentou maior valor de atividade da enzima urease encontrada no solo com 231,175 $\mu\text{g NH}_4^+$ /grama de solo seco durante o período de incubação que foi de três horas, valor 21,56% maior que o encontrado pelo grupo controle (181,340 $\mu\text{g NH}_4^+$ - N/3h g SS). Os tratamentos que receberam *A. brasilense* (125.513 $\mu\text{g NH}_4^+$ - N/3h . g SS) e *B. subtilis* (124.043 $\mu\text{g NH}_4^+$ - N/3h . g SS) apresentaram valores menores do que o tratamento 10 ($p>0,05$), porém, não diferiram do controle. Esses dados podem ser visualizados na Figura 6.

Fig. 6 Urease em $\mu\text{g NH}_4^+$ - N/3h . g SS das plantas de amendoim tratadas com diferentes inoculantes bacterianos e fúngico em casa de vegetação.

T1= controle; T2= *Azospirillum brasilense*; T3 = *Bacillus subtilis*; T4 = *Bradyrhizobium japonicum*; T5 = *Trichoderma harzianum*; T6= *A. brasilense* + *B. subtilis*; T7= *A. brasilense* + *B. japonicum*; T8= *A. brasilense* + *T. harzianum*; T9= *B. subtilis* + *B. japonicum*; T10= *B. subtilis* + *T. harzianum*; T11= *B. japonicum* + *T. harzianum*; T12= consórcio (*A. brasilense* + *B. subtilis* + *B. japonicum* + *T. harzianum*).

Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Duncan, a 10% de probabilidade.



Em casa de vegetação, plantas tratadas com *A. brasilense* + *B. japonicum* foram as que apresentaram maior concentração de nitrogênio em suas raízes (23,633 gramas de nitrogênio Kg^{-1} de raiz), valor 11,70% maior do que o encontrado no grupo controle (20,867g Kg^{-1}). O tratamento 6 contendo *A. brasilense* + *B. subtilis* apresentou o menor valor (18,967g Kg^{-1}), seguido pelo tratamento 8 contendo *A. brasilense* + *T. harzianum* (19,4g Kg^{-1}) e pelo

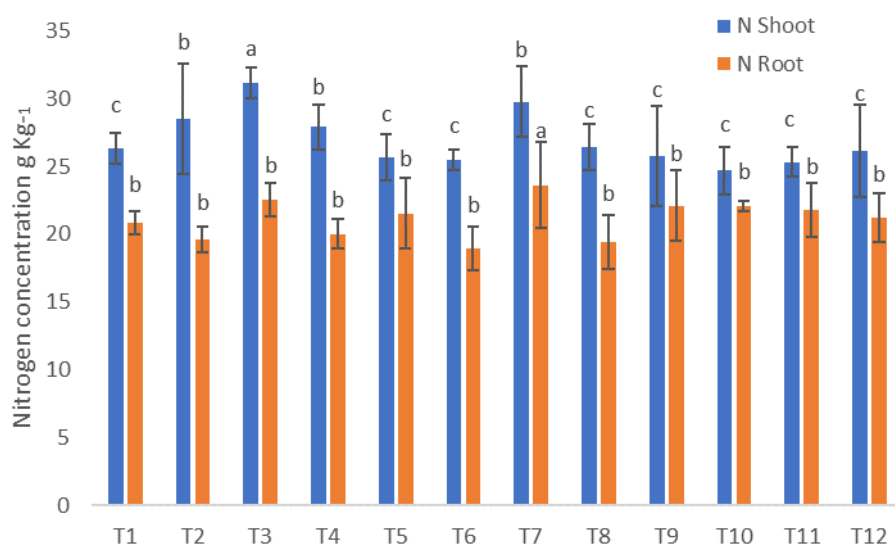
tratamento 2 com *A. brasilense* (19,6g Kg⁻¹). Porém, os demais tratamentos não diferiram entre si ($p>0,05$).

Em relação a concentração do nitrogênio na parte aérea das plantas, *B. subtilis* (T3) foi o inoculante que promoveu maior concentração dentre os demais tratamentos com 31.15g de nitrogênio Kg⁻¹ de parte aérea, valor 15,46% maior que o encontrado pelo grupo controle (T1) (26,333g Kg⁻¹). O tratamento contendo *B. subtilis* + *T. harzianum* (T10) obteve uma concentração de apenas 24,7g Kg⁻¹ inferior ao controle, porém, não diferiram entre si. O tratamento 7 (*A. brasilense* + *B. japonicum*) também obteve uma concentração de nitrogênio bem acima que a encontrada pelo tratamento sem inoculante (controle). Os dados podem ser observados na Figura 7.

Fig. 7 Concentração de nitrogênio em gramas por quilo das plantas de amendoim tratadas com diferentes inoculantes bacterianos e fúngico em casa de vegetação.

T1= controle; T2= *Azospirillum brasilense*; T3 = *Bacillus subtilis*; T4 = *Bradyrhizobium japonicum*; T5 = *Trichoderma harzianum*; T6= *A. brasilense* + *B. subtilis*; T7= *A. brasilense* + *B. japonicum*; T8= *A. brasilense* + *T. harzianum*; T9= *B. subtilis* + *B. japonicum*; T10= *B. subtilis* + *T. harzianum*; T11= *B. japonicum* + *T. harzianum*; T12= consórcio (*A. brasilense* + *B. subtilis* + *B. japonicum* + *T. harzianum*).

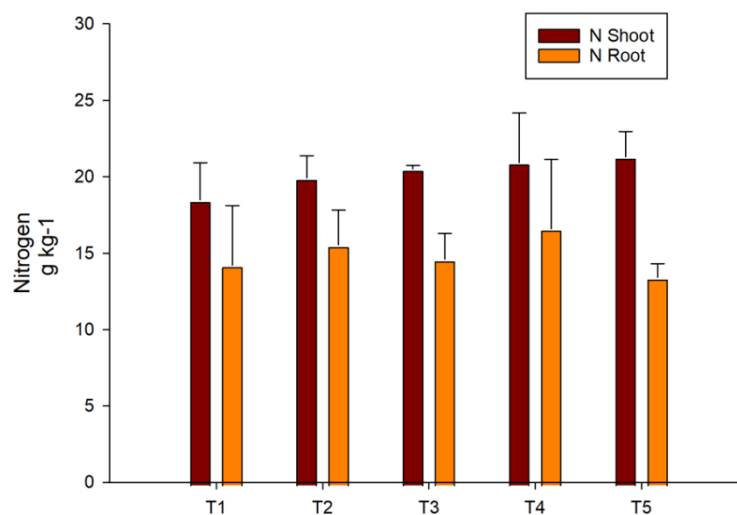
Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Duncan, a 10% de probabilidade.



Em campo não houve diferença significativa quanto a concentração de nitrogênio nas raízes e na parte aérea das plantas de amendoim, todos os tratamentos foram equivalentes ao controle. O que indica que a quantidade de

nitrogênio absorvido estava proporcional ao crescimento obtido pela matéria seca das raízes (Figura 8).

Fig. 8 Concentração de nitrogênio em gramas por quilo das plantas de amendoim tratadas com diferentes inoculantes bacterianos e fúngico em campo. T1 – controle; T2 = *Azospirillum brasilense*; T3 = *Bradyrhizobium japonicum*; T4 = *A. brasilense* + *B. japonicum* e T5 = *A. brasilense* + *T. harzianum*. Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Duncan, a 10% de probabilidade.



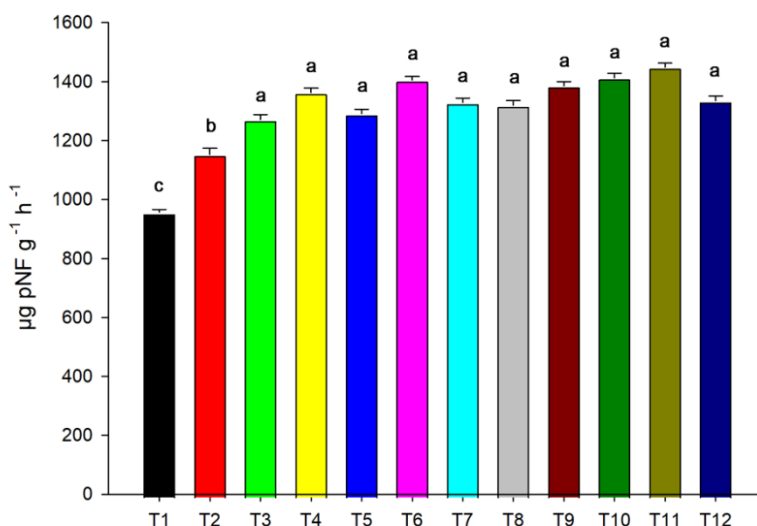
4.4. Fosfatase ácida e concentração de fósforo

Em todos os solos que receberam inoculantes a atividade encontrada da enzima fosfatase ácida foi superior ao do grupo controle, diferenciando-se estatisticamente. O resultado encontrado em *Bradyrhizobium japonicum* + *Trichoderma harzianum* (T11), por exemplo, ($1449,365 \mu\text{g pNF g}^{-1}\text{h}^{-1}$), foi 33,93% maior que o encontrado no grupo controle ($957,586 \mu\text{g pNF g}^{-1}\text{h}^{-1}$), os dados podem ser visualizados na Figura 9.

Fig. 9 Fosfatase ácida em $\mu\text{g pNF g}^{-1}\text{h}^{-1}$ das plantas de amendoim tratadas com diferentes inoculantes bacterianos e fúngico em casa de vegetação.

T1= controle; T2= *Azospirillum brasilense*; T3 = *Bacillus subtilis*; T4 = *Bradyrhizobium japonicum*; T5 = *Trichoderma harzianum*; T6= *A. brasilense* + *B. subtilis*; T7= *A. brasilense* + *B. japonicum*; T8= *A. brasilense* + *T. harzianum*; T9= *B. subtilis* + *B. japonicum*; T10= *B. subtilis* + *T. harzianum*; T11= *B. japonicum* + *T. harzianum*; T12= consórcio (*A. brasilense* + *B. subtilis* + *B. japonicum* + *T. harzianum*).

Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Duncan, a 10% de probabilidade.

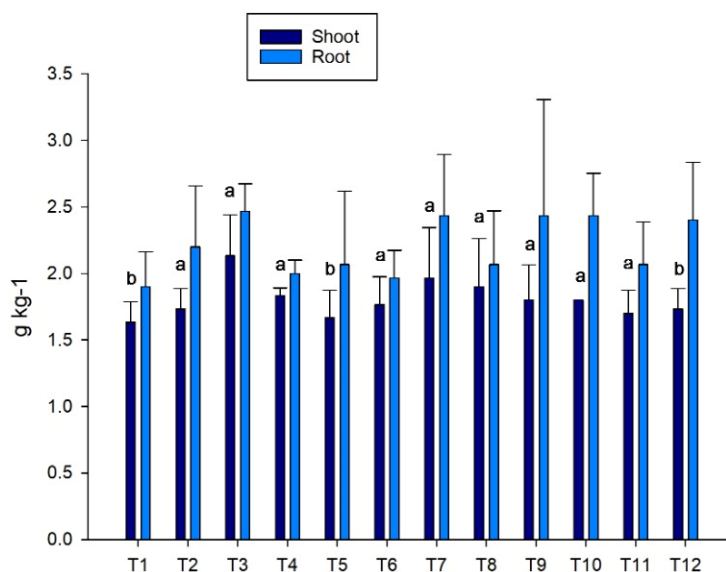


Em casa de vegetação, a maior concentração de fósforo em raízes de amendoim foi encontrada em plantas que receberam apenas *B. subtilis* (T3) como inoculante ($2,467 \text{ g de P Kg}^{-1}$ de parte aérea), valor 22,98% maior que o encontrado no grupo controle ($1,9 \text{ g Kg}^{-1}$), porém, equivalente estatisticamente, assim como, os demais tratamentos. Na parte aérea *B. subtilis* (T3) ($2,133 \text{ g Kg}^{-1}$) apresentou o maior valor comparado com o grupo controle (T1) ($1,633 \text{ g Kg}^{-1}$), todavia, com exceção do tratamento 5 (*T. harzianum*) e do consórcio (T12), todos os demais tratamentos foram considerados superiores ao controle.

Fig. 10 Concentração de fósforo em gramas por quilo das plantas de amendoim tratadas com diferentes inoculantes bacterianos e fúngico em casa de vegetação.

T1= controle; T2= *Azospirillum brasilense*; T3 = *Bacillus subtilis*; T4 = *Bradyrhizobium japonicum*; T5 = *Trichoderma harzianum*; T6= *A. brasilense* + *B. subtilis*; T7= *A. brasilense* + *B. japonicum*; T8= *A. brasilense* + *T. harzianum*; T9= *B. subtilis* + *B. japonicum*; T10= *B. subtilis* + *T. harzianum*; T11= *B. japonicum* + *T. harzianum*; T12= consórcio (*A. brasilense* + *B. subtilis* + *B. japonicum* + *T. harzianum*).

Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Duncan, a 10% de probabilidade.

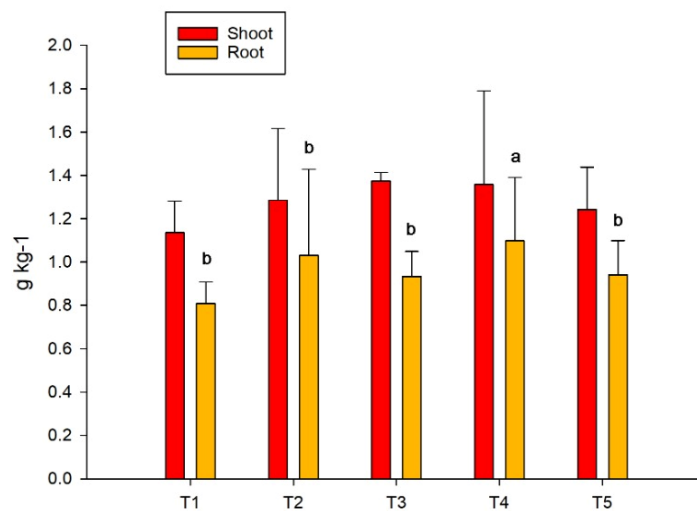


Dos tratamentos selecionados e levados a campo, *A. brasilense* + *B. japonicum* foi o que obteve maior concentração de fósforo nas raízes (1,1 g Kg⁻¹), valor 26,36% maior que o encontrado pelo grupo controle (0,81 g Kg⁻¹), diferindo-se estatisticamente. Os demais tratamentos não diferiram do controle. Não houve diferença estatística quanto a concentração de fósforo na parte aérea das plantas de amendoim (Figura 11).

Fig. 11 Concentração de fósforo em gramas por quilo das plantas de amendoim tratadas com diferentes inoculantes bacterianos e fúngico em campo.

T1 – controle; T2 = *Azospirillum brasilense*; T3 = *Bradyrhizobium japonicum*; T4 = *A. brasilense* + *B. japonicum* e T5 = *A. brasilense* + *T. harzianum*.

Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Duncan, a 10% de probabilidade.



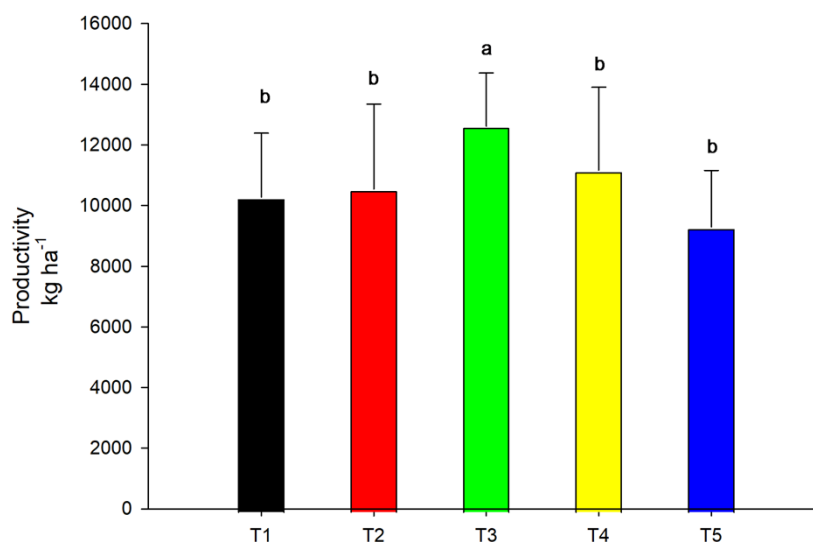
4.5. Produtividade

B. japonicum foi o tratamento que promoveu maior produtividade (12623,63Kg ha⁻¹), valor 18,52% maior que o encontrado pelo grupo controle (10285,2Kg ha⁻¹), do qual diferiu-se estatisticamente. Em contrapartida, o tratamento contendo *A. brasilense* + *T. harzianum* não obteve um bom desenvolvimento em termos de produtividade (9300,68 Kg ha⁻¹), resultado menor que o encontrado no grupo controle (T1), porém, ainda assim, não diferiram estatisticamente, conforme Figura 12.

Fig. 12 Produtividade em quilos por hectare das vagens de amendoim tratadas com diferentes inoculantes bacterianos e fúngico em campo.

T1 – controle; T2 = *Azospirillum brasilense*; T3 = *Bradyrhizobium japonicum*; T4 = *A. brasilense* + *B. japonicum* e T5 = *A. brasilense* + *T. harzianum*.

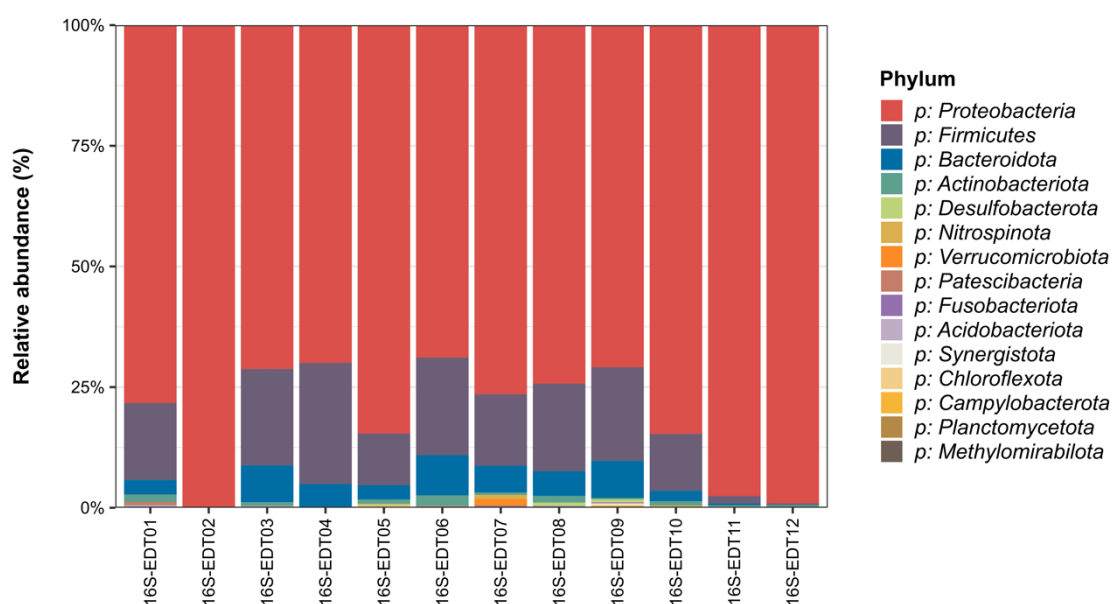
Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Duncan, a 10% de probabilidade.



4.6. Endofíticos – Abundância relativa (Bactérias)

Proteobactérias foram dominantes dentre os filos encontrados no grupo controle (T1). Este é um dos maiores e mais versáteis filos no domínio Bacteria, ao qual, se inclui bactérias responsáveis pela fixação biológica de nitrogênio, porém, também estão incluídos agentes patogênicos, como *Escherichia*, *Salmonella*, *Vibrio* e *Helicobacter*. Esta dominância prevaleceu entre os filos encontrados nos demais tratamentos, onde, foi realizada a inoculação de microrganismos promotores do crescimento de plantas. Vale ressaltar, que a abundância relativa de microrganismos pertencentes a este filo, foi maior quando houve a inoculação de *A. brasilense* (T2), a associação de *B. japonicum* + *T. harzianum* (T11) e no consórcio envolvendo todos os microrganismos (T12). Além de proteobactérias, destacam-se também, o filo Firmicutes e o filo Bacteroidota, presentes tanto no controle (T1), quanto na maioria dos demais tratamentos. Outros filos estiveram presentes, porém, em baixa abundância. A relação dos filos bacterianos presentes endofiticamente, pode ser visualizada na Figura 13.

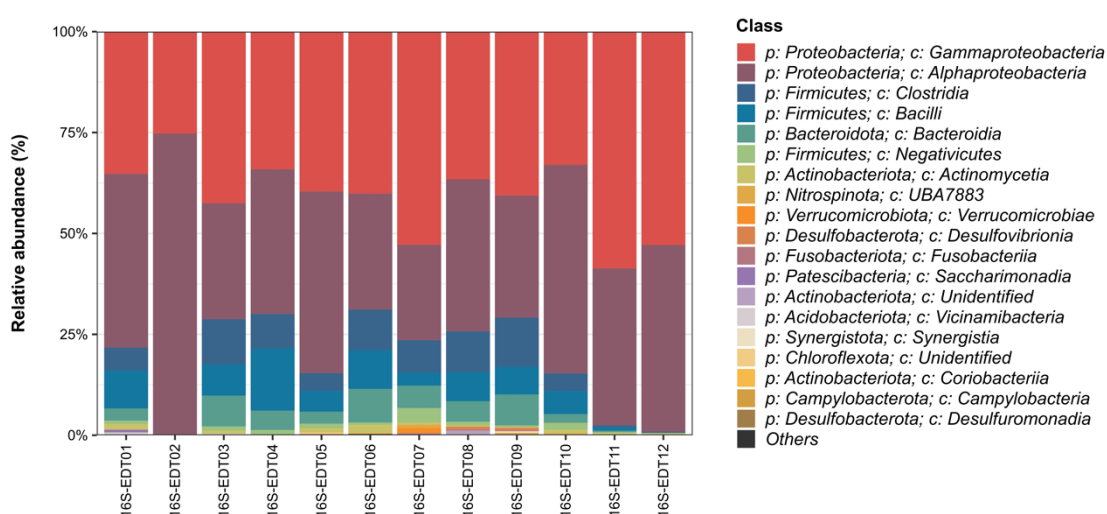
Fig. 13 Abundância relativa (%) dos filos de bactérias encontradas no interior dos tecidos vegetais (endofíticos), de raízes de plantas de amendoim tratadas com diferentes inoculantes bacterianos e fúngico em casa de vegetação.



As proteobactérias dividiram-se em duas classes de microrganismos, Gammaproteobacteria e Alphaproteobacteria. Foram abundantemente

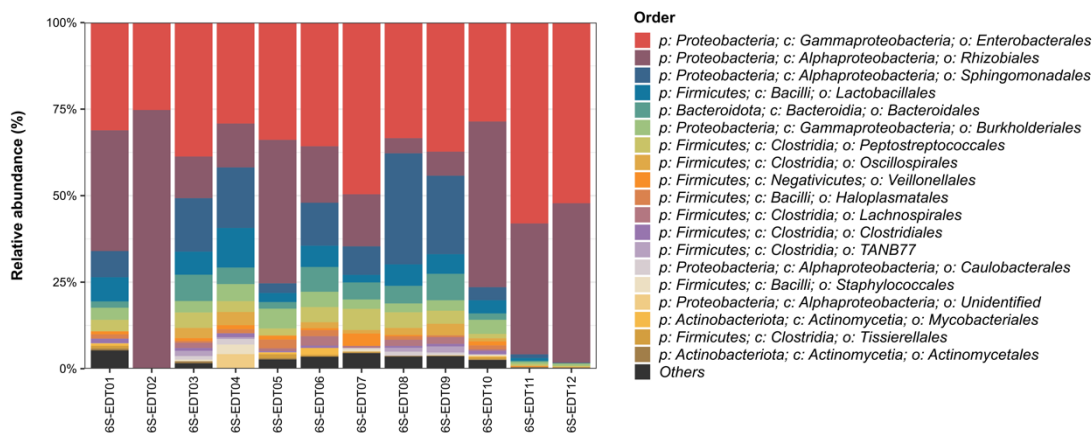
dominantes em relação ao controle (T1), assim como, nos demais tratamentos. Destaque também, para classes como Bacilli e Clostridia, pertencentes ao filo Firmicutes. Microrganismos pertencentes a estas classes, foram encontrados no grupo controle e permaneceram em grande parte dos tratamentos, porém, com menor abundância relativa. Outras classes também podem ser visualizadas, porém, em menor número, conforme Figura 14.

Fig. 14 Abundância relativa (%) das classes de bactérias encontradas no interior dos tecidos vegetais (endofíticos), de raízes de plantas de amendoim tratadas com diferentes inoculantes bacterianos e fúngico em casa de vegetação.



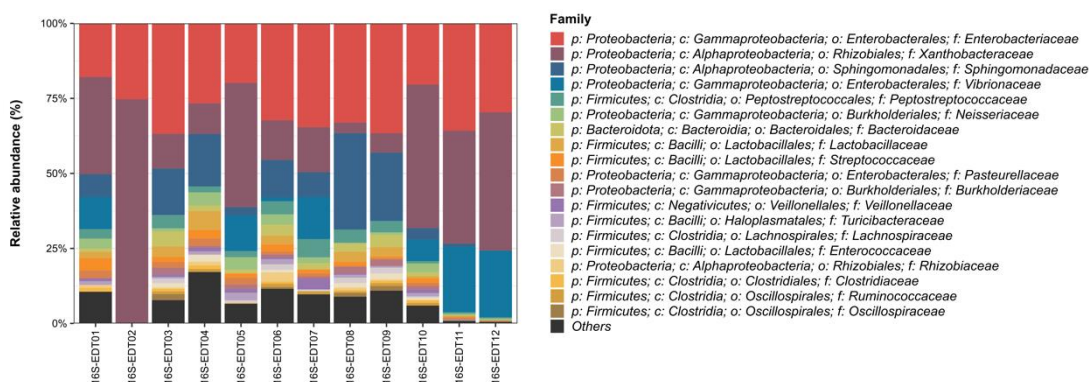
Quanto a abundância relativa das ordens bacterianas encontradas, podemos observar uma dominância de Enterobacterales e de Rhizobiales. Esta dominância pode ser observada no controle (T1), assim como, em grande parte dos tratamentos. Porém, podemos observar também, que alguns tratamentos promoveram um aumento na abundância relativa de Sphingomonadales, isso é válido, para plantas tratadas com *B. subtilis* (T3), *B. japonicum* (T4), *A. brasilense* + *B. subtilis* (T6), *A. brasilense* + *T. harzianum* (T8) e *B. subtilis* + *B. japonicum* (T9). Muitas outras ordens foram encontradas, havendo oscilações entre os tratamentos, porém, em baixa abundância. A relação das ordens bacterianas presentes endofiticamente, pode ser visualizada na Figura 15.

Fig. 15 Abundância relativa (%) das ordens de bactérias encontradas no interior dos tecidos vegetais (endofíticos), de raízes de plantas de amendoim tratadas com diferentes inoculantes bacterianos e fúngico em casa de vegetação.



Enterobacteriaceae e Xanthobacteraceae são as Famílias com maior abundância relativa no grupo controle (T1), valor que corresponde a cerca de 50% de toda a microbiota presente endofiticamente nas plantas de amendoim deste tratamento. A outra metade corresponde a uma grande quantidade de famílias, presentes em menor número. De uma maneira geral, estende-se a dominância destas duas famílias aos demais tratamentos, porém, podemos observar um aumento de Sphingomonadaceae nos tratamentos 3 (*B. subtilis*), 4 (*B. japonicum*), 6 (*A. brasilense* + *B. subtilis*), 8 (*A. brasilense* + *T. harzianum*) e 9 (*B. subtilis* + *B. japonicum*) e de Vibrionaceae nos tratamentos 11 (*B. japonicum* + *T. harzianum*) e 12 (consórcio). As famílias bacterianas obtidas podem ser visualizadas na Figura 16.

Fig. 16 Abundância relativa (%) das famílias de bactérias encontradas no interior dos tecidos vegetais (endofíticos), de raízes de plantas de amendoim tratadas com diferentes inoculantes bacterianos e fúngico em casa de vegetação.



Muitos foram os gêneros evidenciados como endofíticos presentes em plantas de amendoim. No grupo controle (T1) podemos observar uma abundância relativamente superior de *Bradyrhizobium* (32%) aos demais gêneros encontrados, destaque também, para a presença de *Vibrio* (10%) e de *Cronobacter* (9%). O tratamento 2 (*Azospirillum brasilense*) se diferenciou de todos os outros tratamentos, havendo a presença de apenas dois gêneros, sendo o *Bradyrhizobium* predominantemente abundante (75%) e o *Cronobacter* (25%). No terceiro tratamento (*Bacillus subtilis*), observa-se um aumento expressivo de *Escherichia* (31%) e de *Novosphingobium* (17%) e uma redução do *Bradyrhizobium* presente (11%).

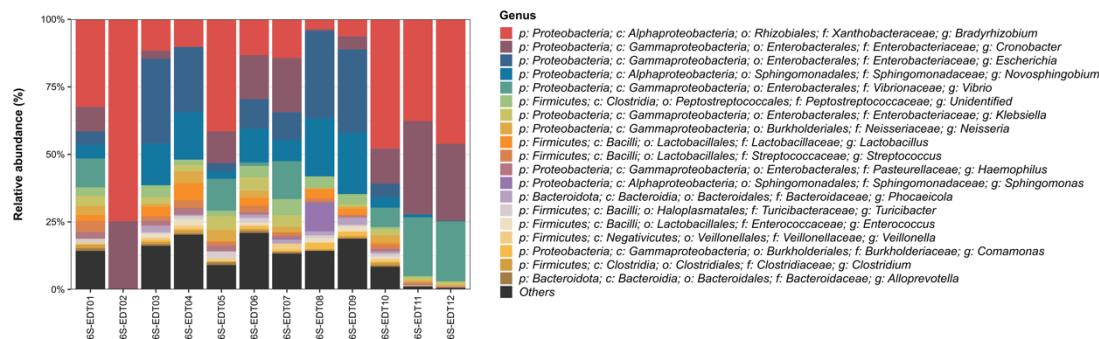
No tratamento 4 (*Bradyrhizobium japonicum*), *Escherichia* (24%) e *Novosphingobium* (17%) também se destacaram, o fato curioso é que a abundância relativa de microrganismos do gênero *Bradyrhizobium* foi reduzida (10%). O uso de *T. harzianum* (T5) por outro lado, favoreceu a presença de *Bradyrhizobium* no interior da planta (41%) e manteve *Cronobacter* (12%) e *Vibrio* (11%) em uma abundância próxima ao controle (T1).

O tratamento envolvendo a associação de *A. brasilense* + *B. subtilis* (T6) não gerou nenhuma dominância de gênero entre os encontrados, apresentando dados relativamente próximos de *Cronobacter* (16%), *Bradyrhizobium* (14%), *Novosphingobium* (12%) e *Escherichia* (11%). O mesmo é válido para o tratamento 7 (*A. brasilense* + *B. japonicum*), onde a abundância relativa de *Cronobacter* (20%), *Bradyrhizobium* (14%) e *Vibrio* (14%) também foram próximas.

Escherichia e *Novosphingobium* foram abundantemente encontrados nos tratamentos 8 (*A. brasilense* + *T. harzianum*) e 9 (*B. subtilis* + *B. japonicum*). Enquanto, a presença endofítica de *Bradyrhizobium* foi destaque no tratamento 10 (48%).

Plantas tratadas com *B. japonicum* + *T. harzianum* (T11) e o consórcio (T12) apresentaram abundância relativa diferenciada dos demais tratamentos, onde, quase todos os microrganismos encontrados se concentraram em três gêneros, sendo eles o *Bradyrhizobium*, o *Cronobacter* e o *Vibrio*. A relação dos gêneros bacterianos presentes endofiticamente, pode ser visualizada na Figura 17.

Fig. 17 Abundância relativa (%) dos gêneros de bactérias encontradas no interior dos tecidos vegetais (endofíticos), de raízes de plantas de amendoim tratadas com diferentes inoculantes bacterianos e fúngico em casa de vegetação.

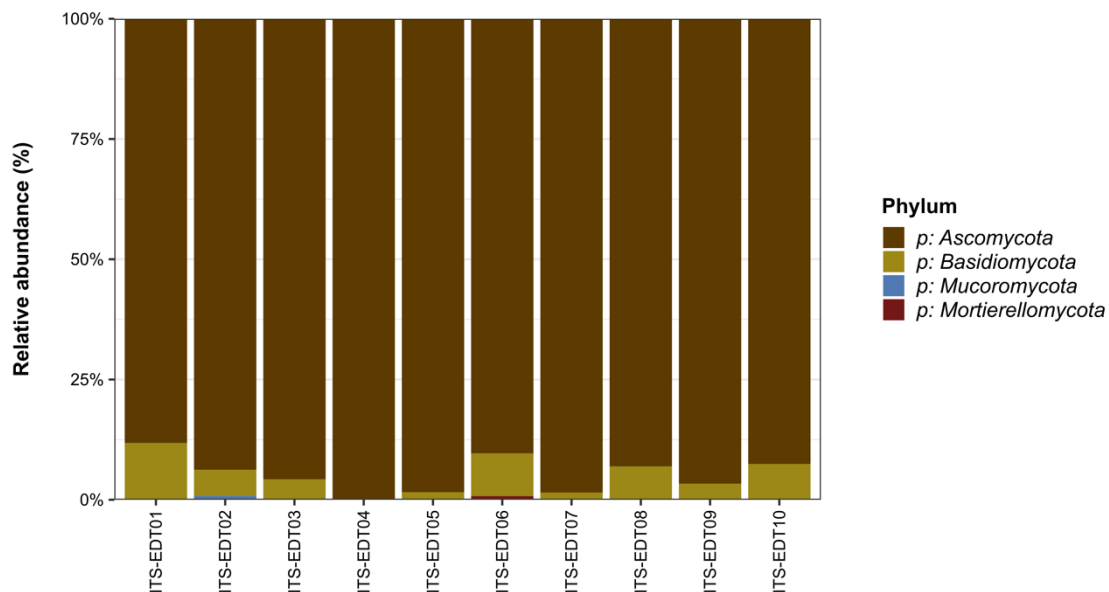


4.7. Endofíticos – Abundância relativa (Fungos)

Fungos endofíticos encontrados nos tratamentos 11 (*B. japonicum* + *T. harzianum*) e 12 (*A. brasilense* + *B. subtilis* + *B. japonicum* + *T. harzianum*) foram avaliados, porém, não conclusivos. Os demais tratamentos, foram identificados de filo à gênero e podem ser visualizados a seguir.

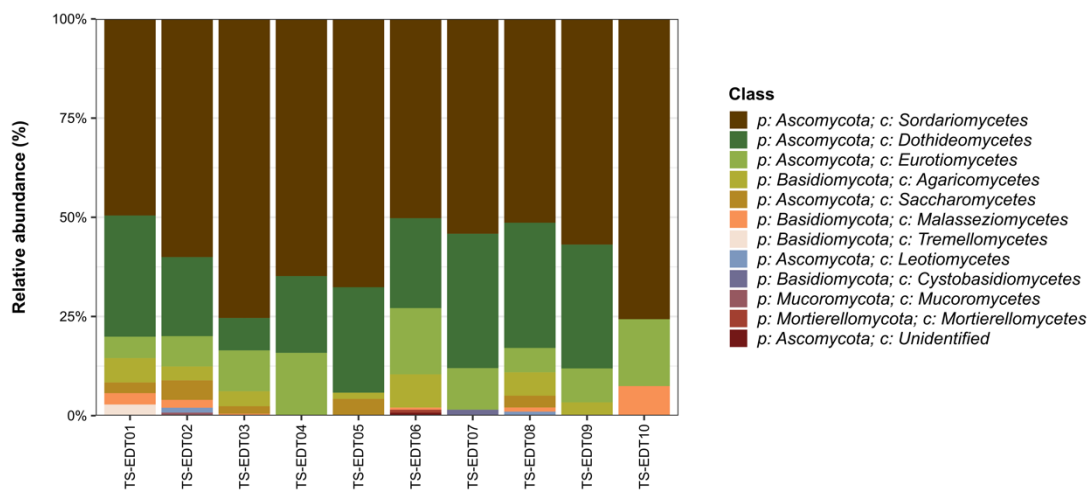
Ascomycetos foram dominantes entre os filos encontrados no grupo controle (T1). Ascomycota é um grupo monofilético e compreende cerca de 32.300 espécies, dentre as quais, fungos responsáveis pela decomposição de moléculas orgânicas complexas, que, após reduzidas, podem ser utilizadas por plantas. Porém, também estão inclusos neste filo, uma grande quantidade de fitopatógenos. Esta dominância prevaleceu entre os filos encontrados nos demais tratamentos, onde, foi realizada a inoculação de microrganismos promotores do crescimento de plantas. Vale ressaltar, que a abundância relativa de microrganismos pertencentes a este filo, foi maior quando houve a inoculação de *B. japonicum* (T4), *T. harzianum* (T5) e na associação de *A. brasilense* + *B. japonicum* (T7). Além de ascomycetos, destaca-se também, o filo Basidiomycota, presente em quase todos os tratamentos, porém, em menor número, conforme Figura 18.

Fig. 18 Abundância relativa (%) dos filos de fungos encontrados no interior dos tecidos vegetais (endofíticos), de raízes de plantas de amendoim tratadas com diferentes inoculantes bacterianos e fúngico em casa de vegetação.



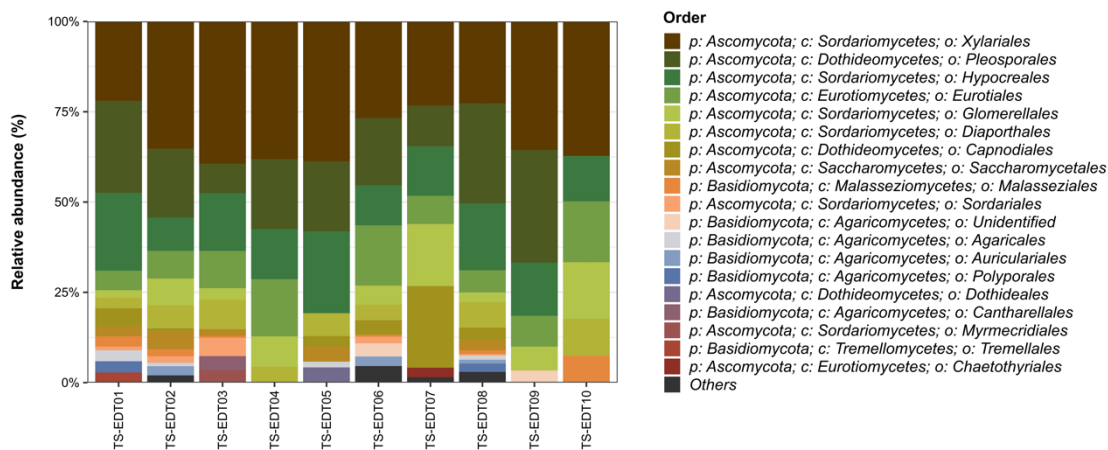
Os ascomicetos dividiram-se em seis classes de microrganismos, sendo Sordariomycetes e Dothideomycetes as principais. Sordariomycetes foi abundantemente dominante no grupo controle (T1), assim como, nos demais tratamentos. Destaque também, para Eurotiomycetes, também pertencente ao filo Ascomycota. Microrganismos pertencentes a esta classe, foram encontrados no grupo controle e permaneceram em grande parte dos tratamentos, porém, com menor abundância relativa. Outras classes também podem ser visualizadas, porém, em menor número (Figura 19).

Fig. 19 Abundância relativa (%) das classes de fungos encontrados no interior dos tecidos vegetais (endofíticos), de raízes de plantas de amendoim tratadas com diferentes inoculantes bacterianos e fúngico em casa de vegetação.



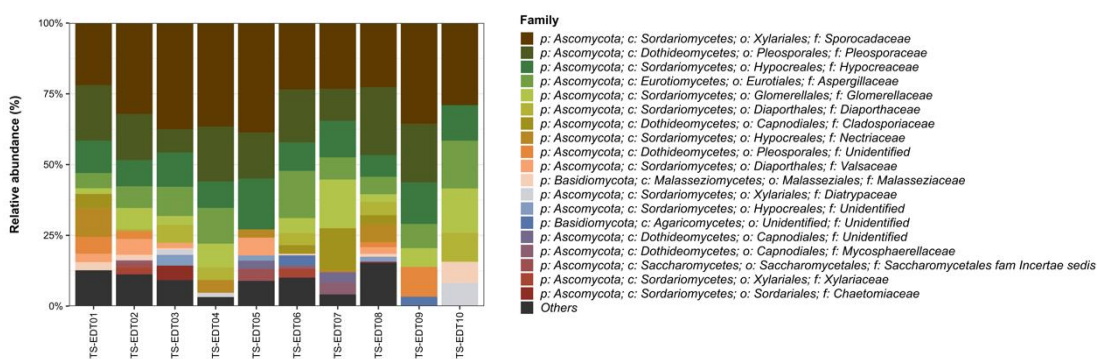
Três ordens foram mais abundantemente frequentes no grupo controle (T1), Xylariales, Pleosporales e Hypocreales. Esse padrão, relativamente se manteve nos demais tratamentos, com exceção do tratamento 10 (*B. subtilis* + *T. harzianum*), onde Pleosporales esteve ausente. Além disso, outras ordens que não haviam se destacado no controle, aumentaram sua abundância em outros tratamentos. Isso é válido para Eurotiales em plantas tratadas com *B. japonicum* (T4), na associação de *A. brasilense* + *B. subtilis* (T6) e na união de *B. subtilis* + *T. harzianum* (T10). Destaque também para o aumento expressivo de Glomerellales em plantas tratadas com *A. brasilense* + *B. japonicum* (T7) e no tratamento 10 (*B. subtilis* + *T. harzianum*). Outro aumento interessante foi o de Capnodiales somente no tratamento 7 (*A. brasilense* + *B. japonicum*). A relação das ordens fúngicas presentes endofiticamente, pode ser visualizada na Figura 20.

Fig. 20 Abundância relativa (%) das ordens de fungos encontrados no interior dos tecidos vegetais (endofíticos), de raízes de plantas de amendoim tratadas com diferentes inoculantes bacterianos e fúngico em casa de vegetação.



Muitas famílias foram encontradas no tratamento controle (T1), as mais abundantes sendo Sporocadaceae, Pleosporaceae, Hypocreaceae e Cladosporiaceae. O padrão sofreu algumas alterações ao longo dos tratamentos, Pleosporaceae esteve ausente no tratamento 10 (*B. subtilis* + *T. harzianum*) e a incidência de Cladosporiaceae foi drasticamente reduzida com as inoculações. Houve também o aumento de algumas famílias em plantas que receberam algum tratamento, exemplos disso foi o aumento de Aspergillaceae em plantas tratadas com *B. japonicum* (T4), *A. brasilense* + *B. subtilis* (T6) e *B. subtilis* + *T. harzianum* (T10) e o aumento de Glomerellaceae nos tratamentos 7 (*A. brasilense* + *B. japonicum*) e 10 (*B. subtilis* + *T. harzianum*). As famílias fúngicas encontradas podem ser visualizadas na Figura 21.

Fig. 21 Abundância relativa (%) das famílias de fungos encontrados no interior dos tecidos vegetais (endofíticos), de raízes de plantas de amendoim tratadas com diferentes inoculantes bacterianos e fúngico em casa de vegetação.



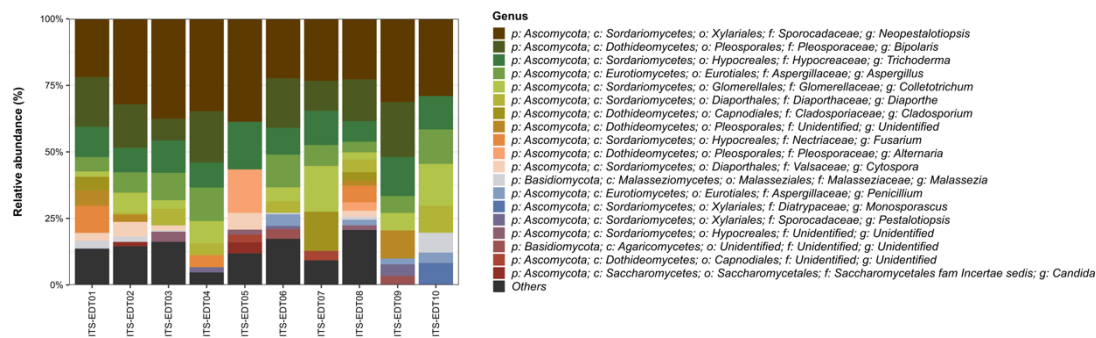
Muitos foram os gêneros fúngicos evidenciados como endofíticos nas plantas de amendoim. No grupo controle (T1) podemos observar uma abundância relativamente superior de *Neopestalotiopsis* (21%) e de *Bipolaris* (18%) aos demais gêneros encontrados, destaque também, para a presença de *Trichoderma* (11%) e de *Fusarium* (10%). Plantas que receberam *Azospirillum brasilense* (T2) mantiveram uma abundância relativa de *Bipolaris* (16%) e de *Trichoderma* (9%) próximas ao controle, porém, houve um aumento de *Neopestalotiopsis* para 32% e os microrganismos pertencentes ao gênero *Fusarium* foram perdidos. No terceiro tratamento (*Bacillus subtilis*), observa-se um aumento expressivo de *Neopestalotiopsis* (37%) e de *Aspergillus* (10%), *Trichoderma* se manteve constante (12%).

No tratamento 4 (*Bradyrhizobium japonicum*), *Neopestalotiopsis* (35%), *Bipolaris* (16%) e *Aspergillus* (10%) também se destacaram. E o uso de *T. harzianum* (T5) promoveu o aumento de *Neopestalotiopsis* (39%), *Trichoderma* (18%) e de *Alternaria* (16%) nas plantas de amendoim.

Os dados referentes ao tratamento envolvendo a associação de *A. brasilense* + *B. subtilis* (T6) foram próximos aos encontrados no grupo controle (T1) para *Neopestalotiopsis* (22%), *Bipolares* (18%) e *Trichoderma* (10%), a diferença entre eles se dá, pelo aumento de microrganismos do gênero *Aspergillus* presentes nas amostras (12%) e pela ausência do gênero *Fusarium* neste tratamento. Em plantas tratadas com *A. brasilense* + *B. japonicum* (T7), a abundância relativa do gênero *Neopestalotiopsis* nas amostras foi semelhante ao encontrado pelo controle (T1), porém, gêneros como *Colletotrichum* (17%) e *Cladosporium* (15%) tiveram um alto crescimento neste tratamento.

O tratamento 8 (*A. brasilense* + *T. harzianum*) não obteve diferenças significativas comparado ao grupo controle (T1). Por outro lado, o tratamento 9 (*B. subtilis* + *B. japonicum*) proporcionou um aumento na abundância relativa de *Neopestalotiopsis* (31%), *Bipolares* (21%) e *Trichoderma* (14%) nas plantas. Por fim, o tratamento 10 (*B. subtilis* + *T. harzianum*) gerou um aumento na abundância de *Neopestalotiopsis* (29%), de *Colletotrichum* (15%) e de *Aspergillus* (13%). A relação dos gêneros fúngicos presentes endofiticamente, pode ser visualizada na Figura 22.

Fig. 22 Abundância relativa (%) dos gêneros de fungos encontrados no interior dos tecidos vegetais (endofíticos), de raízes de plantas de amendoim tratadas com diferentes inoculantes bacterianos e fúngico em casa de vegetação.



5. DISCUSSÃO

Embora o amendoim tenha enorme importância econômica e social para a região e para o país, essa cultura ainda não possui nenhum tipo de inoculante biológico para aumentar seu crescimento e desenvolvimento vegetal. Além disso, as pesquisas nas quais se utilizam inoculantes biológicos para a cultura do amendoim no mundo são escassas e, especificamente, nas condições brasileiras e nas condições regionais do Brasil, são praticamente incipientes (Johnson, 2019). Nossos dados mostram que é possível obter incrementos na cultura do amendoim com a inoculação de microrganismos promotores de crescimento de plantas sem grandes mudanças no manejo e na condução da cultura.

Em condições controladas (casa de vegetação), nossos resultados proporcionaram uma seleção de microrganismos mais promissores e adaptados para a sua utilização em condições de campo, reduzindo gastos, esforços e tempo na execução dos experimentos. Nesse sentido, os microrganismos *A. brasilense* e *B. japonicum* e as misturas *A. brasilense* + *B. japonicum* e *A. brasilense* + *T. harzianum* foram mais promissores na promoção de incrementos vegetais nos diversos parâmetros analisados e por isso foram estudados também em condições de campo. O experimento avaliado em condições não controladas (campo), por sua vez, permitiu uma melhor avaliação do potencial dos microrganismos testados em promover o crescimento e o desenvolvimento vegetal.

De modo geral, todos os microrganismos avaliados no presente estudo promoveram incrementos nos diferentes parâmetros analisados, altura das plantas, massa seca de raiz e de parte aérea e concentrações de fósforo e de nitrogênio, em ambas as condições, casa de vegetação e campo. Essa diversidade em habilidades de promoção de crescimento por microrganismos já havia sido antes relatada em trabalhos como o de Basu et al. (2021) e o de Santos et al. (2022).

Correia et al. (2012), por sua vez, constatou a grande influência do nitrogênio na altura e na massa seca das plantas. Essa influência, pode ser observada também em nosso trabalho, onde a alta concentração de nitrogênio

em plantas tratadas com a união de *A. brasilense* + *B. japonicum* resultou nas maiores médias de massa seca (raiz e parte aérea) em casa de vegetação, assim como, na maior média de altura, encontrada em ambas as condições (casa de vegetação e campo). A fixação biológica do nitrogênio exige gastos de ATP e por isso há a necessidade de uma elevada concentração de fósforo (Mathesius, 2022).

Interessante notar que, embora, na condição de casa de vegetação, o tratamento que recebeu a mistura *B. subtilis* + *T. harzianum* tenha apresentado maior valor para a enzima urease, nenhum microrganismo avaliado promoveu incrementos na concentração de nitrogênio nas plantas em campo. O nitrogênio faz parte da composição de diferentes compostos orgânicos, incluindo aminoácidos e ácidos nucleicos, e como relatado por Melo (2013), é de suma importância, que este nutriente seja disponibilizado para a planta em quantidades suficientes para o seu pleno desenvolvimento. Por outro lado, todos os microrganismos avaliados promoveram aumentos nos teores de fosfatase no solo comparados com o tratamento controle. Entretanto, as concentrações de fósforo na parte aérea foram aumentadas apenas nas plantas que receberam a inoculação da bactéria *B. subtilis* em casa de vegetação.

A diferença entre as concentrações de fósforo nas raízes deste trabalho, foi obtida apenas em campo, com destaque positivo para o tratamento 7 (*A. brasilense* + *B. japonicum*). Plantas tratadas com a união desses dois microrganismos foram as que também apresentaram a maior massa seca de raiz. Essa relação, corrobora com os resultados obtidos por Marques et al. (2014), que indicou o fósforo como sendo um macronutriente importante no crescimento inicial de raízes, bem como, crucial para o metabolismo das plantas. O fósforo, também atua na produtividade da cultura, aumentando a eficiência reprodutiva e o enchimento dos frutos (dos Santos et al., 2021).

Quanto a produtividade, principal fator esperado pelo produtor de amendoim, a inoculação da bactéria *B. japonicum* se mostrou a mais promissora para a cultura. Microrganismos pertencentes ao gênero são muito utilizados em práticas agrícolas, com o intuito de aumentar a produtividade e o crescimento de leguminosas (Khaitov et al., 2016). Neste estudo, além de aumentar a produtividade, o inoculante também gerou, em condições de campo, um

aumento da concentração de fósforo nas raízes das plantas. Interessante que essa espécie é muito adaptada para a cultura da soja e menos adaptada para a cultura do feijão, ambas leguminosas, mostrando que o sucesso da interação planta *B. japonicum* é dependente de especificidade.

Entretanto, alguns incrementos ou efeitos benéficos ocorridos em condições controladas (casa de vegetação) não se repetiram em condições de campo. Os microrganismos promotores de crescimento de plantas possuem diversas habilidades de promoção de crescimento como foi mencionada. Entretanto, algumas inoculações com esses microrganismos falham nesse propósito. Essa falha na promoção de crescimento é resultado da interferência de diversos fatores nesse efeito de promoção de crescimento provocando uma variação na intensidade da promoção de crescimento das plantas e até mesmo prejudicando o desenvolvimento vegetal (Lobo et al., 2022). Esses fatores que podem interferir nesses efeitos de promoção de crescimento são as condições de temperatura do ambiente, pH do solo, estado fenológico da planta, fatores edafoclimáticos entre outros. Entretanto, o fator que mais afeta a interação dos microrganismos e consequentemente o sucesso na interação e na ação microbiana é o genótipo vegetal (Lopes et al., 2021).

Nesse sentido, uma estratégia para aumentar as chances de uma interação positiva entre o microrganismo do inoculante com a planta é utilizar formulações com mais de um microrganismo ou até mesmo um consórcio microbiano. Além disso, existe a possibilidade de sinergismo entre os microrganismos da formulação e o efeito promotor de crescimento de plantas seria aumentado (Mitter et al., 2019). Todavia, o presente estudo avaliou misturas de microrganismos como *A. brasilense* + *B. subtilis*; *A. brasilense* + *B. japonicum*; *A. brasilense* + *T. harzianum*; *B. subtilis* + *B. japonicum*; *B. subtilis* + *T. harzianum*; *B. japonicum* + *T. harzianum* e do consórcio dos microrganismos sendo a mistura de *A. brasilense* + *B. subtilis* + *B. japonicum* e *T. harzianum*. Interessante notar que as misturas de microrganismos inoculados nas plantas de amendoim não promoveram maiores crescimento e desenvolvimento vegetal comparado com as inoculações dos mesmos microrganismos de forma separada. Especificamente, na condição de campo a maior produtividade foi encontrada na inoculação do *B. japonicum* isolado e a menor produtividade foi

encontrada na mistura de *A. brasilense* com *T. harzianum*. Esses resultados mostram que a mistura de microrganismos com diferentes habilidades não garante, necessariamente, uma vantagem para a cultura.

Contudo, este experimento, assim como o de Santos et al. (2022) e o de Diaz et al. (2021), evidenciou que, a utilização de microrganismos promotores do crescimento de plantas é uma excelente estratégia, que pode ser utilizada para reduzir os custos de produção, a dose de fertilizantes minerais, além de, reduzir impactos ambientais sem o detrimento da produtividade, desta vez, tendo como foco a cultura do amendoim.

Em relação a diversidade microbiana endofítica, fungos e bactérias foram isolados das raízes de plantas de amendoim sob duas diferentes condições, sendo, sem o recebimento de inoculações microbiológicas (controle) e após a interferência de microrganismos dos gêneros *Azospirillum*, *Bacillus*, *Bradyrhizobium* e *Trichoderma*. Eles foram também, subdivididos de acordo com a abundância relativa e identificados de filo até gênero.

Proteobacteria foi o filo de bactérias mais abundante em ambas as situações, no grupo controle e nos tratamentos que receberam os inoculantes. Como descrito por Janssen (2006), é um dos maiores e mais versáteis filamentos do domínio Bacteria, presente em diferentes ambientes, além, de ser o filo mais abundante na maioria dos solos já estudados. Vários de seus gêneros são simbioses de plantas, e como relatado por Kersters et al. (2006) e Spain et al. (2009), possuem grande diversidade morfológica, fisiológica e metabólica, incluindo microrganismos importantes para o ciclo global do carbono, nitrogênio e enxofre. Houve diferenças significativas em relação a abundância relativa de microrganismos pertencentes ao filo nos diferentes tratamentos, em especial no tratamento 2 (*A. brasilense*), 11 (*B. japonicum* + *T. harzianum*) e 12 (consórcio), onde houve um aumento da presença de proteobactérias. Esse aumento é justificado por Chiarini et al. (1998) e por Hallmann et al. (1997), que evidenciam que a colonização microbiana de raízes de plantas é afetada por fatores bióticos e abióticos, dentre os quais, a competição entre microrganismos.

A maioria dos representantes endofíticos fúngicos encontrados pertencem ao filo Ascomycota. Isso ocorreu tanto para o controle (sem inoculação), quanto para os demais tratamentos (com inoculação). Esse resultado está de acordo

com os de Piancó et al. (2022), cujo, isolamento e identificação de endofíticos de uma variedade de espécies vegetais, indicou em uma maioria, a presença de microrganismos pertencentes a este mesmo filo. A reprodução em Ascomycota acontece de forma assexuada e sexuada, seus esporos são facilmente espalhados por vento, água ou mesmo insetos. E segundo Hyde et al. (2019) são muito bem adaptados ao modo de vida saprófito, parasitário e mutualista, ao qual, justifica tamanha abundância dentre os demais filos encontrados.

Dezoito gêneros bacterianos foram identificados e encontrados em maior abundância relativa. Microrganismos do gênero *Bacillus* e *Azospirillum*, utilizados em parte dos tratamentos não estavam entre os gêneros encontrados, porém, influenciaram na abundância relativa dos endofíticos presentes na planta. Além disso, tratamentos contendo *Bradyrhizobium japonicum*, não promoveram aumentos na abundância relativa do gênero. Segundo Rosenblueth & Martínez-Romero (2006), a densidade populacional de endofíticos é variável, pois, depende das espécies bacterianas presentes no ambiente, do genótipo e estágio de desenvolvimento do hospedeiro, além, das condições do ambiente. Esse fato, pode nos ajudar a compreender a dinâmica ocorrida na microbiota endofítica das plantas de amendoim. Além disso, a ausência de gêneros endofíticos mais comumente isolados como *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Pseudomonas* e *Xanthomonas* (Hallmann et al., 1997), pode também estar relacionada com a parte da planta utilizada (Magnani et al., 2010).

Dezoito gêneros fúngicos também foram identificados e encontrados em maior abundância relativa. *Neopestalotiopsis*, *Bipolaris* e o *Trichoderma* estão entre os mais abundantes, porém, com oscilações entre os tratamentos. De acordo com Bezerra et al. (2013), toda a diversidade e abundância de fungos endofíticos sofrem variações, relacionados a diferentes fatores do ambiente e da planta. O autor também relatou, que normalmente, uma ou duas espécies predominam endofiticamente na plantas, enquanto outras aparecem em menor frequência. Essas afirmações, concordam com os resultados encontrados em nosso trabalho. Outro resultado interessante foi o aumento de microrganismos endofíticos do gênero *Trichoderma* no tratamento 5 (*T. harzianum*), indicando uma possível interferência do inoculante na microbiota da planta. Essa capacidade endofítica do gênero, assim como sua importância na agricultura, foi

relatado por Azevedo et al. (2017), onde, dentre os benefícios gerados, estão a promoção do crescimento e a proteção contra fitopatógenos.

6. CONCLUSÕES

A combinação de *A. brasilense* + *B. japonicum* se mostrou eficaz para o crescimento e desenvolvimento da cultura do amendoim, apresentando maiores resultados em casa de vegetação e em campo.

Por apresentar altas concentrações de nitrogênio e fósforo na parte aérea e raízes das plantas de amendoim, *Bacillus subtilis* apresentou um potencial a ser explorado em campo como promotor do crescimento da cultura.

Solos que receberam microrganismos como inoculantes apresentaram maior atividade enzimática da fosfatase ácida, fator que pode ter influenciado nas concentrações de fósforo encontradas nos diferentes tratamentos.

Bradyrhizobium japonicum foi o tratamento mais promissor para a cultura do amendoim em termos de produtividade.

A inoculação de microrganismos promotores do crescimento influenciou a microbiota presente endofiticamente nas plantas de amendoim, alterando a abundância relativa dos microrganismos presentes nos tecidos vegetais.

7. REFERÊNCIAS

- fAioub AAA, Elesawy AE, Ammar EE (2022) Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and their role in plant-parasitic nematodes control: A fresh look at an old issue. **Journal of Plant Diseases and Protection**, 129:1305-1321. <https://doi.org/10.1007/s41348-022-00642-3>
- Altaf MM (2021) Functional diversity of nitrogen-fixing plant growth-promoting Rhizobacteria: The story so far. **Soil Nitrogen Ecology**, 62:327-348. https://doi.org/10.1007/978-3-030-71206-8_16
- Andersen KS, Kirkegaard RH, Karst SM, Albertsen M (2018) ampvis2: An R package to analyse and visualise 16S rRNA amplicon data. **BioRxiv**. <https://doi.org/10.1101/299537>
- Araujo WL, Lima AOS, Azevedo JL, Marcon J, Kukinskysobral J, Lacava PT (2002) **Manual: isolamento de microrganismos endofíticos**. Piracicaba: CALQ, 86 p.
- Araújo WL, Maccheroni Júnior W, Aguilar-Vildoso CI, Barroso PAV, Saridakis HO, Azevedo JL (2001) Variability and interaction between endophytic bacteria and fungi isolated from leaf tissues of citrus rootstocks. **Canadian Journal of Microbiology**, 47:229-236. <https://doi.org/10.1139/w00-146>
- Assumpção LC, Lacava PT, Dias ACF, de Azevedo JL, Menten JOM (2008) Diversity and biotechnological potential of endophytic bacterial community of soybean seeds. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 44:503-510. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2009000500010>
- Avontuur JR, Palmer M, Beukes CW, Chan WY, Coetzee MPA, Blom J, Stepkowski T, Kyrpides NC, Shapiro N, Whitman WB, Venter SN, Steenkamp ET (2019) Genome-informed *Bradyrhizobium* taxonomy: where to from here? **Systematic and Applied Microbiology**, 42:427-439. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2019.03.006>
- Azevedo GB, Novaes QS, Azevedo GTOS, Silva HF, Sobrinho GGR, Novaes AB (2017) Effect of *Trichoderma* spp. on *Eucalyptus camaldulensis* clonal seedlings growth. **Scientia Forestalis**, 45:343-352. <https://doi.org/10.18671/scifor.v45n114.10>
- Barbosa ED (2005) **Isolamento de microrganismos endofíticos de *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. (malva-do-campo) e avaliação de seu potencial enzimático e antimicrobiano**. 87 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) – UFG, Goiânia.
- Barbosa JC, Maldonado Júnior W (2011) **AgroEstat**: system for statistical analysis of agronomic tests. Version 1.0 - Unesp, Jaboticabal.
- Barbosa RM, Homem BFM, Tarsitano MAA (2014) Production costs and profitability of peanut in Jaboticabal, São Paulo. **Revista Ceres** 61:475-481. <https://doi.org/10.1590/0034-737X201461040005>

Barreto M (1997) Doenças do amendoim (*Arachis hypogaea* L.). In.: Kimati H, Amorim L, Bergamin Filho A, Camargo LEA, Rezende JAM (Eds.) **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Agronômica Ceres, p. 71-82.

Barros JA, Notaro KA, Medeiros EV, Moreira KA, Silva AO (2013) **Estimativa da atividade enzimática urease em solos do agreste meridional de Pernambuco**. Recife: XIII Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão – JEPEX, 3 p. (JEPEX. Documentos).

Bashan LE, Hernandez JP, Bashan Y (2012) The potential contribution of plant growth-promoting bacteria to reduce environmental degradation – A comprehensive evaluation. **Applied Soil Ecology**, 61:171-189. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2011.09.003>

Basu A, Prasad P, Das SN, Kalam S, Sayyed R, Reddy M, Enshasy HE (2021) Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as green bioinoculants: recent developments, constraints, and prospects. **Sustainability**, 13:1-20. <https://doi.org/10.3390/su13031140>

Bello MMD (2019) **Dinâmica populacional de pragas chaves e resistência na categoria por antibiose a *Stegasta bosqueella* (lepidoptera: gelechidae) em amendoim**. 68 f. Tese (Doutorado em Entomologia Agrícola) – Unesp, Jaboticabal.

Beltrão NEM, Sousa Júnior SP, Oliveira MIP, Fideles Filho J, Silva MNB (2011) Ecofisiologia do amendoim. In.: Beltrão NEM, Oliveira MIP (Eds.) **Ecofisiologia das culturas de algodão, amendoim, gergelim, mamona, pinhão-manso e sisal**. Brasília: EMBRAPA, p. 125-62.

Bergamaschi C (2006) **Bactérias diazotróficas associadas a raízes e colmos de cultivares de sorgo**. 83 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) – UFRS, Porto Alegre.

Bertioli DJ, Seijo G, Freitas FO, Valls JFM, Bertioli SCML, Moretzsohn MC (2011) An overview of peanut and its wild relatives. **Plant Genetic Resources**, 9:134-149. <https://doi.org/10.1017/S1479262110000444>

Bezerra JDP, Santos MGS, Barbosa RN, Svedese VM, Lima DMM, Fernandes MJS, Gomes BS, Paiva LM, Cortez JSA, Motta CMS (2013) Fungal endophytes from cactus *Cereus jamacaru* in brazilian tropical dry forest: a first study. **Symbiosis**, 60:53-63. <https://doi.org/10.1007/s13199-013-0243-1>

Bogas AC, Torres FL, Sousa CP, Lacava PT (2020) Bioactivity of endophytes from the Brazilian tropical savannah. **Acta Scientific Microbiology**, 3:15-22. <https://doi.org/10.31080/ASMI.2020.03.0670>

Boote KJ (1982) Growth stages of peanut (*Archis hypogaea* L.). **Peanut Science**, 9:35-40. <https://doi.org/10.3146/i0095-3679-9-1-11>

Brito Filho AL, Souza JBC, Silva RP (2019) Preparo do solo para a cultura do amendoim. In.: Jammal DG (Ed.) **Novas tecnologias da engenharia para aproveitamento do amendoim**. Jaboticabal: AREA, p. 18-22.

Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, Han AW, Johnson AJA, Holmes SP (2016) DADA2: high-resolution sample inference from Illumina amplicon data. **Nature methods** 13:581.

Chandran H, Meena M, Swapnil P (2021) Plant growth-promoting rhizobacteria as a green alternative for sustainable agriculture. **Sustainability**, 13:1-30. <https://doi.org/10.3390/su131910986>

Chiarini L, Bevivino AM, Dalmastri C, Nacamulli C, Tabacchioni S (1998) Influence of plant development, cultivar and soil type on microbial colonization of maize roots. **Applied Soil Ecology**, 8:11-18. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(97\)00071-1](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(97)00071-1)

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento (2022) **Acompanhamento da safra brasileira – primeiro levantamento, [safra 2022/2023]**.

Cordero I, Snell H, Bardgett RD (2019) High throughput method for measuring urease activity in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, 134:72-77. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2019.03.014>

Correa OS, Romero AM, Soria MA, Estrada M (2008) *Azospirillum brasilense*-plant genotype interactions modify tomato response to bacterial diseases, and root and foliar microbial communities. In: Cassán FD, Garcia DE, Salamone I (Eds.) ***Azospirillum sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina***. Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología, p. 87-95.

Correia BR (2014) **Torta de amendoim, oriunda da produção do biodiesel, na terminação de machos nelore confinados**. 100 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – UESB, Itapetinga.

Correia MAR, Padro RM, Almeida TBF, Puga AP, Barbosa JC (2012) Evaluation of nutritional disorder of peanut plants cultivated in nutrient solution suppressed of macronutrients. **Scientia Agraria**, 13:21-28.

Costa MR (2011) **Caracterização molecular de isolados bacterianos de nódulos e rizosfera de soja em diferentes manejos de cultivo**. 86 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Unesp, Jaboticabal.

da Costa TB, da Silva FE, Penha Filho N, Lopes NS, Camara FT (2017) Fertilizing response of two peanut cultivars in two sowing systems. **Agrarian Academy**, 4:240-248. https://doi.org/10.18677/Agrarian_Academy_2017b25

Dartora J, Guimarães VF, Marini D, Sander G (2013) Nitrogen fertilization associated to inoculation with *Azospirillum brasilense* and *Herbaspirillum seropedicae* in the maize. **Revista brasileira de engenharia agrícola e ambiental**, 17:1023-1029. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-43662013001000001>

da Silva IA (2019) **Efeito da fonte de nitrogênio na diversidade da população de endofíticos em cana-de-açúcar**. 37 f. TCC (Bacharelado em Engenharia Agrônômica) – UFA, Rio Largo.

De Bary A (1866) Morphologie und physiologie der Pilze, Flechhten und Myxomyceten. **Leipzig**, 316p.

de Carvalho LAL (2021) **Investigação sobre o efeito do sistema de cultivo na composição da microbiota da cana-de-açúcar**. 83 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) – Unesp, Jaboticabal.

de Medeiros FHV, Guimarães RA, da Silva JCP, Magalhães VC, de Souza JT (2019) *Trichoderma*: interações e estratégias. In.: Meyer MC, Mazaro SM, da Silva JC (Eds.) **Trichoderma uso na agricultura**. Brasília: EMBRAPA, p. 219-234.

de Souza RSC, Okura VK, Armanhi JSL, Jorrín B, Lozano N, da Silva MJ, González-Guerrero M, de Araújo LM, Verza NC, Bagheri HC, Imperial J, Arruda P (2016) Unlocking the bacterial and fungal communities assemblages of sugarcane microbiome. **Scientific Reports** 6:1-15 <https://doi.org/10.1038/srep28774>

Diaz PAE, Santos RMS, Cozentino NCB, Oniel JA, Rigobelo EC (2021) Effect of *Aspergillus* and *Bacillus* concentration on cotton growth promotion. **Frontiers in Microbiology**, 12:1-18. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.737385>

dos Santos AAC, de Oliveira AJ, de Oliveira TC, da Cruz AKN, Almici MS (2021) The culture of *Arachis hypogaea* L.: A review. **Research, Society and Development**, 10:1-5. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i2.12719>

Duarte ES, Ribeiro MCO, Melo IG, Teixeira GD, Faggi AM, Marriel IE (2015) Atividade de Fosfatase Ácida e Alcalina do Solo de Área Minerada em Diferentes Estágios de Regeneração Ambiental. In: XXXV Congresso Brasileiro de Ciências do Solo. **Resumos...** Natal: CBCS, p. 1-3.

Duff Am, Forrestal P, Ikoyi I, Brennan F (2022) Assessing the long-term impact of urease and nitrification inhibitor use on microbial community composition, diversity and function in grassland soil. **Soil Biology and Biochemistry**, 170:1-11. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2022.108709>

Edgar R (2010) **Usearch**. Lawrence Berkeley National Lab. (LBNL), Berkeley, CA (United States).

Eid AM, Salim SS, Hassan SD, Ismail MA, Fouda A (2019) Role of endophytes in plant health and abiotic stress management. In.: Kumar V, Prasad R, Kumar M, Choudhary DK (Eds.) **Microbiome in plant health and disease: challenges and opportunities**. Singapore: Springer, p. 119-144. http://dx.doi.org/10.1007/978-981-13-8495-0_6

Esposito-Polesi NP (2020) Contamination versus endophytic manifestation: implications in plant in vitro culture. **Rodriguésia**, 71:1-15. <https://doi.org/10.1590/2175-7860202071072>

FAO – Food and Agriculture of the United Nations (2020). **Faostat (Crops)**.

Fávero AP (2004) **Cruzabilidade entre espécies silvestres de *Arachis* visando à introgressão de genes de resistência a doenças no amendoim cultivado**. 182 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Usp, Piracicaba.

Fernandes OA, Albuquerque FA (2014) Manejo integrado de pragas. In.: Suassuna TMF (Ed.) **Sistema de Produção de Amendoim**. Brasília: Embrapa, versão eletrônica.

Ferreira JLS (2015) **Cobertura vegetal, teor de óleo e produtividade de linhagens interespecíficas de amendoim no sudoeste de Goiás**. 74 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – UFG, Jataí.

Ferreira LE, de Souza EP, Chaves AF (2012) Green manure and its effect on soil attributes. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, 7:33-38.

Franco MFS, Jacomino AP, Spricigo PC, Ramos DGB, Oliveira JE, Florêncio MT, Oliveira Júnior MA, Milan RJ, Kluge RA (2022) Endophytic microorganisms for the preservation of vegetables. **Research, Society and Development**, 11:1-11. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i2.25761>

Fukami J, Cerezini P, Hungria M (2018) *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. **AMB Express**, 8:1-12. <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0608-1>

Gericó TG (2019) **Efeitos de bactérias promotoras do crescimento de plantas no desenvolvimento e na produtividade do amendoim (*Arachis hypogaea* L.)**. 52 f. Dissertação (Mestrado em Agronegócio e Desenvolvimento) – Unesp, Tupã.

Goes GF, de Sousa GG, Santos SO, da Silva Júnior FB, de Ceita EAR, Leite KN (2021) Peanut culture yield under different salt waterirrigation suppressions. **Irriga** 26:210-220. <http://dx.doi.org/10.15809/irriga.2021v26n2p210-220>

Guimarães VF, Battistus AG, de Souza AK, Bulegon LG, Offemann LC, Inagaki AM (2017) Bactérias Promotoras de Crescimento Vegetal: da FBN à regulação hormonal, possibilitando novas aplicações. In.: Zambom MA, Kuhn OJ, da Silva NLS, Stangarlin JR, Nunes RV, Fulber VM, Eyng C (EDs) **Ciências Agrárias: Ética Do Cuidado, Legislação e Tecnologia Na Agropecuária**. Marechal Candido Rondon, p.193-212.

Hallmann J, Quadts-Hallmann A, Mahaffee WF, Kloepper JW (1997) Bacterial endophytes in agricultural crops. **Canadian Journal of Microbiology**, 43:895-914. <https://doi.org/10.1139/m97-131>

Hashem A, Tabassum B, Fathi E, Allah A (2019) *Bacillus subtilis*: A plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress. **Saudi Journal of Biological Sciences**, 26:1291-1297. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.05.004>

Huang Y, Dai Z, Lin J, Li D, Ye H, Dahlgren RA, Xu J (2021) Labile carbon facilitated phosphorus solubilization as regulated by bacterial and fungal communities in *Zea mays*. **Soil Biology and Biochemistry**, 163:1-10. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2021.108465>

Hyde K et al. (2019) The amazing potential of fungi: 50 ways we can exploit fungi industrially. **Fungal Diversity**, 97:1–136. <https://doi.org/10.1007/s13225-019-00430-9>

Janssen PH (2006) Identifying the dominant soil bacterial taxa in libraries of 16S rRNA and 16S rRNA genes. **Applied and environmental microbiology**, 72(3). <https://doi.org/10.1128/AEM.72.3.1719-1728.2006>

Johnson WC (2019) A review of weed management challenges in organic peanut production. **Peanut Science**, 46:56-66. <https://doi.org/10.3146/PS18-12.1>

Kafarski P, Talma M (2018) Recent advances in design of new urease inhibitors: A review. **Journal of Advanced Research**, 13:101-112. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2018.01.007>

Kasai FS, Deuber R (2011) **Manejo de plantas daninhas na cultura do amendoim**. Campinas: Boletim Técnico IAC, p. 6.

Kassambara A (2020) **ggpubr: “ggplot2” Based Publication Ready Plots**. <https://CRAN.R-project.org/package=ggpubr>

Kerstens K, De Vos P, Gillis M, Swings J, Vandamme P, Stackebrandt E. (2006) Introduction to the Proteobacteria. In: Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer KH, Stackebrandt E (Eds.) **The Prokaryotes**. New York: Springer, p. 3-37.

Khaitov B, Kurbonov A, Abdiev A, Adilov M (2016) Effect of chickpea in association with *Rhizobium* to crop productivity and soil fertility. **Eurasian J Soil Sci**, 5:105–112. <https://doi.org/10.18393/ejss.2016.2.105-112>

Krishna G, Singh BK, Kim EK, Morya VK, Ramteke PW (2015) Progress in genetic engineering of peanut (*Arachis hypogaea* L.) - A review. **Plant Biotechnology Journal**, 13:147-162. <https://doi.org/10.1111/pbi.12339>

Lacava PT, Andreote FD, Araujo WL, Azevedo JL (2006) Characterization of the endophytic bacterial community from *Citrus* by isolation, specific PCR and DGGE. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 41:637-642. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2006000400013>

Lahti L, Shetty S (2012) Microbiome R package.

Lanna AC, Silveira PM, Silva MB, Ferraresi TM, Kliemann HJ (2010) Urease activity as influenced by planting system and plant cover in soil under common bean. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 34:1933-1939. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832010000600018>

Lobo LLB, da Silva MSRA, Carvalho RF, Rigobelo EC (2022) The negative effect of coinoculation of plant growth-promoting bacteria is not related to indole-3-acetic acid synthesis. **Journal of Plant Growth Regulation**, 1-10. <https://doi.org/10.1007/s00344-022-10706-1>

Lobo LLB, da Silva MSRA, Castellane TCL, Carvalho RF, Rigobelo EC (2022) Effect of Indole-3-Acetic Acid on Tomato Plant Growth. **Microorganisms**, 10:1-14. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10112212>

Lopes MJS, Dias-Filho MB, Gurgel ESC (2021) Successful plant growth-promoting microbes: inoculation methods and abiotic factors. **Front Sustain Food Syst**, 5:1-13. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.606454>

Love MI, Huber W, Anders S (2014) Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. **Genome Biology**, 15(12), 550. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8>

Magnani GS, Didonet CM, Cruz LM, Picheth CF, Pedrosa FO, Souza EM (2010) Diversity of endophytic bacteria in Brazilian sugarcane. **Journal Genetics and Molecular Research**, 9:250-258.

Malavolta E, Vitti GC, de Oliveira AS (1989) **Avaliação do estado nutricional das plantas: Princípios e Aplicações**. 201 p. Piracicaba: POTAFOS.

Manganiello G, Sacco A, Ercolano MR, Vinale F, Lanzuise S, Pascale A, Napolitano M, Lombardi N, Lorito M, Woo SL (2018) Modulation of Tomato Response to *Rhizoctonia solani* by *Trichoderma harzianum* and Its Secondary Metabolite Harzianic Acid. **Frontiers in Microbiology**, 9:1-19. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01966>

Marasigan K, Toews M, Kemerait Jr R, Abney M, Culbreath A, Srinivasan R (2015) Evaluation of alternatives to carbamate and organophosphate insecticides against thrips and Tomato spotted wilt virus in peanut production. **Journal of Economic Entomology**, 109:544-557.

Margalef O, Sardans J, Maspons J, Horas RM, Martínez MF, Janssens IA, Richter A, Ciais P, Obersteiner M, Peñuelas J (2021) The effect of global change on soil phosphatase activity. **Global Change Biology**, 27:5989-6003. <https://doi.org/10.1111/gcb.15832>

Marques DJ, Bianchini HC, Roewer LA (2014) Fosfito de potássio contribui para enchimento de grãos. Uberlândia: **Campo & Negócios**, 5p.

Mathesius U (2022) Are legumes different? Origins and consequences of evolving nitrogen fixing symbioses. **Journal of Plant Physiology**, 276:1-23. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2022.153765>

Mattei D, Pamphile JA, de Oliveira JAS, Battistus AG (2022) *Bacillus*: an eco-friendly source for plant development and sanity. **Research, Society and Development**, 11:1-13. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i15.37199>

McGarity JW, Myers MGA (1967) Survey of urease activity in soils of Northern New South Wales. **Plant and Soil**, 27:217-238. <https://doi.org/10.1007/BF01373391>

McMurdie PJ, Holmes S (2013) Phyloseq: An R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. **PLoS ONE** 8(4), e61217.

Melo EBS (2013) **Parâmetros fisiológicos em genótipos de amendoim inoculados com *Bradyrhizobium***. 44 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Uepb, Campina Grande.

Melo WJ, Melo GMP, Araújo ASF, Melo VP (2012) Avaliação da atividade enzimática em amostras de solo. In.: Figueiredo MVB, Burity HÁ, Oliveira JP, Santos CERES, Stamford NP (Eds.) **Biotecnologia aplicada à agricultura** 2ª ed. Brasília – DF.

Mendiburu F (2021) ***Agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research***. <https://CRAN.R-project.org/package=agricolae>

Michelotto MD, de Godoy IJ, Fávero AP (2013) Espécies silvestres como fontes de resistência a pragas e doenças do amendoim. **Pesquisa & Tecnologia**, 10:1-7.

Miranda LB, Domingues SCO, Dosso C, de Carvalho MAC, Yamashita OM, Rabelo HO (2020) Growth promoters in soybean crop. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, 7:469-479.

Mitter EK, Kataoka R, de Freitas JR, Germida JJ (2019) Potential use of endophytic root bacteria and host plants to degrade hydrocarbons. **International journal of phytoremediation**, 21:928-938. <https://doi.org/10.1080/15226514.2019.1583637>

Montovani JPM, Calonego JC, Foloni JSS (2013) Boron leaf application at different growth stages of peanut. **Revista Ceres** 60:270-278. <https://doi.org/10.1590/S0034-737X2013000200017>

Moreira FMS, da Silva K, Nóbrega RSA, de Carvalho F (2010). Diazotrophic associative bacteria: diversity, ecology and potential applications. **Comunicata Scientiae**, 1:74–99. <https://doi.org/10.14295/cs.v1i2.45>

Navroski D, Filho AC, Moreira A, Grange L (2016) Atividade da enzima fosfatase ácida em diferentes manejos de solo na região oeste do Paraná. In.: Filho A C, Caviglione JH, Barbosa GMC, Gil LG, Telles TS (Eds.) **XX Reunião Brasileira de Manejo e Conservação do Solo e da Água**, 20:738-740.

Nieto-Jacobo MF, Steyaert JM, Salazar-Badillo FB, Nguyen DV, Rostás M, Braithwaite M, Mendoza-Mendoza A (2017) Environmental growth conditions of *Trichoderma* spp. affects indole acetic acid derivatives, volatile organic compounds, and plant growth promotion. **Frontiers in Plant Science**, 8:1-18. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00102>

Nisa H, Kamili NA, Nawchoo IA, Shafi S, Shameem N, Bandh AA (2015) Fungal endophytes as prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products: A review. **Microbial Pathogenesis**, 82:50-59. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2015.04.001>

Nogueira RJM, Távora FJAF (2005) Ecofisiologia do amendoim. In: dos Santos RC (Ed.) **O agronegócio do amendoim no Brasil**. Campina Grande: Embrapa Algodão, p.71-122.

Oksanen, J., Blanchet, F. G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlinn, D., Minchin, P. R., O'Hara, R. B., Simpson, G. L., Solymos, P., Stevens, M. H. H., Szoecs, E., & Wagner, H. (2019). *vegan: Community Ecology Package*. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>

Oliveira JAS, Oliveira Júnior VA, Cótica LF, Conte H, Pamphile JA (2019) Síntese biológica de nanopartículas mediada por microorganismos endofíticos. **Revista Saber Científico**, 8:146-155.

Ormeño-Orrillo E, Martínez-Romero EA (2019) Genomotaxonomy View of the *Bradyrhizobium* Genus. **Frontiers in Microbiology**. 10:1-13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01334>

Peixoto CP, Gonçalves JA, Peixoto MFSP, do Carmo DO (2008) Agronomic characteristics and yield of peanut under different sowing dates and planting arrangements in the Reconcavo Region of Bahia State. **Bragantia** 67:673-684. <https://doi.org/10.1590/S0006-87052008000300016>

Pereira JO, Azevedo JL, Petrini O (1993) Endophytic Fungi of *Stylosanthes*: A First Report. **Mycologia**, 85:362-364. <https://doi.org/10.1080/00275514.1993.12026286>

Pezzopane JRM (Ed.) (2009) Amendoim. Brasília: INMET, 9p.

Piancó ES, Santos J, Corrêa LAD, Hatherly RL, Zanandra L (2022) Fungos endofíticos na ilha de Upaon-Açú, Maranhão, Brasil, e sua importância na conservação da flora. In: Rodrigues LRRC, Silva SVRS, Nery MFS, Tello JCR, Castro RB, Moraes Júnior VTM, Romero FMB, Gallindo JDR, Roca DKV (Eds.) **Dendrológica da espécie *Virola venosa* (benth.) warb. no campus UFAM – Manaus, Amazonas**. Editora Científico Digital, p. 119-134. <https://dx.doi.org/10.37885/220308020>

Porras-Alfaro A, Liu KL, Kuske CR, Xie G (2014) From Genus to Phylum: LargeSubunit and Internal Transcribed Spacer rRNA Operon Regions Show Similar Classification Accuracies Influenced by Database Composition. **Applied and Environmental Microbiology**, 80:829–840. <https://doi.org/10.1128/AEM.02894-13>

Poveda J, Hermosa R, Monte E, Nicolás C (2019) *Trichoderma harzianum* favours the access of arbuscular mycorrhizal fungi to non-host Brassicaceae roots and increases plant productivity. **Scientific Reports** 9:1-11. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-48269-z>

Quaggio JA, Zambrosi FCB, Cantarella H, de Godoy IJ, Crusciol CAC, Bolonhezi D (2022) Amendoim (*Arachis hypogaea*). In: Cantarella H, Quaggio JÁ, Mattos Jr D, Boaretto RM, Raj BV (Eds.) **Boletim 100: Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo**. Campinas: IAC, p. 243-244.

Rao VT, Venkanna V, Bhadraru D, Bharathi D (2014) Studies on Variability, Character Association and Path Analysis on Groundnut (*Arachis hypogaea* L.). **International Journal of Pure & Applied Bioscience**, 2:194-197.

R Core Team (2020). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. **R Foundation for Statistical Computing**. <https://www.R-project.org/>

Ribeiro IDA (2019) **Caracterização de bactérias promotoras do crescimento vegetal associadas à cultura da canola (*Brassica napus* L.)**. 82 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) – UFRGS, Porto Alegre.

Rosenberg E, DeLong EF, Lory S, Stackebrandt E, Thompson F (Eds.) (2014) The Prokaryotes, Alphaproteobacteria and Betaproteobacteria. 1012p.

Rosenblueth M, Martínez-Romero E (2006) Bacterial Endophytes and Their Interactions with Hosts. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, 19:827-837. <https://doi.org/10.1094/MPMI-19-0827>

Sampaio RM, Fredo CE (2021) Socioeconomic characteristics and Technologies in agriculture: A study of the peanut production in the state of São Paulo, Brazil, based on the 2016-17 Survey of Agricultural Production Units (LUPA). **Revista de Economia e Sociologia Rural**, 59:1-15. <https://doi.org/10.1590/1806-9479.2021.236538>

Sangoi L, Silva LMM, Mota MR, Panison F, Schmitt A, Souza NM, Giordani W, Schenatto DE (2015) Maize agronomic performance as affected by seed treatment with *Azospirillum* sp. and mineral nitrogen rates. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 39:1141-1150. <https://doi.org/10.1590/01000683rbcs20140736>

Santos ABR (2019) **Endofíticos em eucalipto: indução in vitro e mineração de dados moleculares**. 30 f. TCC (Bacharelado em Ciências Biológicas) – UFRN, Natal.

Santos DMS, Bush A, da Silva ER, Zuffo AM, Steiner F (2017) Bactérias fixadoras de nitrogênio e molibdênio no cultivo do amendoim em solo do Cerrado. **Revista de Agricultura Neotropical**, 4:84-92.

Santos RM, Desoignies N, Rigobelo EC (2022) The bacterial world inside the plant. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, 6:1-13. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2022.830198>

Saravanakumar K, Li Y, Yu C, Wang QQ, Wang M, Sun J, Gao JX, Chen J (2017) Effect of *Trichoderma harzianum* on maize rhizosphere microbiome and biocontrol of *Fusarium* Stalk. **Scientific Reports**, 7:1-13. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01680-w>

Silva DF, Pegoraro RF, Maia VM, Kondo MK, Souza GLOD, Mota MFC (2017) Ammonia volatilization of soil after doses of urea with urease and nitrification inhibitors in pineapple culture. **Revista CERES**, 64:327-335. <https://doi.org/10.1590/0034-737X201764030014>

Silva JM, Medeiros EV, Barros JA, Silva WM, Paiva AS, Bezerra CB (2013) Atividade da fosfatase ácida e alcalina, em solo misturado à resíduos agroindustriais. In: XIII Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão. **Resumos...** Recife: JEPEX, p. 1-3.

Silva LC, Rao TVR (2006) Evaluation of the methods of estimating the peanut crop coefficients. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 10:128-131.

Silva MEC, Rodrigues RB, Ulian AA (2021) Revisão das propriedades metabólicas do *Bacillus subtilis* e suas aplicações biotecnológicas favoráveis à biocenose. **Revista Multidisciplinar em Saúde**, 2(2), 01. <https://doi.org/10.51161/remss/1157>

Silva ORRF, Sofiatti V (2014) Mecanização. In.: Suassuna TMF (Ed.) **Sistema de Produção de Amendoim**. Brasília: Embrapa, versão eletrônica.

Silveira APD, Cipriano MAP, Abreu MF, Cantarella H, Zambrosi FCB (2022) **Protocolos para a determinação da atividade de enzimas em solos**. Campinas. (Série Manuais).

Singh RS, Singh T, Pandey A (2019) Microbial enzymes – an overview. **Advances in enzyme technology**, 1-40. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64114-4.00001-7>

Sobral JK, Marcon J, Lima AOS, Lacava PT (2014) Aspectos gerais de microrganismos endofíticos. In: Araujo WL, Quecine MC, Lacava PT, Aguiar-Vildoso CI, Marcon J, Lima AOS, Sobral JK, Pizzirani-Kleiner AA, Azevedo JL (Eds.) **Microrganismos endofíticos: aspectos teóricos e práticos de isolamento e caracterização**. Santarém: UFOPA, p.11.

Souchie EL, Azcón R, Barea JM, Saggin-Junior OJ, Silva EMR (2005) Phosphate solubilization in solid and liquid media by soil bacteria and fungi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 40:1149-1152. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2005001100015>

Spain A, Krumholz LR, Elshahed MS (2009) Abundance, composition, diversity and novelty of soil Proteobacteria. **The ISME Journal**, 3:992-1000.

Spolaor LT, Gonçalves LSA, dos Santos OJAP, de Oliveira ALM, Scapim CA, Bertagna FAB, Kuki MC (2016) Plant growth-promoting bacteria associated with nitrogen fertilization at topdressing in popcorn agronomic performance. **Bragantia**, 75:33-40. <https://doi.org/10.1590/1678-4499.330>

Suassuna TMF, Coutinho WM, Sofiatti V, Suassuna ND, Gondim TMS (2008) **Manual de boas práticas agrícolas para a produção do amendoim no nordeste do Brasil**. Campina Grande: Embrapa: MAPA, 28 p. (Embrapa-MAPA. Documentos, 207).

Taiz L, Zeiger E (Eds.) (2006) Fisiologia vegetal. Porto Alegre: Artmed, 719 p.

Tasca FA, Ernani PR, Rogeri DA, Gatiboni LC, Cassol PC (2011) Ammonia volatilization following soil application of conventional urea or urea with urease inhibitor. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 35:493-502. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832011000200018>

Torres FI, Bogas AC, de Andrade PHM, de Sousa CP, Lacava PT (2022) Bioprospection and biotechnological potential of endophytic fungi associated to plants of Brazilian savannah. **Revista Concilium**, 22:256-272. <https://doi.org/10.53660/CLM-114-133>

USDA – United States Department of Agriculture (2022). **World ranking of peanut-producing countries**.

Withers PJA, Rodrigues M, Soltangheisi A, Carvalho TS, Guilherme LRG, Benites VM, Gatiboni LC, Sousa DMG, Nunes RS, Rosolem CA, Andreote FD, Oliveira Jr A, Coutinho ELM, Pavinato OS (2018) Transitions to sustainable management of phosphorus in Brazilian agriculture. **Scientific Reports**, 8:1-13. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20887-z>

Zeffa DM, Perini LJ, Silva MB, de Souza NV, Scapim CA, Oliveira ALM, Amaral Júnior AT, Gonçalves LSA (2019) *Azospirillum brasilense* promotes increases in growth and nitrogen use efficiency of maize genotypes. **PLoS ONE** 14(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215332>