



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE DO PARANÁ
CAMPUS LUIZ MENEGHEL
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

GABRIEL FERREIRA DE PAULA

**RIZOBACTÉRIAS E PROTEÇÃO DE PLANTAS AO ESTRESSE
HÍDRICO**

BANDEIRANTES-PR

2021

RIZOBACTÉRIAS E PROTEÇÃO DE PLANTAS AO ESTRESSE HÍDRICO

Dissertação apresentada ao Programa de
Mestrado em Agronomia, da
Universidade Estadual do Norte do
Paraná, *Campus* Luiz Meneghel

Orientador: Prof. Dr. Leopoldo Sussumu
Matsumoto

BANDEIRANTES-PR

2021

**Ficha catalográfica elaborada pelo autor, através do
Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UENP**

De Paula, Gabriel Ferreira
DD278r Rizobactérias e Proteção de Plantas ao Estresse
Hídrico. / Gabriel Ferreira De Paula; orientador
Leopoldo Sussumu Matsumoto - Bandeirantes, 2021
42 p. :il.

Dissertação (Mestrado Acadêmico em Agronomia) -
Universidade Estadual do Norte do Paraná, Centro de
Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em
Agronomia, 2021.

1. Rizobactérias Promotoras de Crescimento de
Plantas. 2. Espécies reativas de Oxigênio. 3.
Enzimas antioxidantes 4. Seca. I. Matsumoto,
Leopoldo Sussumu, orient. II. Título

GABRIEL FERREIRA DE PAULA

RIZOBACTÉRIAS E PROTEÇÃO DE PLANTAS AO ESTRESSE HÍDRICO

Dissertação apresentada ao Programa de
Mestrado em Agronomia da Universidade
Estadual do Norte do Paraná, *Campus*
Luiz Meneghel.

Aprovada em: 26 / 02 /2021

COMISSÃO EXAMINADORA

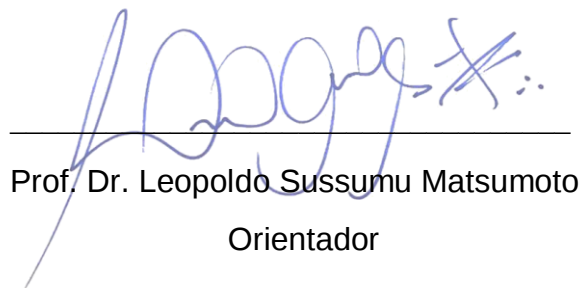
Prof. Dr. Leopoldo Sussumu Matsumoto

Prof. Dr. André Luiz Martinez de Oliveira

Prof. Dr. Fabio Rodrigues Ferreira Seiva

Prof^a. Dr^a. Adriana Pereira da Silva

Prof. Dr. Oriel Tiago Kölln



Prof. Dr. Leopoldo Sussumu Matsumoto
Orientador

Lista de Figuras

Figura 1	Efeito do <i>déficit</i> hídrico em parâmetros morfológicos, fisiológicos e bioquímicos da planta (ZIA et al., 2020)	11
Figura 2	Diagrama esquemático retratando os efeitos de diversos estresses abióticos nas plantas e os papéis das RPCPs no alívio do estresse (GOSWAMI e DEKA, 2020)	13
Figura 3	MDA nas plantas: Dano ou proteção? O equilíbrio entre a produção, eliminação e sinalização de MDA é uma característica importante do sistema redox e pode determinar a sobrevivência da planta (MORALES e MUNNÉ-BOSCH, 2020)	15
Figura 4	Atividade da superóxido dismutase (SOD) em plantas de soja submetidas a diferentes condições hídricas	23
Figura 5	Atividade de catalase (CAT) em plantas de soja submetidas à diferentes condições hídricas	25
Figura 6	Atividade da guaiacol peroxidase em plantas de soja submetidas à diferentes condições hídricas	27
Figura 7	Teor de malondialdeído (MDA) em plantas de soja submetidas à diferentes condições hídricas	28
Figura 8	Análise de componentes principais (APC) da atividade de enzimas oxidantes sob condição pré-estresse hídrico (NSTR)	29
Figura 9	Análise de componentes principais (APC) da atividade de enzimas oxidantes sob condição de estresse hídrico (STR2)	29
Figura 10	Análise de componentes principais (APC) da atividade de enzimas oxidantes sob condição de reidratação pós-estresse (RECP)	30
Figura 11	Teor de clorofila A em plantas de soja submetidas à diferentes condições hídricas	31
Figura 12	Teor de clorofila B em plantas de soja submetidas à diferentes condições hídricas	32
Figura 13	Conteúdo de água nas folhas (CAF) em plantas de soja submetidas a diferentes condições hídricas	33
Figura 14	Análise de componentes principais (APC) dos teores de clorofila A e B, conteúdo de água na folha e peso fresco da folha (PFF), sob diferentes condições, normal [NSTR] (A), estresse hídrico [STR2] (B) e reidratação [RECP] (C)	34

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	8
1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	18
3.1 Estresse Hídrico	19
3.2 Preparo das amostras e obtenção do extrato enzimático e proteína total ..	19
3.3 Quantificação da atividade de enzimas antioxidantes	20
3.3.1 Catalase (CAT).....	20
3.3.2 Superóxido Dismutase (SOD).....	20
3.3.3 Guaiacol Peroxidase (GPX).....	21
3.4 Peroxidação de Lipídios (MDA)	21
3.5 Determinação dos teores de clorofila A e B.....	21
3.6 Conteúdo de Água nas Folhas.....	22
3.7 Análise Estatística.....	22
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
4.1 Atividade de enzimas antioxidantes	23
4.2 Teores de Clorofila A e B e conteúdo de água nas folhas	30
5 CONCLUSÃO	35
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente ao meu pai e à minha família por todo apoio e estrutura que me ofereceram para que eu conseguisse superar todos os obstáculos, assim como ao meu orientador, Prof. Leopoldo Sussumu Matsumo, que acreditou em mim e me capacitou da melhor forma.

Ao Prof. Leopoldo e ao Prof. Gilberto Demétrio, um agradecimento especial por todos os conselhos que contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional. Mesmo em momentos difíceis nunca deixaram de acreditar em mim.

À toda equipe do Laboratório de Microbiologia do Solo – LabMicroS, meu sincero obrigado. Todos os momentos de alegria e tristeza vieram para fortalecer o sentimento de amizade que foi criado ao longo dos anos de trabalho pois, a glória da amizade não é a mão estendida, nem o sorriso carinhoso, nem mesmo a delícia da companhia, mas sim, a inspiração espiritual que vem quando você sabe que alguém acredita e confia em você.

Por fim, agradeço à UENP e a todos que fizeram parte dessa jornada.

DE PAULA, Gabriel Ferreira. **Rizobactérias e proteção de plantas ao estresse hídrico**. 2021. Dissertação de mestrado em agronomia - Universidade estadual do norte do paraná, *campus* Luiz Meneghel, Bandeirantes, 2021.

RESUMO

Diferentes condições climáticas levam ao acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs) nas plantas, como a seca por exemplo, induzindo estresse oxidativo, podendo gerar sérios danos às organelas, assim como a morte vegetal. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCPs) são microrganismos que atuam na rizosfera da planta fornecendo suporte ao seu desenvolvimento de forma direta e indireta, além de induzir respostas fisiológicas, como a ativação do sistema de defesa antioxidante vegetal. Dessa forma, o objetivo do trabalho foi avaliar 4 cepas de RPCPs em relação à sua capacidade em mitigar o estresse oxidativo gerado pelo estresse hídrico em plantas de Soja. Foram quantificadas as atividades de superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), guaiacol peroxidase (GPX), teor de malondialdeído (MDA), clorofila A e B e conteúdo de água nas folhas (CAF) de plantas de soja hidratadas, em estresse hídrico severo e reidratadas, cultivadas em condição de casa de vegetação. Os resultados apontam que as plantas inoculadas com RPCPs, apresentaram aumento na atividade de enzimas antioxidantes, nos teores de clorofila A e B, e mantendo o conteúdo relativo de água nas folhas, comparado ao controle, indicando proteção contra o estresse hídrico. Dessa forma, pode-se concluir que a utilização dos isolados de RPCPs analisados no presente trabalho, pode ser uma alternativa sustentável para aliviar o estresse oxidativo gerado pelo déficit hídrico.

Palavras-chave: Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas; Espécies Reativas de Oxigênio; Enzimas Antioxidantes; Seca;

DE PAULA, Gabriel Ferreira. **Rhizobacteria and Plant Protection to Drought Stress**. 2021. Master Dissertation in Agronomy – State University of Northern Paraná, *Campus Luiz Meneghel*, Bandeirantes, 2021.

ABSTRACT

Different extreme climatic conditions lead to the accumulation of Reactive Oxygen Species (ROS) in plants, such as drought, inducing oxidative stress, which can cause serious damage to organelles, as well as plant death. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) are microorganisms that act in plant's rhizosphere providing support for its development in a direct and indirect way, in addition to inducing physiological responses, such as the activation of the plant antioxidant defense system. Thus, the objective of the work was to evaluate 4 strains of PGPR in view of their ability to mitigate the oxidative stress generated by drought in soybean plants. The activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), guaiacol peroxidase (GPX), malondialdehyde (MDA), chlorophyll A and B, and leaf water content of plants in normal water condition, under moderate drought stress, severe drought stress and post-stress rehydration situation, grown under greenhouse conditions, were quantified. The results indicate that plants inoculated with PGPR showed an increase in the activity of antioxidant enzymes, levels of chlorophyll A and B and leaf water content, in addition to a reduction in MDA levels compared to the control, indicating less lipid peroxidation. In this sense, it can be conclude that the use of isolates of PGPR analyzed in this work, can be a sustainable alternative to alleviate the oxidative stress induced by the water deficit.

Keywords: Plant Growth Promoting Rhizobacteria; Antioxidant Enzymes; Reactive Oxygen Species; Drought

1 INTRODUÇÃO

O surgimento de condições aeróbicas forneceu aos organismos a oportunidade de utilizar o oxigênio como aceptor de elétrons, enquanto aproveitam as suas propriedades reativas para seu metabolismo e sinalização. Dessa forma, é inevitável que a evolução em um ambiente oxigenado necessitaria de uma integração dos processos oxidativos com a detecção e sinalização de espécies reativas de oxigênio (EROs) em seu desenvolvimento (HUANG et al., 2019).

O oxigênio molecular em seu estado normal é não reativo porém, a exposição às condições adversas, pode induzir a produção de EROs, como superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radicais hidroxilas (OH^-) e oxigênio singlet (1O_2). Diferentes tipos de EROs em concentrações altas apresenta ameaça à célula por causar peroxidação lipídica, vazamento de eletrólitos, oxidação de proteínas, danos em ácidos nucleicos, inibição de enzimas, e até mesmo à morte celular (ORABI e ABOU-HUSSEIN, 2019).

Para se protegerem contra essas moléculas tóxicas, as plantas desenvolveram um sistema de defesa antioxidante, classificado como não enzimático e enzimático. Os sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos compreendem superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX), catalase (CAT), guaiacol peroxidase (GPX), peroxirredoxina (PrxR), ascorbato (AsA) e glutathione (GSH) (CAVERZAN et al., 2012; GIL e TUTEJA, 2010).

A seca é o principal estresse abiótico que afeta negativamente tanto a produção quanto o desenvolvimento da cultura, podendo induzir diretamente uma ampla gama de injúrias nas plantas, como a inibição da fotossíntese, aumento no estresse oxidativo e alterações no metabolismo vegetal (DU et al., 2020). De acordo com BARNAWAL et al. (2019), é esperado que a falta de água cause sérios problemas no desenvolvimento das culturas em mais de 50% das áreas agriculturáveis até 2050. Levando em consideração o aumento populacional, é necessário garantir aumento da demanda e segurança alimentar.

A soja [*Glycine max* (L.) Merril.] é uma das cultivares mais importantes do mundo, principalmente devido ao seu alto teor de proteína (36 – 40%) e teor

de óleo (18 – 20%) encontrado na semente, além da sua capacidade de realizar simbiose com bactérias do solo que fixam o nitrogênio atmosférico (HUNGRIA e MENDES, 2015). Para a safra 2020/21, espera-se um incremento de 3,4% da área plantada comparado com a safra anterior, atingindo 38,2 milhões de hectares, e um aumento de produtividade de 4,4%, representando um volume de 133,67 milhões de toneladas (CONAB, 2021).

As interações entre microrganismos e plantas constituem um mecanismo vital a saúde e o crescimento vegetal. Considerando que as plantas estão constantemente associadas à microrganismos presentes no solo, os mecanismos que favorecem a adaptação das plantas à diferentes condições abióticas podem estar sendo induzidos por interações entre rizobactérias e plantas. Dentre os microrganismos, os que mais se destacam para a agricultura são as rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCPs), que favorecem o crescimento vegetal (SARKAR et al., 2017).

Recentemente, a aplicação de microrganismos benéficos que mediam tolerância a seca e aprimoram a eficiência da utilização de água das plantas tem se tornado foco de atenção. A utilização desses organismos é considerada uma abordagem biológica sinérgica sustentável para o manejo da deficiência de água na produção agrícola, pois promove a melhoria da produtividade da cultura e mitiga o estresse biótico e abiótico através de uma gama de mecanismos (JOCHUM et al., 2019).

Plantas de soja associadas à RPCPs isoladas de biofertilizante e solo aplicado com adubo biológico apresentam maior tolerância ao déficit hídrico por sinalizar para a ativação do sistema de defesa antioxidante, que através da indução de mecanismos fisiológicos, a perda de água é reduzido. Dessa maneira, o objetivo do trabalho foi avaliar 4 isolados de RPCPs frente a sua capacidade em mitigar o estresse oxidativo gerado pelo estresse hídrico em plantas de soja.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Condições bióticas e abióticas como infecção por patógenos e ataque de herbívoros, seca, temperatura, deficiência de nutrientes, excesso de sal ou metais pesados como alumínio, afetam diretamente o desenvolvimento das plantas. Tais fatores ambientais comprometem sua distribuição na natureza, além de limitar a produtividade na agricultura, ameaçando a segurança dos alimentos (ZHU, 2016).

Essas condições extremas de alterações climáticas podem induzir estresse oxidativo, responsáveis por causar danos severos em estruturas celulares e até a morte celular, sendo a seca uma das principais e imprevisíveis ameaças, com efeitos adversos nas plantas. (Figura 1)

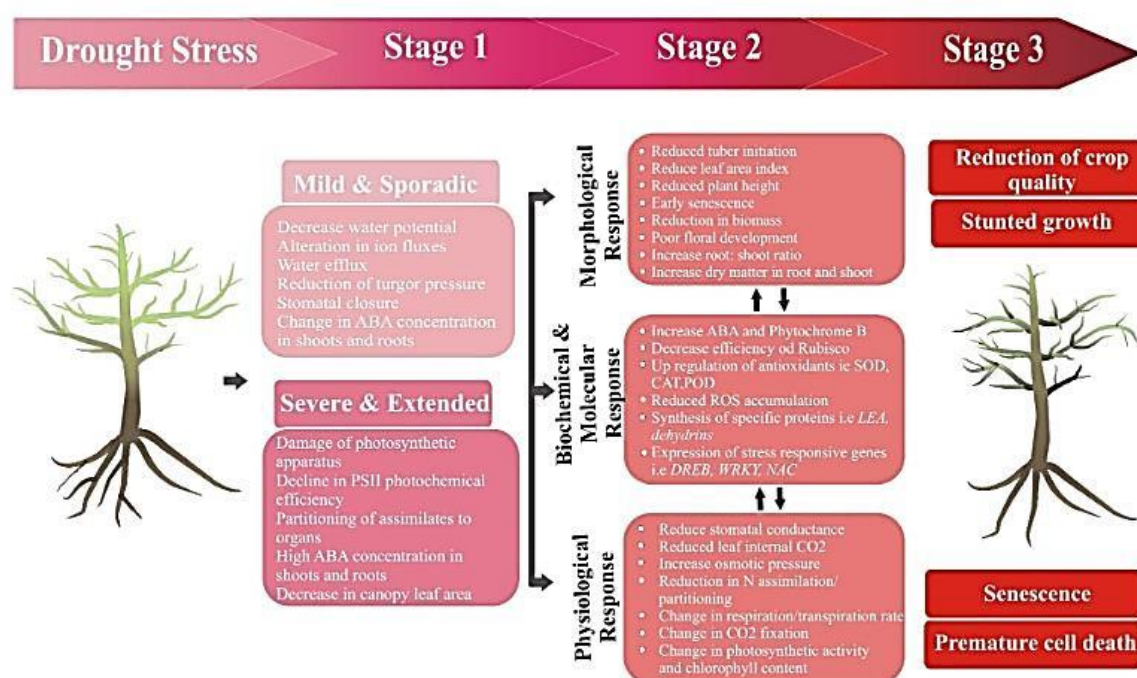


Figura 1 – Efeito do déficit hídrico no funcionamento morfológico, fisiológico e bioquímico da planta (ZIA et al., 2020).

A seca pode reduzir a produtividade e o rendimento das culturas, levando os agricultores a diminuir sua renda. Uma redução de 40% na produtividade do milho e 21% do trigo foi observada quando a disponibilidade de água é reduzida a aproximadamente 40% (DARYANTO et al., 2016). Diversos estudos independentes demonstraram os efeitos do aumento da temperatura e do déficit hídrico nas produções agrícolas. Entre 1980 e 2016, a

maioria dos desastres que ocorreram nos Estados Unidos, por exemplo, excedendo bilhões de dólares por ano, indicam que quando a seca e o calor são combinados, podem causar perdas agrícolas de mais de 200 bilhões de dólares (NOAA, 2020).

A soja é uma *commodity* agrícola amplamente consumida de várias formas em todo o mundo, tal como em forma de grão, óleo ou farelo. Entretanto, apenas 6% da produção mundial total de soja é utilizada na forma de grãos enquanto que os outros 94% é triturado, podendo ser utilizada de forma industrial (biodiesel ou óleo comestível) ou para a produção de produtos alimentícios. (leite de soja, ração animal, etc.) (JIA et al. 2020).

A soja é cultivada por milhares de anos e com o avanço da população mundial, seu cultivo se expandiu. Nos últimos 50 anos, a produção de soja cresceu de 27 para 269 milhões de toneladas. A América do Sul se destaca por ser o continente que mais expandiu sua produção, apresentando um aumento de 123% entre os anos 1996 e 2004. Além disso, a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO) sugere que a produção de soja pode duplicar em 2050 (WWF, 2014).

Plantas estão em constante relação simbiótica com microrganismos presentes no solo (bactérias e fungos) durante seu crescimento e desenvolvimento. Os microrganismos simbióticos habitam a rizosfera de várias espécies de plantas e possuem diversos efeitos benéficos em sua planta hospedeira. Esses microrganismos incluem as rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCP) (RAZA et al., 2016).

A rizosfera é um *habitat* mutável, podendo ser influenciada pelo ciclo vegetativo da planta em relação a sua composição e estrutura (NIELSEN e ELSAS, 2001). A presença das raízes e as modificações físicas e químicas que elas produzem criam um ecossistema especializado, onde o crescimento das populações microbianas pode ser beneficiado ou inibido. Assim, o número de microrganismos de diversas espécies na rizosfera geralmente é maior que no solo livre. (CARDOSO e FREITAS, 1992)

As Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (RPCPs) se destacam por serem capazes de fornecer maior assimilação dos nutrientes pela planta, produzirem hormônios que influenciam positivamente o crescimento e o desenvolvimento vegetal, além de produzirem substâncias

antibióticas que controlam a incidência de fitopatógenos no solo, evitando a contaminação da planta. Essas características tornam sua utilização, uma alternativa eficaz na substituição de produtos químicos que causam desequilíbrio na microbiota do solo. (PRASAD et al., 2019).

Por estarem evolutivamente associados às plantas, tais microrganismos possuem mecanismos capazes de fornecer ao vegetal suporte à diversas condições ambientais desfavoráveis, minimizando a perda na produtividade e danos severos no vegetal (BARNAWAL et al., 2019). (Figura 2)

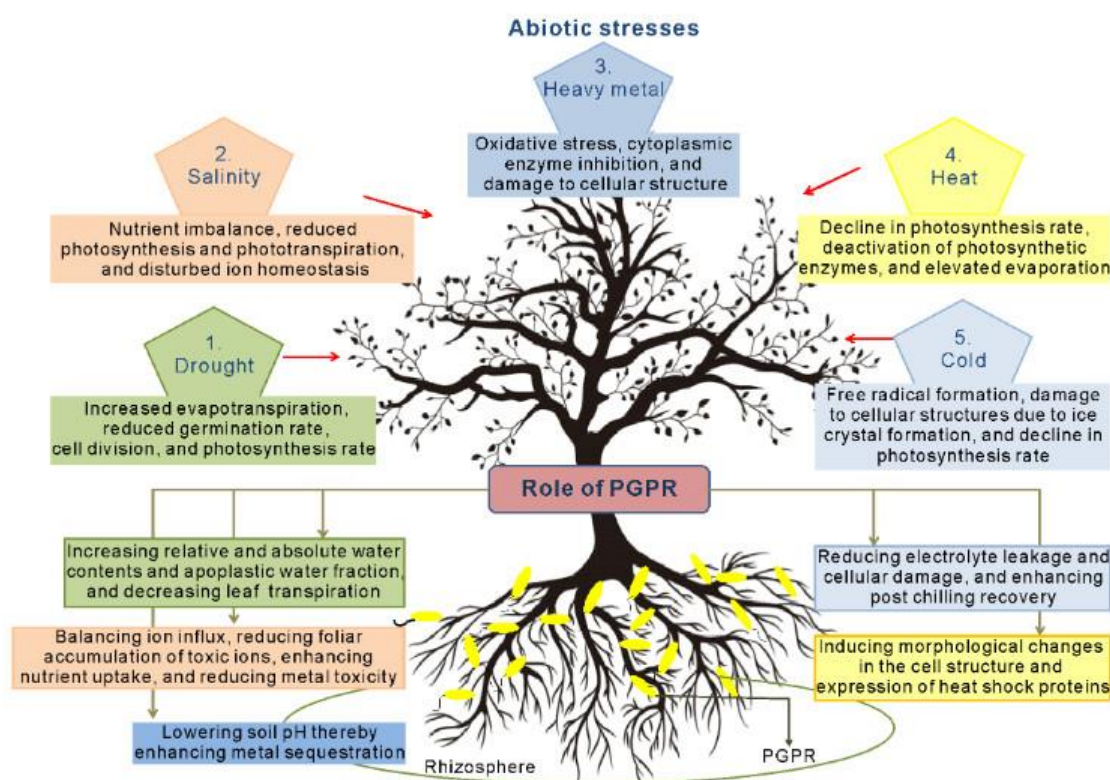


Figura 2 – Diagrama esquemática retratando os efeitos de diversos estresses abióticos nas plantas e os papéis das RPCPs no alívio do estresse (GOSWAMI e DEKA, 2020).

O uso de RPCPs na manutenção de efeitos abióticos foi demonstrado por Baharlouel et al., (2011), tais como *Pseudomonas putida* e *Pseudomonas fluorescens* que neutralizam os efeitos tóxicos da poluição por cádmio em cevada a partir de sua capacidade de eliminar íons de cádmio do solo. Além disso Sarma e Saikia, (2014), demonstraram que cepas de *Pseudomonas aeruginosa* induziram o crescimento de *Vigna radiata* (feijão-da-china) sob condições de seca. Marulanda et al., (2010), demonstrou que *Bacillus*

megatertum inoculado em raízes de milho aumentou sua capacidade de absorver água sobre condições de salinidade.

RPCPs estão envolvidas em uma série de atividades bióticas no ecossistema do solo favorecendo a dinâmica do solo e produção agrícola sustentável, através da colonização do sistema radicular das plantas induzindo o crescimento por diferentes mecanismos como solubilização de fosfato, fixação de nitrogênio, produção de ácido indol acético (AIA), produção de sideróforos, além da degradação de poluentes ambientais, atividade de destoxificação de metais pesados, tolerância ao estresse abiótico e controle biológico de insetos e fitopatógenos (GOUDA et al., 2018).

Quando as plantas são induzidas à condições de estresse, ocorre o acúmulos de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs), que abrangem formas parcialmente excitadas ou reduzidas de oxigênio atmosférico (MITTLER, 2017). Essas moléculas promovem a oxidação de componentes celulares ocasionando estresse oxidativo, que diz respeito ao estado fisiológico (ou condição fisiológica) na qual a perda de elétrons (oxidação) excede o ganho de elétrons (redução), induzindo dano químico (oxidativo) aos componentes celulares (DEMIDCHIK, 2015).

Apesar de EROs fazer parte da vida aeróbica e desempenhar um importante papel na resistência ao estresse e na regulação do desenvolvimento vegetal desde sua germinação até a senescência, ainda são consideradas moléculas perigosas devido a sua alta reatividade, podendo levar à peroxidação de lipídios que por sua vez, gera subprodutos, como Malondialdeído (MDA). Os níveis de MDA podem indicar dano ou sinalização (MORALES e MUNNÉ-BOSCH, 2020). (Figura 3)

A produção de EROs ativa mecanismos específicos nas plantas que envolvem a síntese de enzimas antioxidantes encarregadas de eliminar essas moléculas (CAVERZAN, 2016), podendo ocorrer em diversas fontes na célula vegetal, sendo a maior parte produzida pelo cloroplasto, mitocôndria, peroxissomos e apoplastos. Essas moléculas podem ser encontradas em diferentes formas como O_2^- , H_2O_2 , OH^- , 1O_2 e estão relacionadas com a regulação do desenvolvimento, diferenciação, níveis redox, sinalização de estresse, interações com outros organismos, respostas sistêmicas e morte celular em plantas superiores (CHOUDHURY et al., 2017; MITTLER, 2017).

Assim, EROs estão relacionadas à capacidade de sinalização vegetal, regulando o crescimento normal da planta e sua resposta ao estresse. Isso sugere que essas moléculas desempenham um papel duplo *in vivo* de acordo com seu nível de reatividade, sítio de produção e potencial de atravessar membranas celulares. Em contra partida, por serem moléculas reativas, EROs podem oxidar componentes celulares e impedir que desempenhem suas funções originais (HUANG et al., 2019).

O radical superóxido (O_2^-) é formado principalmente no fotossistema I (FS1) localizado nos tilacóides durante a fase não-cíclica da cadeia transportadora de elétrons (CTE). Normalmente, H_2O é formado quando a citocromo c oxidase interage com o O_2 , porém, ocasionalmente, O_2 reage com diferentes componentes da CTE dando origem ao O_2^- , sendo usualmente o primeiro EROs a ser formado (DAS e ROYCHOUDHURY, 2014).

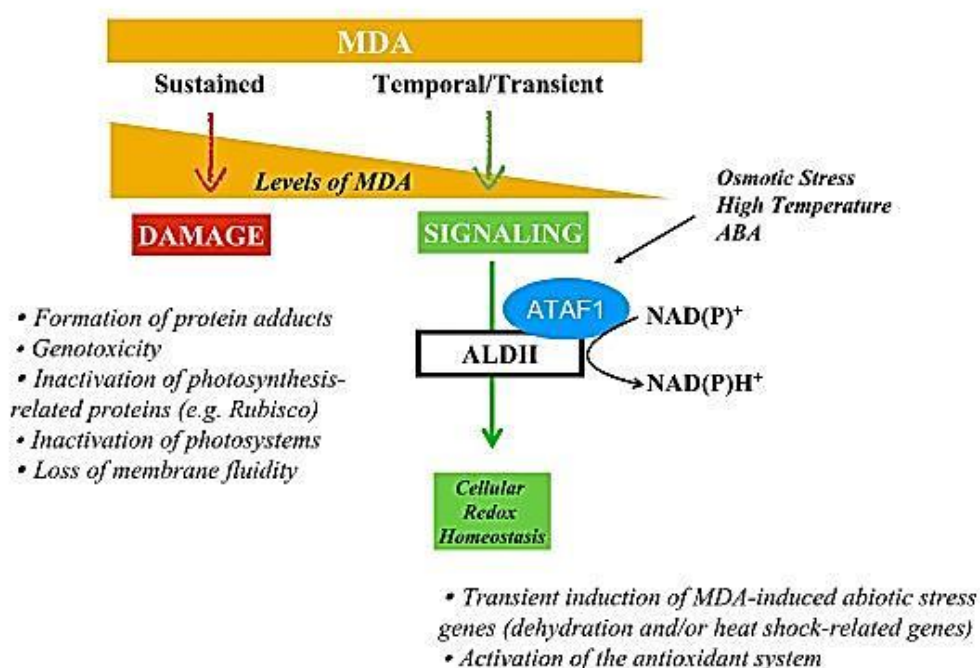


Figura 3 – MDA nas plantas: Dano ou proteção? O equilíbrio entre a produção, eliminação e sinalização de MDA é uma característica importante do sistema redox e pode determinar a sobrevivência da planta (MORALES e MUNNÉ-BOSCH, 2020)

Peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é um dos principais membros da família das EROs. As fontes mais comuns de produção de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) nas células das plantas incluem a cadeia transportadora de elétrons nos

cloroplastos, mitocôndria, retículo endoplasmático, membrana celular, β -oxidação de ácidos graxos e fotorrespiração. Formada quando o O_2^- sofre redução ou protonação, pode ocorrer de forma não enzimática pela dismutação à H_2O_2 sob condições de baixo pH ou por reações catalisadas pela superóxido dismutase (SOD) (SHARMA et al., 2012).

As formas mais reativas e mais tóxicas de ROS são as radicais hidroxilas (OH^-). Esses radicais são gerados em condições de pH neutro pela reação de Fenton entre o H_2O_2 e O_2^- na qual é catalisada pela transição de metais como o Fe (Fe^{2+} , Fe^{3+}). Por ser a forma mais reativa e tóxica de ROS, tais moléculas possuem a capacidade de causar danos em diferentes componentes celulares através da peroxidação de lipídios (LPO), danos em proteínas e destruição de membranas (PINTO et al., 2003).

Condições ambientais como salinidade, seca ou acúmulo de metais pesados leva ao fechamento dos estômatos, o que gera concentrações insuficientes de CO_2 intracelular. Isso possibilita a formação de oxigênio singleto (1O_2), uma molécula atípica de ROS que surge não pela transferência de elétrons para o O_2 , mas sim pela reação da clorofila. Oxigênio singleto pode causar danos nos fotossistemas 1 (FS1) e fotossistema 2 (FS2) colocando todo o sistema fotossintético das plantas em perigo (HATZ et al., 2007).

Mecanismos enzimáticos e não-enzimáticos desenvolvidos pelas plantas são capazes de minimizar os danos causados pelos ROS. Tais mecanismos envolvem a produção de enzimas antioxidantes como superóxido dismutase (SOD), catalase e peroxidase, além da produção de ácido ascórbico, glutathione, carotenóis e α -tocoferil, que evitam a produção de ROS (SEWELAM, 2016).

Superóxido dismutase (SOD) pertence a um grupo de metaloenzimas unipresentes em todos os organismos. Sob condições de estresse, SOD forma a linha frontal de defesa contra os danos causados por ROS. Essa enzima catalisa a dismutação do O_2^- em O_2 e H_2O_2 , evitando a formação de radicais hidroxilas pela reação de Haber-Weiss. SODs são classificadas em 3 isoenzimas baseado no íon metal ligados a ela, sendo Mn-SOD (mitocôndria), Fe-SOD (cloroplastos) e Cu/Zn-SOD (citosol, peroxissomos e cloroplastos) (MITTLER, 2017).

A catalase (CAT) é responsável por catalisar a dismutação de H_2O_2 em H_2O e O_2 . Apesar de sua alta afinidade por H_2O_2 , possui menor especificidade com peróxidos orgânicos. Podendo ser encontrado no citosol, cloroplastos e mitocôndria. Angiospermas possuem 3 tipos de genes codificadores de CAT. CAT1 é expresso em grãos de pólen e sementes, CAT2 é predominantemente expressado em tecidos fotossintéticos, assim como sementes e raízes e CAT3 é expressado nas folhas e tecidos vasculares (MHAMDI et al., 2010).

Enquanto CAT predominantemente elimina moléculas de H_2O_2 nos peroxissomos, a ascorbato peroxidase (APX), componente integral do ciclo Ascorbato-Glutationa, realiza a mesma função no citosol e cloroplastos. APX reduz H_2O_2 em H_2O e DHA, utilizando o ácido ascórbico (AA) como agente redutor. Essa classe de enzima compreende 5 isoformas baseadas na localização da cadeia de aminoácido, sendo então, citosólica, mitocondrial, peroxissomal, estromal ou tilacoidal (SHARMA; DUBEY, 2004).

O guaiacol peroxidase (GPX) enzima encarregada de eliminar H_2O_2 durante condições normais de metabolismo e condições de estresses apresenta importante papel na biossíntese de lignina além da defesa contra estresse biótico causado pela degradação de ácido indol-acético (AIA). Por ser uma molécula ativa intracelularmente (citosol e vacúolo), na parede celular e extracelularmente, é considerada a principal enzima relacionada na remoção de H_2O_2 (DAS; ROYCHOUDHURY, 2014).

Os antioxidantes não enzimáticos formam a outra metade da maquinaria antioxidante, compreendendo o AsA, GSH, α -tocopherol, carotenoides, fenóis, flavonoides, entre outros. Eles não somente protegem os diferentes componentes celulares de danos sofridos pelo estresse oxidativo, como também estão relacionados ao desenvolvimento celular por liderarem processos como mitose, alongamento celular, senescência e morte celular (DE PINTO e DE GARA, 2004).

O ácido ascórbico engloba o mais abundante e mais estudado componente antioxidante. Seus efeitos são dados pela sua capacidade de doar elétrons para um grande raio de reações enzimáticas e não enzimáticas. 90% do AsA puro é encontrado não apenas no citosol, mas também no apoplasto, na qual lidera a primeira linha de defesa contra o ataque de ROS (BARNES et al., 2002).

A glutathiona é um tripeptídeo de baixo peso molecular abundantemente encontrada em quase todos os compartimentos celulares como o citosol, retículo endoplasmático, mitocôndria, cloroplastos, vacúolos, peroxissomos e até mesmo no apoplasto. Essa molécula participa de uma série de processos celulares como diferenciação, crescimento/divisão celular, morte celular e senescência, destoxificação de xenobióticos, conjugação de metabolitos, regulação da atividade enzimática, síntese de proteínas e nucleotídeos e finalmente responsável pela expressão de genes relacionados ao estresse (MULLINEAUX e RAUSCH, 2005).

Considerando o alto impacto das RPCP em termos de biofertilização, biocontrole, e bioremediação, todos exercendo papel positivo influenciando na produtividade da cultura e funcionalidade do ecossistema, a implementação na agricultura deve ser levada em consideração. (VEJAN et al., 2016). A implementação de ferramentas modernas e técnicas que estimulem o crescimento de RPCP podem servir como chave para uma agricultura sustentável, a partir da melhora da qualidade do solo, tolerância das plantas a diversas condições, aumento da produção e por manterem um ciclo balanceado de nutrientes (GOUDA et al., 2018).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Caracterização do experimento e delineamento experimental

O experimento foi conduzido na Universidade Estadual do Norte do Paraná – UENP *campus* Luiz Meneguel, na cidade de Bandeirantes – PR (50°29'44,09" – 50°09'42,56" W e 23°17'5,10" – 23°00'58,40" S), clima Cfa Köppen e Geiger) subtropical úmido. O solo utilizado no presente trabalho é classificado como LATOSSOLO VERMELHO Eutroférico (EMBRAPA, 2006).

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, tendo como tratamento a inoculação de quatro isolados de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e um grupo controle (sem inoculação), com 5 repetições por tratamento, totalizando 25 vasos. O experimento foi conduzido em vasos de 9 kg padronizados de acordo com a capacidade de retenção de

água no solo durante o período de 31/12/2019 à 09/03/2020. Foram semeadas sementes de soja (*Glycine max*) var. BRS 543 RR.

A inoculação das RPCPs foi realizada no dia 14/02/2020 durante estágio de desenvolvimento V3 das plantas, sendo aplicado 50 mL da suspensão de rizobactérias, utilizando uma proveta de 50 mL. Para medir a concentração, foi utilizado espectrofotômetro, em um comprimento de onda de 540 nm até alcançar o comprimento de onda equivalente à 10^9 Unidades Formadoras de Colônia (UFC mL⁻¹).

3.1 Estresse Hídrico

Os vasos foram mantidos em 60% da capacidade de retenção de água do solo durante todo o experimento e no dia 09/03/2020, quando as plantas se encontravam em estágio V6 foram coletados os primeiros materiais foliares.

A partir da primeira coleta, as plantas foram induzidas a estresse hídrico, e quando se encontravam próximas ao ponto de murcha permanente, as amostras foram coletadas (STR2).

Após ser retirado material foliar para análise no estágio de STR2, as plantas foram reidratadas e, no dia seguinte, aproximadamente 14 horas depois, foram coletados os materiais foliares para avaliar a resposta fisiológica no estágio de reidratação pós-estresse.

As amostras foram levadas ao Laboratório de Bioquímica da Universidade Estadual do Norte do Paraná para a quantificação de atividade enzimática presente nos diferentes estágios de estresse em que as plantas foram submetidas.

3.2 Preparo das amostras e obtenção do extrato enzimático e proteína total

As amostras foliares foram trituradas em Nitrogênio líquido com o auxílio de mortar e cadinho. Foram adicionados às amostras solução tampão em uma proporção de 500 mg de tecido foliar para 2 mL de solução e 200 mg de polivinilpirrolidona (PVPP). Os tubos foram centrifugados a 10.000 rpm, a 4° C, durante 30 minutos com auxílio de uma centrífuga refrigerada. O sobrenadante

foi coletado e armazenado em eppendorfs em um freezer a -20°C . As amostras foram preparadas em duplicatas.

Para a determinação de proteína total foi utilizado o método de Lowry (LOWRY et al. 1951) tendo albumina bovina como padrão.

3.3 Quantificação da atividade de enzimas antioxidantes

3.3.1 Catalase (CAT)

A atividade de catalase foi realizada de acordo com o método de degradação do H_2O_2 proposto por Beers e Sizer (1952). 50 μL da mistura de trabalho foi adicionado em 950 μL de solução tampão 50 mM pH 7.4, suplementado com 12.5 mM de H_2O_2 (96.8 μL de H_2O_2 30% em 100 mL de tampão). O volume final foi homogeneizado em vortex e sua absorbância foi medida em um intervalo de 3 min. O resultado foi expresso em $\mu\text{mol}/\text{mg}$ proteína min^{-1} .

3.3.2 Superóxido Dismutase (SOD)

SOD foi mensurada de acordo com o método proposto por Qiu-Fang et al. (2005). A redução fotoquímica do nitro blue tretazolio (NBT) é inibida e o nível de inibição é utilizado para quantificar sua atividade. A mistura de trabalho continha 600 μL de fosfato de potássio tampão 125 mM (pH 7.8) suplementado com 3 mM de MgSO_4 , EDTA 3.1 mM e PVPP 2%. A mistura foi completada para um volume de 1 mL com 100 μL de Metionina 130 mM, 100 μL de riboflavina 600 μM , 100 μL de NBT 22.5 mM e 100 μL do extrato enzimático.

A mistura de reação foi incubada em uma caixa de papelão revestida com papel alumínio e iluminada com uma lampada fluorescente 15W pelo período de 15 min. Um controle foi preparado sem o extrato enzimático, substituído por um volume equivalente de tampão. As amostras foram medidas por espectrofotometria a uma absorbância de 560 nm.

3.3.3 Guaiacol Peroxidase (GPX)

A atividade de GPX foi estimada de acordo com Roy et al. (1996). A mistura de reação consistia em 100 µL do extrato enzimático, 100 µL guaiacol 34 mM, 100 µL de H₂O₂ (100 mM), 100 µL de EDTA 1 mM e completada até um volume final de 1 mL com fosfato de potássio tampão pH 7.0. As amostras foram medidas por espectrofotometria a uma absorvância de 470 nm.

3.4 Peroxidação de Lipídios (MDA)

A peroxidação de lipídios foi determinada pelo método Ácido tiobarbitúrico (TBA) - Ácido tricloroacético (TCA) proposto por Buege e Aust (1978). O Malondialdeído (MDA) ao reagir com TBA forma o complexo MDA-TBA conhecido como substâncias reativas de TBA (TBARS). 200 mg de material foliar foi masserado em nitrogênio líquido e homogeneizado em 2 mL de solução contendo TCA 0,1% enriquecido com PVPP 4%. A mistura foi centrifugada por 10000rpm a 4 °C por 12 minutos. 250 µL do sobrenadante foi adicionado em 1 mL de solução TCA 20% + TBA 0,5%. As amostras foram aquecidas a 95 °C por 30 minutos, resfriadas rapidamente por 10 minutos, centrifugadas novamente a 10000rpm a 4 °C por 10 minutos e medidas por espectrofotometria a uma absorvância de 535 nm e 600 nm.

3.5 Determinação dos teores de clorofila A e B

A determinação dos teores de Clorofila foi realizada de acordo com Godoi e Basumatary (2018). 2 pedaços de 2,5 x 2,5 cm da folha foram cortados, pesados e adicionados a tubos Falcon contendo 10 mL de acetona 80%. As amostras foram armazenadas por 24 horas a uma temperatura de 4 °C e a absorvância foi medida por espectrofotometria a 645 nm e 663 nm. Um branco foi preparado sem amostra foliar. Os teores de Clorofila A e B foram calculados aplicando as seguintes formulas.

Clorofila A:

$$mg^{clorofila(A)} / g^{tecido} = \frac{12.7(A_{663}) - 2.69(A_{645}) \times V}{1000 \times W}$$

Clorofila B:

$$mg^{clorofila(B)}/g^{tecido} = \frac{22.9(A_{645}) - 4.68(A_{663}) \times V}{1000 \times W}$$

Na qual, A = Absorbância em comprimento de onda específico; V = Volume final de extrato de clorofila em acetona 80%; W = Peso fresco do pedaço de tecido extraído.

3.6 Conteúdo de Água nas Folhas

Foi retirada 1 folha de cada planta, nas diferentes condições analisadas no experimento e pesadas para obtenção da massa fresca da folha (MFF). Após pesadas, foram armazenadas em envelope e inseridas em uma estufa de circulação forçada a 60 °C, para obtenção da massa seca da folha (MSF). Após a obtenção da massa seca, foi utilizada a fórmula: $MFF - MSF = CAF$, para quantificar o Conteúdo de Água da Folha (CAF).

3.7 Análise Estatística

Os resultados foram submetidos a Análise de Variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, com o auxílio do Software SISVAR (FERREIRA, 2019).

Os dados de atividade de enzimas antioxidantes, teores de clorofila A, B e conteúdo de água nas plantas foram correlacionados com os tratamentos e as condições através da Análise de Componentes Principais (ACP) utilizando o software Rstudio, versão 1.3.1056 (RSTUDIO, 2016), com auxílio dos packages FactoMineR, factoextra, ggplot2, corrplot e ggrepel.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Atividade de enzimas antioxidantes

A atividade da enzima SOD no momento inicial (NSTR), não apresentou grandes diferenças significativas entre os tratamentos, o mesmo observado no momento de estresse, no entanto o tratamento controle e as BAC8 e BAC9, apresentaram queda na sua concentração (Figura 4). Sob condições normais, a produção de EROs como H_2O_2 (peróxido de hidrogênio) e $\text{O}_2^{\cdot-}$ (superóxido) são mantidos em concentrações baixas pelas enzimas antioxidantes. Asghari et al. (2020) em seu trabalho avaliando RPCPs frente a sua capacidade de conferir resistência a seca em Poejo (*Mentha pulegium* L.), apresentando aumento nas atividades de SOD durante estresse moderado (34,7%) e estresse severo (57,2%).

No presente trabalho, foi observado no momento de estresse queda na concentração da SOD e após a reidratação a concentração de SOD foi significativamente maior em relação aos momentos iniciais, destacando-se a BAC1.

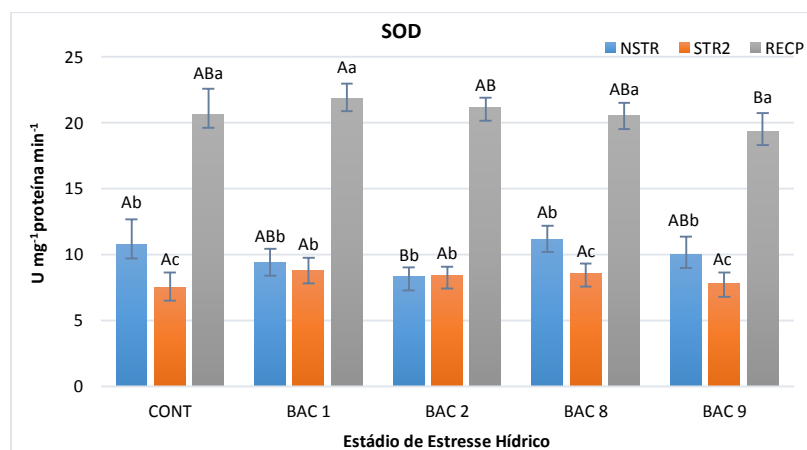


Figura 4 – Atividade da Superóxido Dismutase (SOD) em plantas de soja submetidas a diferentes condições hídricas.

Dados: Sem Estresse (NSTR); Estresse Hídrico (STR2); Recuperadas (RECP); Controle (CONT). Médias seguidas da mesma letra maiúscula não diferem entre si nos tratamentos. Médias seguidas da mesma letra minúscula não diferem entre si nas condições.

O estresse hídrico aumenta a formação e o acúmulo das moléculas reativas, resultando no estresse oxidativo. O desequilíbrio nos níveis de EROs

afeta a planta pois desencadeia oxidação dos pigmentos fotossintéticos, membranas lipídicas, proteínas e ácidos nucleicos (LUSHCHAK, 2014; JAJIC et al., 2015).

Como um importante componente da maquinaria antioxidante da planta, SOD constitui a primeira linha de defesa contra EROs acumulados pelo estresse abiótico, assim como seus produtos reativos, por catalisar a dismutação de $O_2^{\cdot-}$ para H_2O_2 e O_2 (SAIBI e BRINI, 2018). SOD catalisa eficientemente a remoção do radical superóxido nos cloroplastos, por serem gerados principalmente no fotossistema I. Assim, a catalase, localizada principalmente nos peroxissomos das células vegetais, possui o papel de eliminar o H_2O_2 gerado pela reação de SOD (ASADA, 1999; RACCHI, 2013, KIM et al., 2014), plantas com níveis mais elevados de atividade de SOD, demonstram ser mais resistentes ao estresse abiótico (BERWAL e RAM, 2018)

Foi demonstrado por Nawaz e Bano (2020), em seu trabalho investigando a interação de cepas de *Pseudomonas* sp. com pepineiro (*Cucumis sativus* L.), aumento nas atividades de SOD nas folhas em todos os tratamentos comparado ao grupo controle, chegando a um aumento máximo de 95%. O mesmo comportamento foi apresentando pela CAT, podendo chegar a um aumento máximo de 50%.

Foi observada uma similaridade no comportamento das enzimas SOD e CAT durante as condições em que as plantas se encontravam. As mesmas enzimas apresentaram redução de atividade durante a indução do estresse, seguido por um aumento significativo em quase todos os tratamentos ao reidratar as plantas.

Plantas inoculadas com BAC1 demonstraram níveis mais elevados de CAT sob condições normais, quando comparadas ao grupo controle e aos demais tratamentos. Ao induzir estresse hídrico (STR2), apesar da redução, a atividade da catalase foi significativamente mais elevada no tratamento com BAC1 comparada as plantas sem inoculação (Controle). (Figura 5)

Ao reidratar as plantas (RECP), BAC1 também foi mais eficiente em sinalizar para a síntese de CAT, apresentando aumento significativo em relação ao tratamento controle, mantendo os níveis da atividade dessa enzima mais elevados. Todos os tratamentos desempenharam a mesma tendência de

redução durante STR2, exceto BAC8, que apresentou diminuição na atividade de catalase no período de recuperação. (Figura 5).

Catalase se destaca por ser um componente crucial do mecanismo de proteção celular contra o estresse oxidativo e desempenha um papel significativo na manutenção da resposta de defesa induzida (MHAMDI, 2010). É uma enzima importante para as plantas pela sua capacidade de proteger as células vegetais de moléculas reativas.

A produção de EROs nas plantas é comum mesmo em condições ótimas de crescimento. Sob estresse biótico e abiótico, o aumento considerável no acúmulo dessas moléculas afeta o ambiente redox normal da célula vegetal, causando danos a organelas, levando a disfunção celular (DEMIDCHIK, 2015). A catalase, por sua vez, é uma das enzimas mais importantes na eliminação de EROs (NIKOO et al., 2014).

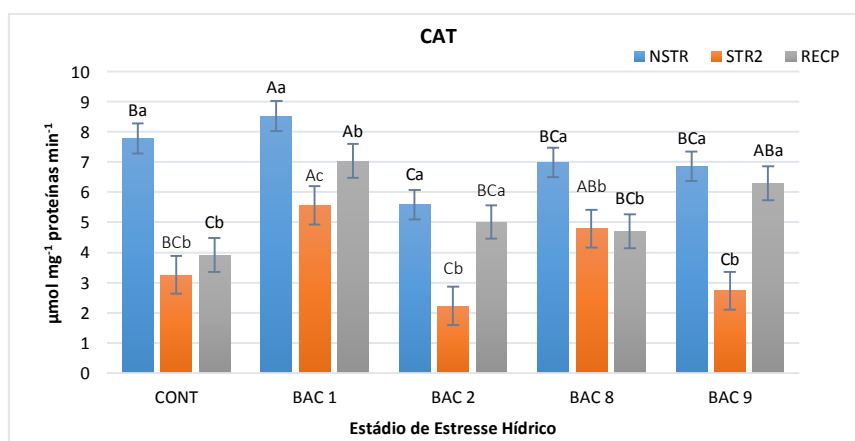


Figura 5 – Atividade de Catalase (CAT) em plantas de Soja submetidas à diferentes condições hídricas.

Dados: Sem Estresse (NSTR); Estresse Hídrico (STR2); Recuperadas (RECP); Controle (CONT). Médias seguidas da mesma letra maiúscula não diferem entre si nos tratamentos. Médias seguidas da mesma letra minúscula não diferem entre si nas condições.

O estresse hídrico gera radicais superóxido pelo vazamento de elétrons do aparato fotossintético e cadeia respiratória nos cloroplastos que são dismutados em H_2O_2 pela SOD. Assim, H_2O_2 é decomposto por diferentes peroxidases em H_2O utilizando diferentes agentes reducionais. Em contraste, catalase geralmente decompõe H_2O_2 decorrente da fotorespiração nos peroxissomos (DAT et al. 2000).

O efeito da catalase em folhas de *Dendrobium moniliforme* (Orquídia), sob estresse hídrico e reidratação, apresentou redução significativa das atividades dessa enzima com o aumento da intensidade do estresse e do

tempo em que as plantas ficaram em déficit hídrico (Wu et al. 2016), resultado semelhante aos apresentando nesse trabalho.

Foi observado por Wang et al. (2019), avaliando a atividade do sistema de defesa antioxidante de arroz (*Oryza sativa* L.) sob situação de estresse hídrico e reidratação das plantas, observou aumento nas atividades dessa enzima com o prolongamento do estresse. Além disso, após a reidratação, foi observado um declínio nas atividades de CAT, diferente dos resultados apresentando no presente trabalho, onde após a reidratação das plantas, é observado aumento na atividade dessa enzima.

Sob condições normais, plantas inoculadas com BAC1 apresentaram maiores níveis de GPX que o grupo controle e os demais tratamentos. Ao induzir estresse hídrico, todos os tratamentos desempenharam o mesmo comportamento, sinalizando o aumento da atividade de GPX, destacando BAC9, que obteve valor significativamente mais elevado. Mesmo não havendo diferença significativa, a atividade de GPX nas plantas inoculadas com BAC1 foi numericamente superior ao tratamento controle. (Figura 6).

Após a recuperação das plantas, apesar de não apresentar diferença significativa, BAC1 se demonstrou numericamente superior quanto aos níveis de GPX comparado ao controle e aos demais tratamentos, indicando maior atividade antioxidante no período de recuperação pós déficit hídrico. (FIGURA 6).

Dentre as enzimas antioxidantes, as peroxidases são componentes essenciais do sistema de detoxificação celular que regula os níveis intracelulares de H_2O_2 (TAYEFI-NASRABADI, 2011). H_2O_2 resultante da ação da SOD, é tóxico para as células, dessa forma, é necessário que essa molécula seja eliminada rapidamente pelo sistema de defesa antioxidante. A expressão elevada de SOD, quando acompanhada por mecanismos paralelos de eliminação de H_2O_2 , como a ação de CAT e GPX, se torna um importante mecanismo de resistência para o suporte ao estresse oxidativo gerado em períodos de déficit hídrico (ABEDI e PAKNIYAT).

Estresse hídrico é um dos mais importantes fatores abióticos que atingem a agricultura atualmente, as alterações climáticas vêm sendo um limitante no crescimento vegetal e na sua produtividade. Essa condição pode ser aliviada pela utilização de RPCPs que estimulam a resistência das plantas

hospedeiras. Plantas em situação de estresse hídrico apresentam redução nos níveis de guaiacol peroxidase, porém quando associadas a RPCPs, demonstram aumento significativo na atividade dessa enzima (MEENA et al., 2020).

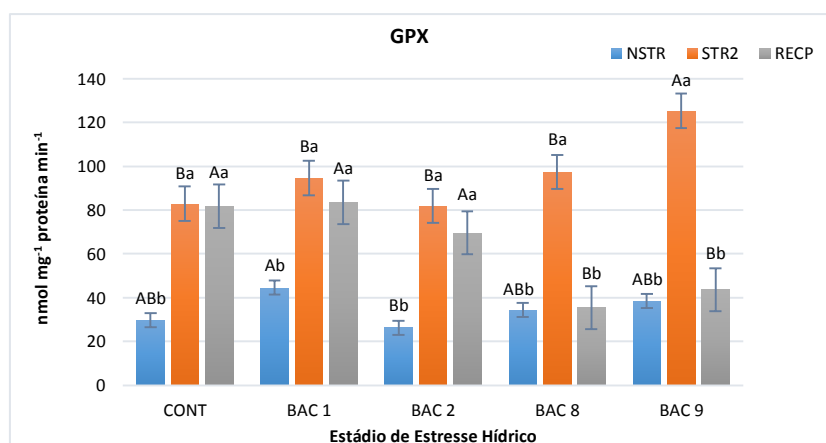


Figura 6 – Atividade da Guaiacol Peroxidase em plantas de Soja submetidas a diferentes condições hídricas.

Dados: Sem Estresse (NSTR); Estresse Hídrico (STR2); Recuperadas (RECP); Controle (CONT). Médias seguidas da mesma letra maiúscula não diferem entre si nos tratamentos. Médias seguidas da mesma letra minúscula não diferem entre si nas condições.

A quantificação do teor de Malondialdeído (MDA) vem sendo utilizada como um marcador da peroxidação de lipídios em estudos relacionados ao estresse oxidativo e sinalização redox, particularmente aos trabalhos voltados às respostas das plantas ao estresse biótico e abiótico (MORALES e MUNNÉ-BOSCH, 2019).

MDA é um produto da peroxidação de ácidos graxos insaturados em fosfolipídios, e o nível dessa peroxidação é utilizado como um indicador do dano causado pelos radicais livres à membranas celulares sob condições de estresse. O aumento nos níveis dessa molécula sugere que o estresse hídrico pode causar peroxidação de lipídios nas membranas pelo acúmulo de EROs (GUO et al., 2018).

No momento inicial NSTR, não houve diferença significativa entre os tratamentos, porém no estresse hídrico (STR2), foi observado aumento em todos os tratamentos. No entanto, destacam-se os isolados BAC1 e BAC8 que não apresentaram diferença estatística no momento de déficit hídrico em relação ao momento sem estresse (Figura 7).

Ao reidratar as plantas, todos os tratamentos com RPCPs induziram aumento significativo nas concentrações de MDA. O mesmo comportamento foi observado nas atividades de SOD e CAT, destacando BAC1 e BAC2 que apresentaram níveis superiores aos demais tratamentos (FIGURA 7). Tal fato pode estar relacionado à atividade das enzimas proporcionarem melhor resistência ao estresse hídrico, resultado não observado nas plantas controle por apresentarem estresse severo e em estado inicial de murcha permanente.

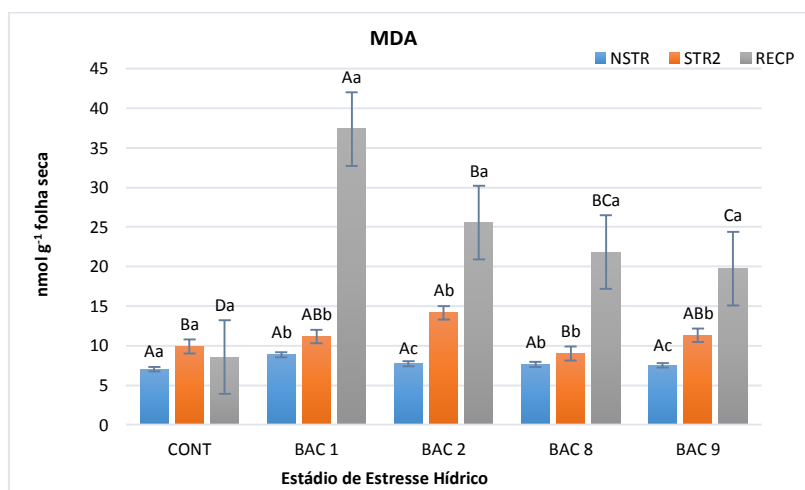


Figura 7 – Teor de Malondialdeído (MDA) em plantas de Soja submetidas a diferentes condições hídricas.

Dados: Sem Estresse (NSTR); Estresse Hídrico (STR2); Recuperadas (RECP); Controle (CONT). Médias seguidas da mesma letra maiúscula não diferem entre si nos tratamentos. Médias seguidas da mesma letra minúscula não diferem entre si nas condições.

O aumento da concentração de MDA pode representar um processo de adaptação ao invés de dano, pressupondo que MDA exerce importante papel na ativação de genes regulatórios envolvidos na defesa e desenvolvimento das plantas, além de garantir proteção celular sob condições de estresse. Nesse sentido, é sugerido que MDA pode agir como um mecanismo de proteção ao invés de um indicador de dano (MORALES e MUNNÉ-BOSCH, 2019).

A análise de componentes principais (ACP) das atividades enzimáticas (SOD, CAT, GPX e MDA) antes de serem induzidos ao estresse hídrico, os tratamentos se mostram em 3 clusters distintos, sendo BAC1 fortemente influenciado pelas atividades das enzimas GPX, CAT e MDA. O tratamento BAC2 pela atividade das enzimas GPX e MDA, indicando que esses tratamentos já fornecem suporte à planta antes de ser induzido estresse. E, demais tratamentos influenciados pela SOD (Figura 8).

Quando as plantas são submetidas à déficit hídrico, pode-se notar forte relação positiva entre o tratamento BAC1 e as atividades de enzimas antioxidantes, enquanto que BAC2 está relacionado ao acúmulo de MDA. (Figura 9). O estresse hídrico causa a formação de EROs, levando a indução de estresse osmóticos nas células. Em baixas quantidades, essas moléculas reativas atuam como sinalizadores e ativam processos transduccionais em resposta a diferentes tipos de estresse. O sistema antioxidante enzimático e não enzimático protegem as plantas contra a toxicidade das EROs (REDZADUOTORDOIR e AVERILL-BATES, 2016).

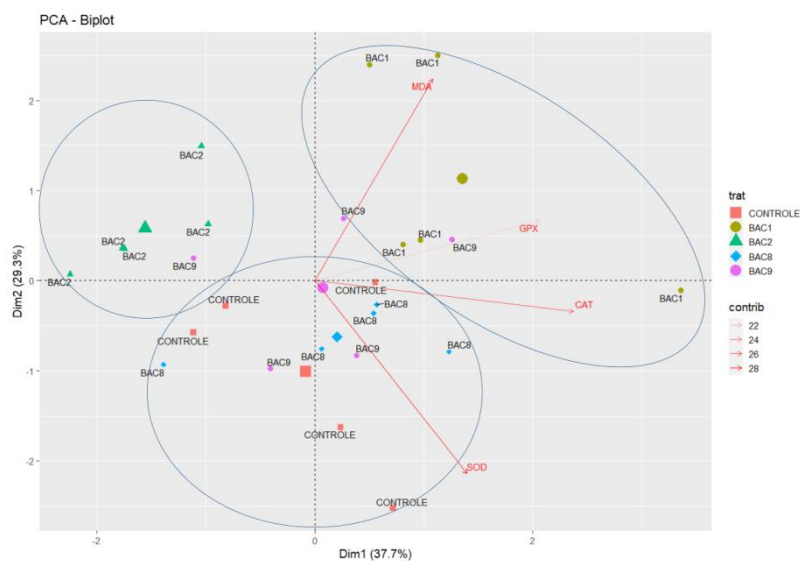


Figura 8 – Análise de Componentes Principais (APC) da atividade de enzimas oxidantes sob condição pré-estresse hídrico (NSTR). Variáveis correlacionadas positivamente são indicadas para o mesmo lado. Variáveis correlacionadas negativamente são indicadas para lados opostos.

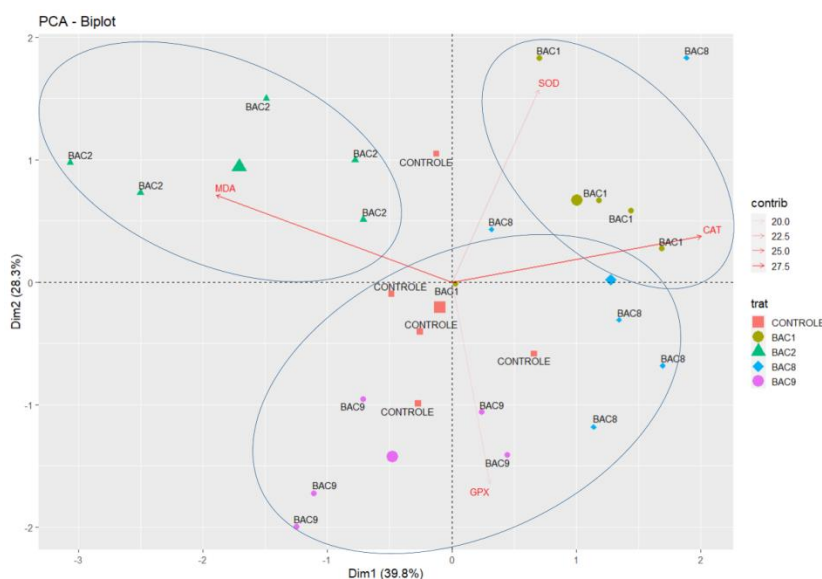


Figura 9 – Análise de Componentes Principais (APC) da atividade de enzimas oxidantes sob condição de estresse hídrico (STR2). Variáveis correlacionadas positivamente são indicadas para o mesmo lado. Variáveis correlacionadas negativamente são indicadas para lados opostos.

Ao reidratar as plantas observa-se mais uma vez forte relação entre os tratamentos BAC1 e BAC2 com a atividade de enzimas antioxidantes avaliada no presente trabalho. (FIGURA 10).

Enzimas antioxidantes, tais como GPX, SOD e CAT são os principais mecanismos de defesa e, dessa forma, sob condições de seca, altos níveis dessas enzimas antioxidantes são positivamente correlacionadas com a tolerância das plantas ao estresse hídrico (GUO et al., 2018; KAUSHAL e WANI, 2016). Existe uma significativa relação entre o estresse hídrico e a atividade enzimática antioxidante, e dessa forma, a inoculação de RPCPs pode mitigar os efeitos adversos ocasionados pelo déficit hídrico através da ativação da maquinaria antioxidante da planta (HAN e LEE, 2005).

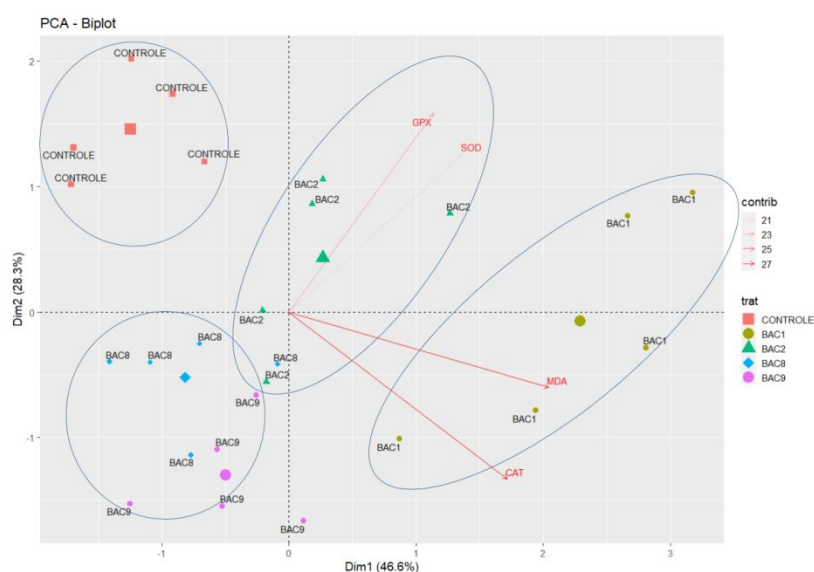


Figura 10 – Análise de Componentes Principais (APC) da atividade de enzimas oxidantes sob condição de reidratação pós-estresse (RECP). Variáveis correlacionadas positivamente são indicadas para o mesmo lado. Variáveis correlacionadas negativamente são indicadas para lados opostos.

4.2 Teores de Clorofila A e B e conteúdo de água nas folhas

Para os teores de Clorofila A e B, a interação entre os isolados de RPCPs e as condições avaliadas no presente trabalho foi significativo ($p \geq 0.01$). Durante condições hídricas normais (NSTR), BAC1, BAC2 e BAC8

induziram significativamente níveis mais elevados de clorofila A que os demais tratamentos (CONT e BAC9) (Figura 11).

Ao induzir estresse hídrico (STR2), todos os tratamentos, exceto bac 9, seguiram a mesma tendência, apresentando aumento significativo nos teores de clorofila A, destacando BAC1 e BAC2, que obtiveram os maiores valores durante essa condição (Figura 11). O mesmo comportamento foi observado nos níveis de clorofila B, onde os mesmos também se destacam por demonstrarem teores mais elevados que o grupo controle, indicando a capacidade dessas RPCPs em dar suporte à funcionalidade do aparato fotossintético das plantas inoculadas, em períodos de estresse hídrico (Figura 12).

A clorofila é um importante componente do complexo pigmento-proteína na membrana do tilacóide, sendo crucial para a fotossíntese. O teor de clorofila pode refletir o nível de fotossíntese, refletindo no crescimento da planta, assim como o *status* de água presente nas plantas, que afeta diretamente os processos metabólicos impactando no desenvolvimento vegetal (DONG et al., 2019).

Uma das principais e primeiras respostas ao estresse hídrico nas plantas é o decréscimo da eficiência fotossintética. Em geral, uma significativa redução da fotossíntese é observada durante o estresse hídrico, o que leva à diminuição da produção energética e acúmulo de metabólitos (SAIKIA, 2018). RPCPs podem elevar os níveis de citocininas nas plantas. Essas moléculas inibem a perda de clorofila pela indução da abertura dos estômatos aumentando a taxa fotossintética da planta (ABBASI et al. 2011).

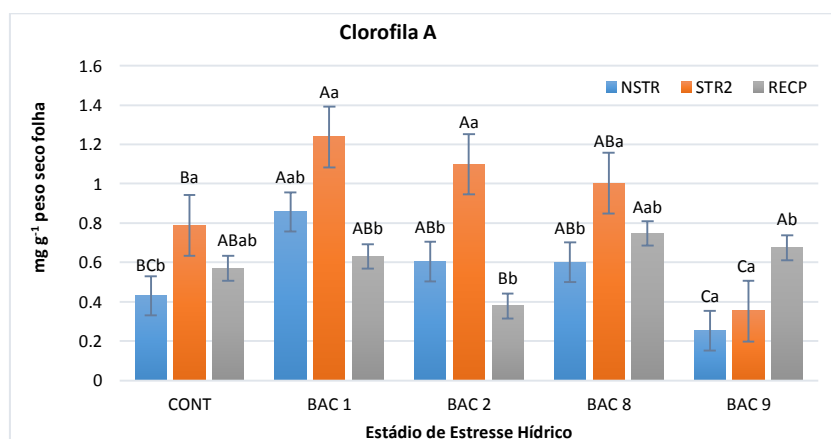


Figura 11 – Teor de Clorofila A em plantas de Soja submetidas a diferentes condições hídricas.

Dados: Sem Estresse (NSTR); Estresse Hídrico (STR2); Recuperadas (RECP); Controle (CONT). Médias seguidas da mesma letra maiúscula não diferem entre si nos tratamentos. Médias seguidas da mesma letra minúscula não diferem entre si nas condições.

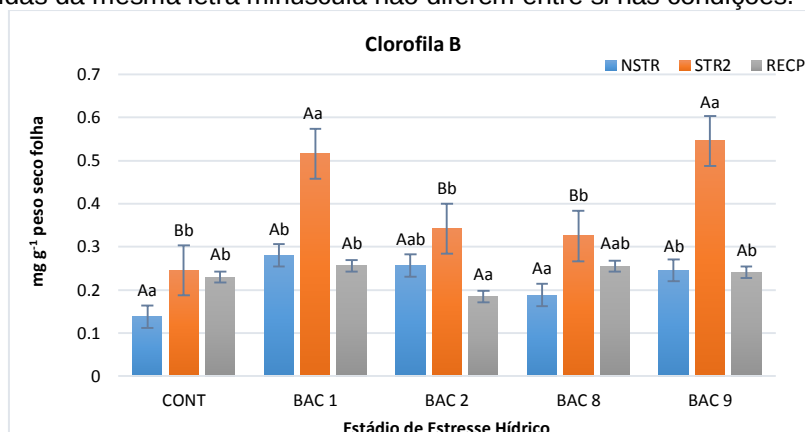


Figura 12 – Teor de Clorofila B em plantas de Soja submetidas à diferentes condições hídricas.

Dados: Sem Estresse (NSTR); Estresse Hídrico (STR2); Recuperadas (RECP); Controle (CONT). Médias seguidas da mesma letra maiúscula não diferem entre si nos tratamentos. Médias seguidas da mesma letra minúscula não diferem entre si nas condições.

A inoculação de RPCPs parcialmente eliminou os efeitos deletérios causados pelo estresse hídrico em plantas de soja, através do aumento nos teores de clorofila, corroborando com os resultados de WANG (2012) e MASTOURI et al. (2012).

Para o Conteúdo de Água nas Folhas (CAF) foi observado a mesma tendência de comportamento durante os diferentes estágios hídricos que as plantas se encontravam em relação aos tratamentos. Todos apresentaram redução no momento de déficit hídrico (STR2). Porém, apesar dessa redução, as plantas inoculadas com BAC1 e BAC2 se demonstraram mais resistência à perda de água, mantendo seus conteúdos superiores ao controle e aos demais tratamentos (Figura 13). Os mesmos tratamentos contribuíram para o aumento da atividade de enzimas antioxidantes, assim como aumento nos teores de clorofila A e B.

O conteúdo relativo de água nas folhas é um parâmetro importante que está intimamente associado à resistência das plantas ao estresse hídrico. Assim, estudar o efeito dessa condição e como o vegetal responde à reidratação sobre os teores de clorofila nas folhas de soja é útil para revelar o nível de tolerância da soja ao estresse hídrico (DONG et al., 2019).

RPCPs podem sinalizar às plantas e induzir produção de metabólitos como betaínas e outros compostos para retenção de água nas plantas por

aumentar a área de superfície das raízes, ajudando a manter o vegetal em equilíbrio hídrico mesmo em condições de estresse (PRAVISYA et al., 2019). Além disso, o alto acúmulo de osmólitos como proteínas totais, açúcares e aminoácidos livres resulta em aumento nas concentrações de soluto em plantas expostas à seca, proporcionando aumento da absorção de água (FAHAD et al., 2017).

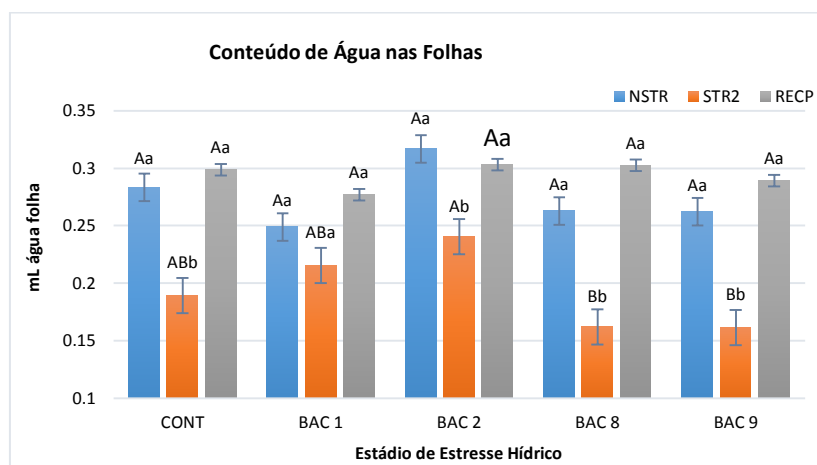


Figura 13 – Conteúdo de Água nas Folhas (CAF) em plantas de Soja submetidas a diferentes condições hídricas.

Dados: Sem Estresse (NSTR); Estresse Hídrico (STR2); Recuperadas (RECP); Controle (CONT). Médias seguidas da mesma letra maiúscula não diferem entre si nos tratamentos. Médias seguidas da mesma letra minúscula não diferem entre si nas condições.

Na análise os componentes principais (ACP) durante a condição NSTR é possível notar forte correlação entre os tratamentos BAC1 e BAC2 com os teores de clorofila A, B e CAF (Figura 14A). O mesmo comportamento pode ser observado durante o período de déficit hídrico (STR2), onde também temos que BAC1 e BAC2 estão positivamente relacionadas ao aumento dos pigmentes fotossintéticos e ao aumento do conteúdo relativo de água nas plantas (Figura 14B) Ao reidratar as plantas, é possível observar que todos os tratamentos apresentaram valores próximos, indicando que todas retornaram à sua condição hídrica normal (Figura 14C).

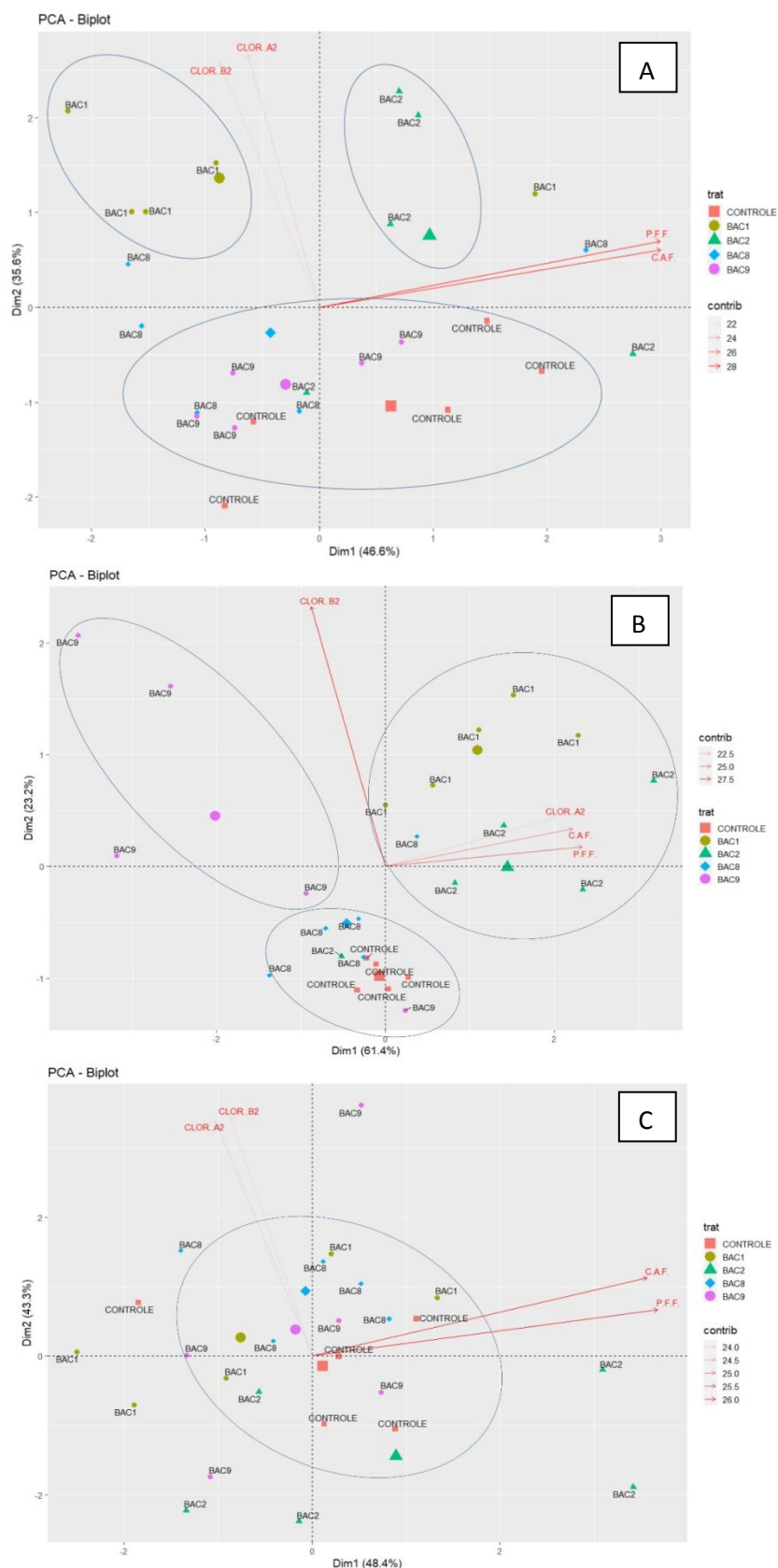


Figura 14 – Análise de Componentes Principais (APC) dos teores de clorofila A e B, Conteúdo de Água na Folha e Peso Fresco da Folha (PFF), sob diferentes condições, normal [NSTR] (A), estresse hídrico [STR2] (B) e reidratação [RECP] (C). Variáveis correlacionadas positivamente são indicadas para o mesmo lado. Variáveis correlacionadas negativamente são indicadas para lados opostos.

5 CONCLUSÃO

Os tratamentos com inoculação de isolados BAC1 e BAC2 se destacaram por induzirem níveis superiores de atividade de enzimas antioxidantes (SOD, CAT e GPX) em processo de estresse hídrico, promovendo aumento nos teores de clorofila A e B, contribuindo para a redução na perda do conteúdo relativo de água nas folhas.

A utilização desses isolados de RPCPs pode ser uma alternativa promissora na indução de resistência sistema à condições de déficit hídrico através da ativação de mecanismos de defesa antioxidante nas plantas.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBASI, M. K.; SHARIF, S.; KAZMI, M.; SULTAN, T.; ASLAM, M. Isolation of plant growth promoting rhizobacteria from wheat rhizosphere and their effect on improving growth, yield and nutrient uptake of plants. **Plant Biosystems**, v. 145, n. 1, p. 159-168, 2011.

ABEDI, TAYEBEH; PAKNIYAT, HASSAN. Antioxidant enzymes changes in response to drought stress in ten cultivars of oilseed rape (*Brassica napus* L.). **Czech Journal of Genetics and Plant Breeding**, v. 46, n. 1, p. 27-34, 2010.

ASADA, K. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. **Annual review of plant biology**, v. 50, n. 1, p. 601-639, 1999.

ASGHARI, B.; KHADEMIAN, R.; SEDAGHATI, B. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) confer drought resistance and stimulate biosynthesis of secondary metabolites in pennyroyal (*Mentha pulegium* L.) under water shortage condition. **Scientia Horticulturae**, v. 263, p. 109132, 2020.

BAHARLOUEI, J.; PAZIRA, E.; SOLHI, M. Evaluation of inoculation of plant growth-promoting rhizobacteria on cadmium uptake by canola and barley. In: **International Conference on Environmental Science and Technology IPCBEE**, Singapore. 2011.

BERWAL, M.; RAM, Chet. Superoxide dismutase: a stable biochemical marker for abiotic stress tolerance in higher plants. **Abiotic and Biotic Stress in Plants**, p. 1-10, 2018.

BARNAWAL, D.; SINGH, R.; SINGH, R. P. Role of plant growth promoting rhizobacteria in drought tolerance: regulating growth hormones and osmolytes.

In: **PGPR Amelioration in Sustainable Agriculture**. Woodhead Publishing, p. 107-128. 2019.

BARNES, J.; ZHENG, Y.; LYONS, T. Plant resistance to ozone: the role of ascorbate. In: **Air pollution and plant biotechnology**. Springer, Tokyo, p. 235-252. 2002

BEERS, R. F.; SIZER, I. W. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. **J Biol chem**, v. 195, n. 1, p. 133-140, 1952.

BUEGE, J. A.; AUST, Steven D. [30] Microsomal lipid peroxidation. In: **Methods in enzymology**. Academic Press, p. 302-310. 1978

CARDOSO, E. J. B. N.; FREITAS, S. S. A rizosfera. **Microbiologia do solo. Sociedade Brasileira de Ciencia do Solo, Campinas**, p. 41-57, 1992.

CAVERZAN, A.; PASSAIA, G.; ROSA, S. B.; RIBEIRO, C. W.; LAZZAROTTO, F.; MARGIS-PINHEIRO, M. Plant responses to stresses: role of ascorbate peroxidase in the antioxidant protection. **Genetics and molecular biology**, v. 35, n. 4, p. 1011-1019, 2012.

CAVERZAN, A.; CASASSOLA, A.; BRAMMER, S. P. Antioxidant responses of wheat plants under stress. **Genetics and molecular biology**, v. 39, n. 1, p. 1-6, 2016.

CHIAPPERO, J.; DEL-ROSARIO-CAPPELLARI, L.; ALDERETE, L. G. S.; PALERMO, T. B.; BANCHIO, E. Plant growth promoting rhizobacteria improve the antioxidant status in *Mentha piperita* grown under drought stress leading to an enhancement of plant growth and total phenolic content. **Industrial Crops and Products**, v. 139, p. 111553, 2019.

CHOUDHURY, F. K.; RIVERO, R. M.; BLUMWALD, E.; MITTLER, R. Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. **The Plant Journal**, v. 90, n. 5, p. 856-867, 2017.

CONAB – COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acomp. safra brasileira de grãos - Safra 2020/21**, v. 8, n. 4. p. 1-85, 2021.

Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras>> Acesso em: 02/02/2021.

DARYANTO, S.; WANG, L.; JACINTHE, P. A. Global synthesis of drought effects on maize and wheat production. **PloS one**, v. 11, n. 5, p. e0156362, 2016.

DAS, K.; ROYCHOUDHURY, A. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. **Frontiers in Environmental Science**, v. 2, p. 53, 2014.

DAT, J. et al. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. **Cellular and Molecular Life Sciences CMLS**, v. 57, n. 5, p. 779-795, 2000.

DE PINTO, M. C.; DE GARA, L. Changes in the ascorbate metabolism of apoplastic and symplastic spaces are associated with cell differentiation. **Journal of experimental botany**, v. 55, n. 408, p. 2559-2569, 2004.

DEMIDCHIK, V. Mechanisms of oxidative stress in plants: from classical chemistry to cell biology. **Environmental and experimental botany**, v. 109, p. 212-228, 2015.

DONG, Y., WAN, Y., LIU, F., & ZHUGE, Y. Effects of exogenous SA supplied with different approaches on growth, chlorophyll content and antioxidant enzymes of peanut growing on calcareous soil. **Journal of Plant Nutrition**, v. 42, n. 16, p. 1869-1883, 2019.

DU, Y.; ZHAO, Q.; CHEN, L.; YAO, X.; ZHANG, W.; ZHANG, B.; XIE, F. Effect of drought stress on sugar metabolism in leaves and roots of soybean seedlings. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 146, p. 1-12, 2020.

FAHAD, Shah et al. Crop production under drought and heat stress: plant responses and management options. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 1147, 2017.

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium (Lavras)**, v. 6, p. 36-41, 2008.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant physiology and biochemistry**, v. 48, n. 12, p. 909-930, 2010.

GOGOI, M.; BASUMATARY, M. Estimation of the chlorophyll concentration in seven Citrus species of Kokrajhar district, BTAD, Assam, India. **Trop Plant Res**, v. 5, p. 83-87, 2018.

GOUDA, S.; KERRY, R. G.; DAS, G.; PARAMITHIOTIS, S.; SHIN, H. S.; PATRA, J. K. Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. **Microbiological research**, v. 206, p. 131-140, 2018.

GOSWAMI, M.; SURESH, D. E. K. A. Plant growth-promoting rhizobacteria—alleviators of abiotic stresses in soil: A review. **Pedosphere**, v. 30, n. 1, p. 40-61, 2020.

GUO, Y. Y.; TIAN, S. S.; LIU, S. S.; WANG, W. Q.; SUI, N. Energy dissipation and antioxidant enzyme system protect photosystem II of sweet sorghum under drought stress. **Photosynthetica**, v. 56, n. 3, p. 861-872, 2018.

HAN, H. S.; LEE, K. D. Physiological responses of soybean-inoculation of *Bradyrhizobium japonicum* with PGPR in saline soil conditions. **Res J Agric Biol Sci**, v. 1, n. 3, p. 216-221, 2005.

HATZ, S.; LAMBERT, J. D. C.; OGILBY, P. R. Measuring the lifetime of singlet oxygen in a single cell: addressing the issue of cell viability. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 6, n. 10, p. 1106-1116, 2007.

HUANG, H.; ULLAH, F.; ZHOU, D. X.; YI, M.; ZHAO, Y. Mechanisms of ROS regulation of plant development and stress responses. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, 2019.

HUNGRIA, M.; MENDES, I.C. Nitrogen fixation with 1 soybean: the perfect symbiosis? In: DE BRUIJN, F. 2 (Ed.) **Biological nitrogen fixation**. Chapter 99.3 New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. v. 2, n. 4, p.1005-1019. 2015

JAJIC, I.; SARNA, T.; STRZALKA, K. Senescence, stress, and reactive oxygen species. **Plants**, v. 4, n. 3, p. 393-411, 2015.

JIA, F.; PENG, S.; GREEN, J.; KOH, L.; CHEN, X. Soybean supply chain management and sustainability: A systematic literature review. **Journal of Cleaner Production**, v. 255, p. 120-254, 2020.

JOCHUM, M.; MCWILLIAMS, K. M.; BORREGO, E.; KOLOMIETS, M.; NIU, G.; PIERSON, E.; JO, Y. K. Bioprospecting plant growth-promoting rhizobacteria that mitigate drought stress in grasses. **Frontiers in microbiology**, v. 10, p. 2106, 2019.

KAUSHAL, M.; WANI, S. P. Plant-growth-promoting rhizobacteria: drought stress alleviators to ameliorate crop production in drylands. **Annals of Microbiology**, v. 66, n. 1, p. 35-42, 2016.

KIM, B. M.; RHEE, J. S.; JEONG, C. B.; SEO, J. S.; PARK, G. S.; LEE, Y. M.; LEE, J. S. Heavy metals induce oxidative stress and trigger oxidative stress-mediated heat shock protein (hsp) modulation in the intertidal copepod *Tigriopus japonicus*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 166, p. 65-74, 2014.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of biological chemistry**, v. 193, p. 265-275, 1951.

LUSHCHAK, V. I. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. **Chemico-biological interactions**, v. 224, p. 164-175, 2014.

MASTOURI, F.; BJÖRKMAN, T.; HARMAN, G. E. *Trichoderma harzianum* enhances antioxidant defense of tomato seedlings and resistance to water deficit. **Molecular plant-microbe interactions**, v. 25, n. 9, p. 1264-1271, 2012.

MARULANDA, A.; AZCÓN, R.; CHAUMONT, F.; RUIZ-LOZANO, J. M.; AROCA, R. Regulation of plasma membrane aquaporins by inoculation with a *Bacillus megaterium* strain in maize (*Zea mays* L.) plants under unstressed and salt-stressed conditions. **Planta**, v. 232, n. 2, p. 533-543, 2010.

MEENA, MUKESH et al. PGPR-mediated induction of systemic resistance and physiochemical alterations in plants against the pathogens: Current perspectives. **Journal of Basic Microbiology**, v. 60, n. 10, p. 828-861, 2020.

MHAMDI, A.; QUEVAL, G.; CHAOUCH, S.; VANDERAUWERA, S.; VAN BREUSEGEM, F.; NOCTOR, G. Catalase function in plants: a focus on *Arabidopsis* mutants as stress-mimic models. **Journal of experimental botany**, v. 61, n. 15, p. 4197-4220, 2010.

MITTLER, R. ROS are good. **Trends in plant science**, v. 22, n. 1, p. 11-19, 2017.

MORALES, M.; MUNNÉ-BOSCH, S. Malondialdehyde: Facts and artifacts. **Plant physiology**, v. 180, n. 3, p. 1246-1250, 2019.

MULLINEAUX, P. M.; RAUSCH, T. Glutathione, photosynthesis and the redox regulation of stress-responsive gene expression. **Photosynthesis research**, v. 86, n. 3, p. 459-474, 2005.

NAWAZ, S.; BANO, A. Effects of PGPR (*Pseudomonas* sp.) and Ag-nanoparticles on enzymatic activity and physiology of cucumber. **Recent patents on food, nutrition & agriculture**, v. 11, n. 2, p. 124-136, 2020.

NIELSEN, K. M.; VAN ELSAS, J. D. Stimulatory effects of compounds present in the rhizosphere on natural transformation of *Acinetobacter* sp. BD413 in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 33, n. 3, p. 345-357, 2001.

NIKOO, F. S.; SAHEBANI, N.; AMINIAN, H.; MOKHTARNEJAD, L.; GHADERI, R. Induction of systemic resistance and defense-related enzymes in tomato plants using *Pseudomonas fluorescens* CHAO and salicylic acid against root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. **Journal of Plant Protection Research**, v. 54, n. 4, 2014.

NOAA. National Centers for Environmental Information (NCEI). **U.S. Billion-Dollar Weather and Climate Disasters**. 2020. Disponível em: <<https://www.ncdc.noaa.gov/billions/events/US/1980-2017>>. Acesso em: 12/11/2020

ORABI, S. A.; ABOU-HUSSEIN, S. D. Antioxidant defense mechanisms enhance oxidative stress tolerance in plants. A review. **Current Science International**, v. 08, n. 3, p. 565-576, 2019.

PRAVISYA, P.; JAYARAM, K. M.; YUSUF, A. Biotic priming with *Pseudomonas fluorescens* induce drought stress tolerance in *Abelmoschus esculentus* (L.)

Moench (Okra). **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 25, n. 1, p. 101-112, 2019.

PINTO, E.; SIGAUD-KUTNER, T. C.; LEITAO, M. A.; OKAMOTO, O. K.; MORSE, D.; COLEPICOLO, P. Heavy metal-induced oxidative stress in algae 1. **Journal of phycology**, v. 39, n. 6, p. 1008-1018, 2003.

PRASAD, M.; SRINIVASAN, R.; CHAUDHARY, M.; CHOUDHARY, M.; JAT, L. K. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) for Sustainable Agriculture: Perspectives and Challenges. In: **PGPR Amelioration in Sustainable Agriculture**. Woodhead Publishing, p. 129-157. 2019

QIU-FANG, Z.; YUAN-YUAN, L.; CAI-HONG, P.; CONG-MING, L.; BAO-SHAN, W. NaCl enhances thylakoid-bound SOD activity in the leaves of C3 halophyte Suaeda salsa L. **Plant Science**, v. 168, n. 2, p. 423-430, 2005.

RACCHI, M. L. Antioxidant defenses in plants with attention to Prunus and Citrus spp. **Antioxidants**, v. 2, n. 4, p. 340-369, 2013.

RAZA, W.; LING, N.; YANG, L.; HUANG, Q.; SHEN, Q. Response of tomato wilt pathogen Ralstonia solanacearum to the volatile organic compounds produced by a biocontrol strain Bacillus amyloliquefaciens SQR-9. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 1-13, 2016.

REDZA-DUTORDOIR, M.; AVERILL-BATES, D. A. Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research**, v. 1863, n. 12, p. 2977-2992, 2016.

ROY, S.; SEN, C. K.; HÄNNINEN, O. Monitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons using 'moss bags': Bioaccumulation and responses of antioxidant enzymes in Fontinalis antipyretica Hedw. **Chemosphere**, v. 32, n. 12, p. 2305-2315, 1996.

RSTUDIO. A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statitital Computing, Vienna. Austria, 2016.

SAIBI, W.; BRINI, F. Superoxide dismutase (SOD) and abiotic stress tolerance in plants: An overview. **Superoxide Dismutase: Structure, Synthesis and Applications; Magliozzi, S., Ed**, p. 101-142, 2018.

SAIKIA, J.; SARMA, R. K.; DHANDIA, R.; YADAV, A.; BHARALI, R.; GUPTA, V. K.; SAIKIA, R. Alleviation of drought stress in pulse crops with ACC deaminase producing rhizobacteria isolated from acidic soil of Northeast India. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 1-16, 2018.

SARKAR, J.; CHAKRABORTY, B.; CHAKRABORTY, U. Plant Growth Promoting Rhizobacteria Protect Wheat Plants Against Temperature Stress Through Antioxidant Signalling and Reducing Chloroplast and Membrane Injury. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 37, n. 4, p. 1396-1412, 2018.

SARMA, R.K.; SAIKIA, R.R. Alleviation of drought stress in mung bean by strain *Pseudomonas aeruginosa* GGRK21. *Plant Soils*, v. 377, p. 111–126, 2014.

SEWELAM, N.; KAZAN, K.; SCHENK, P. M. Global plant stress signaling: reactive oxygen species at the cross-road. **Frontiers in plant science**, v. 7, p. 187, 2016.

SHARMA, P.; DUBEY, R. S. Ascorbate peroxidase from rice seedlings: properties of enzyme isoforms, effects of stresses and protective roles of osmolytes. **Plant Science**, v. 167, n. 3, p. 541-550, 2004.

SHARMA, P.; JHA, A. B.; DUBEY, R. S.; PESSARAKLI, M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of botany**, v. 2012, 2012.

TAYEFI-NASRABADI, H.; DEHGHAN, G.; DAEIHASSANI, B.; MOVAFEGI, A.; SAMADI, A. Some biochemical properties of guaiacol peroxidases as modified by salt stress in leaves of salt-tolerant and salt-sensitive safflower (*Carthamus tinctorius* L. cv.) cultivars. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 5, p. 751-763, 2011.

VEJAN, P.; ABDULLAH, R.; KHADIRAN, T.; ISMAIL, S.; NASRULHAQ BOYCE, A. Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability—a review. **Molecules**, v. 21, n. 5, p. 573, 2016.

WANG, C.; GUO, Y.; WANG, C.; LIU, H.; NIU, D.; WANG, Y.; GUO, J. Enhancement of tomato (*Lycopersicon esculentum*) tolerance to drought stress by plant-growth-promoting rhizobacterium (PGPR) *Bacillus cereus* AR156. **Journal of Agricultural Biotechnology**, v. 20, n. 10, p. 1097-1105, 2012.

WANG, X.; LIU, H.; YU, F.; HU, B.; JIA, Y.; SHA, H.; ZHAO, H. Differential activity of the antioxidant defence system and alterations in the accumulation of osmolyte and reactive oxygen species under drought stress and recovery in rice (*Oryza sativa* L.) tillering. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 8543, 2019.

WU, X.; YUAN, J.; LUO, A.; CHEN, Y.; FAN, Y. Drought stress and re-watering increase secondary metabolites and enzyme activity in dendrobium moniliforme. **Industrial Crops and Products**, v. 94, p. 385-393, 2016.

WWF. The Growth of Soy: Impacts and Solutions. **WWF International**, Gland, Switzerland. 96 p. 2014.

ZHU, J. K. Abiotic stress signaling and responses in plants. **Cell**, v. 167, n. 2, p. 313-324, 2016.

ZIA, R.; NAWAZ, M. S.; SIDDIQUE, M. J.; HAKIM, S.; IMRAN, A. Plant survival under drought stress: implications, adaptive responses, and integrated rhizosphere management strategy for stress mitigation. **Microbiological Research**, v. 242, p. 126-626, 2020.