



**BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DA INOCULAÇÃO DE  
MICRORGANISMOS NOS PROCESSOS FISIOLÓGICOS DE  
PLANTAS DE SOJA SUBMETIDAS À SECA**

**Kamila Mendes Batista Alencar**

**Rio Verde – GO**

**2023**

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO  
- CAMPUS RIO VERDE**

**BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DA INOCULAÇÃO DE  
MICRORGANISMOS NOS PROCESSOS FISIOLÓGICOS DE  
PLANTAS DE SOJA SUBMETIDAS À SECA**

**KAMILA MENDES BATISTA ALENCAR**

Monografia apresentada ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde, como requisito parcial para a obtenção do Grau de Bacharela em Ciências Biológicas.

**Orientador (a):** Fernanda dos Santos Farnese

**Corientador (a):** Priscila Ferreira Batista

Rio Verde – GO

Fevereiro, 2023

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP  
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
**Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano**

Aa Alencar, Kamila Mendes Batista  
AVALIAÇÃO DO EFEITO DA INOCULAÇÃO DE  
MICROORGANISMOS NOS PROCESSOS FISIOLÓGICOS DE PLANTAS  
DE SOJA SUBMETIDAS À SECA / Kamila Mendes Batista  
Alencar; orientador Fernanda dos Santos Farnese; co-  
orientador Priscila Ferreira Batista. -- Rio Verde,  
2023.  
28 p.

TCC (Graduação em Bacharelado em Ciências  
Biológicas) -- Instituto Federal Goiano, Campus Rio  
Verde, 2023.

1. Bacillus amyloliquefaciens. 2. Biodefensivos.  
3. Multiceps. 4. Seca. 5. Trichoderma asperellum. I.  
dos Santos Farnese, Fernanda, orient. II. Ferreira  
Batista, Priscila, co-orient. III. Título.

Responsável: Johnathan Pereira Alves Diniz - Bibliotecário-Documentalista CRB-1 nº2376

# TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano a disponibilizar gratuitamente o documento em formato digital no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

## IDENTIFICAÇÃO DA PRODUÇÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA

- |  |   |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Tese (doutorado)            | <input type="checkbox"/> Artigo científico              |
| <input type="checkbox"/> Dissertação (mestrado)      | <input type="checkbox"/> Capítulo de livro              |
| <input type="checkbox"/> Monografia (especialização) | <input type="checkbox"/> Livro                          |
| <input checked="" type="checkbox"/> TCC (graduação)  | <input type="checkbox"/> Trabalho apresentado em evento |

Produto técnico e educacional - Tipo:

Nome completo do autor:

Kamila Mendes Batista Alencar

Matrícula:

2019102230540246

Título do trabalho:

## RESTRIÇÕES DE ACESSO AO DOCUMENTO

Documento confidencial:  Não  Sim, justifique:

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: 30 /04 /2023

O documento está sujeito a registro de patente?  Sim  Não

O documento pode vir a ser publicado como livro?  Sim  Não

## DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O(a) referido(a) autor(a) declara:

- Que o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- Que obteve autorização de quaisquer materiais incluídos no documento do qual não detém os direitos de autoria, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- Que cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Rio Verde, Goiás

Local

01 /02 /2023

Data

*Kamila Mendes Batista Alencar*

Assinatura do autor e/ou detentor dos direitos autorais

Ciente e de acordo:

*Sermanda S. Seramense*

Assinatura do(a) orientador(a)



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA  
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Ata nº 3/2023 - DPGPI-RV/CMPRV/IFGOIANO

### ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CURSO

Ao trigésimo dia do mês de janeiro de 2023, às 8 horas, reuniu-se a banca examinadora composta pelos docentes: Dra. Fernanda dos Santos Farnese (orientadora), Letícia Ferreira Sousa (membro) e Lucas Loram Lourenço, para examinar o Trabalho de Curso intitulado: "Avaliação do Efeito da Inoculação de Microrganismos nos Processos Fisiológicos de Plantas de Soja Submetidas à Seca." apresentado pela estudante Kamila Mendes Batista Alencar, do Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas do IF Goiano – Campus Rio Verde. A palavra foi concedida à estudante para a apresentação oral do Trabalho de Curso, e em seguida, houve arguição da candidata pelos membros da banca examinadora. Após tal etapa, a banca examinadora decidiu pela APROVAÇÃO da estudante. Ao final da sessão pública de defesa foi lavrada a presente ata que segue assinada pelos membros da banca.

*(Assinado Eletronicamente)*

Fernanda dos Santos Farnese  
Orientador(a)

*(Assinado Eletronicamente)*

Letícia Ferreira Sousa  
Membro

*(Assinado Eletronicamente)*

Lucas Loram Lourenço  
Membro

Documento assinado eletronicamente por:

- Lucas Loram Lourenço, Lucas Loram Lourenço - Professor Avaliador de Banca - Instituto Federal Goiano (1), em 30/01/2023 10:48:36.
- Letícia Ferreira de Sousa, 2020102320140161 - Discente, em 30/01/2023 09:55:51.
- Fernanda dos Santos Farnese, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 30/01/2023 09:29:51.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 30/01/2023. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 461421  
Código de Autenticação: dd858758b7



INSTITUTO FEDERAL GOIANO  
Campus Rio Verde  
Rodovia Sul Goiana, Km 01, Zona Rural, 01, Zona Rural, RIO VERDE / GO, CEP 75901-970  
(64) 3624-1000

**Dedico esse trabalho aos meus pais e amigos.**

## **AGRADECIMENTOS**

Passei horas pensando em como expressar em palavras o sentimento de gratidão que tem me contagiado no dia de hoje. Gratidão à Deus, porque sem Ele eu não teria forças para chegar até aqui. Agradeço aos meus amigos, principalmente ao meu amigo/irmão Jose Augusto, que desde o primeiro “oi” na sala de aula houve uma conexão inexplicável. Atos, Igor, Fernanda Destefani, Sthefanny, Valdeir, Jose Augusto pelas idas ao castelinho, em busca de descontração e tentativas de deixar as nossas vidas acadêmicas mais leves, muito obrigada.

Agradeço também à equipe maravilhosa do LEAFv - Laboratório de Estudos Aplicados em Fisiologia Vegetal, Lucas Letícia, Sabrina, Rauander, Priscila, vocês foram essenciais para meu crescimento educacional e profissional, cada ensinamento ficará guardado em minha memória. E também agradeço aos meus orientadores professor Paulo e principalmente a professora Fernanda que desde o primeiro período da faculdade aceitou me orientar e quantos ensinamentos pode passar para mim.

Sou muito grata ao IF Goiano que desde a minha primeira Iniciação Científica concedeu as bolsas de IC.

E por fim agradeço a mim mesma por ter seguido firme e forte nessa caminhada linda que foi a graduação.

Muito obrigada!

## RESUMO

ALENCAR, KAMILA MENDES BATISTA. **Avaliação Do Efeito Da Inoculação De Microrganismos Nos Processos Fisiológicos De Plantas De Soja Submetidas À Seca.** 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Bacharelado em Ciências Biológicas. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – *Campus* Rio Verde, Goiás. Rio Verde Goiás, 2022.

A soja (*Glycine max* L. Merrill) é atualmente a principal leguminosa cultivada no mundo em termos de questões de energia e segurança alimentar. Embora o Brasil seja atualmente o maior produtor de soja do mundo, a produção brasileira é frequentemente comprometida pela ocorrência frequente de veranicos. Nesse contexto a instabilidade climática e a frequência de veranicos pode agravar e comprometer o plantio da soja. Com isso, o uso de bio defensivos multicepa é uma alternativa nova e vem mostrando muita eficácia no estabelecimento de soluções sustentáveis, tolerância aos estresses bióticos e abióticos e no melhoramento de culturas. Para isso, esse estudo utilizou a bactéria *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 (NO-NEMA) e o fungo *Trichoderma asperellum* BV10 (TRICHO-TURBO), bem como a interação desses microrganismos combinados, uma vez que já se tem bons resultados desses aplicados isoladamente, e a forma de aplicação seja inoculado nas sementes antes do plantio ou combinado com aplicação via foliar, foi realizado em casa de vegetação do Instituto Goiano, Campus Rio Verde. As sementes utilizadas foram da cultivar Neo680, plantadas em solo+areia na proporção 2:1, autoclavado e embebidas em um preparado contendo aproximadamente 6 ml de calda em 1 kg de sementes e delineados da seguinte forma: T1 – Controle (plantas irrigadas continuamente); T2 - déficit hídrico (30% de água disponível no solo); T3 - Seca+BV03 inoculado nas sementes (Dose Padrão); T4 - Seca+BV03 inoculado nas sementes + aplicação foliar (Dose Padrão); T5 - Seca+BV03+BV10, ambos inoculados nas sementes (Dose Padrão); e T6 - Seca+ BV03+BV10, ambos inoculados nas sementes e ambos aplicados nas folhas. Foi avaliado parâmetros fisiológicos como: Potencial hídrico da antemãnhã ( $\Psi_{am}$ ) e ao meio dia ( $\Psi_{md}$ ), trocas gasosas ( $A$ ,  $g_s$ ,  $E$ ,  $C_i$ ,  $\phi_{FSII}$  e  $\phi_{FSII}/CO_2$ ), concentração de pigmentos fotossintéticos ( $Chl\ a$   $Chl\ b$  e  $Chl\ total$ ) e extravasamento de eletrólitos (EE). Observou-se que as plantas inoculadas com os microrganismos conseguiram mitigar os efeitos da seca, atenuando os danos mantendo um bom  $\Psi_w$ , com valores de trocas gasosas próximos ao de T1, além de garantir uma boa taxa de EE, garantindo a integridade da membrana. Conclui-se que BV03+BV10 conseguiram mitigar os danos causados pela seca, onde a forma de aplicação consegue dar um incremento nessa proteção.

Palavras-chave: *Bacillus amyloliquefaciens*, Bio defensivos, Multicepa, Seca, *Trichoderma asperellum*.

## ABSTRACT

Soybean (*Glycine max* L. Merrill) is currently the world's leading legume crop in terms of energy and food security issues. Although Brazil is currently the largest soybean producer in the world, Brazilian production is often compromised by the frequent occurrence of dry spells. In this context, climate instability and the frequency of dry spells can aggravate and compromise soybean planting. Thus, the use of multi-strain bio defensives is a new alternative and has been showing great effectiveness in establishing sustainable solutions, tolerance to biotic and abiotic stresses and in crop improvement. For this, this study used the bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 (NO-NEMA) and the fungus *Trichoderma asperellum* BV10 (TRICHO-TURBO), as well as the interaction of these combined microorganisms, since good results have already been obtained from those applied separately, and the form of application, whether inoculated in the seeds before planting or combined with foliar application, was carried out in a greenhouse at Instituto Goiano, Campus Rio Verde. The seeds used were of the Neo680 cultivar, planted in soil+sand in a 2:1 ratio, autoclaved and soaked in a preparation containing approximately 6 ml of syrup in 1 kg of seeds and delineated as follows: T1 – Control (plants continuously irrigated); T2 - water deficit (30% of water available in the soil); T3 - Drought+BV03 inoculated in seeds (Standard Dose); T4 - Drought+BV03 inoculated in seeds + foliar application (Standard Dose); T5 - Drought+BV03+BV10 , both inoculated in the seeds (Standard Dose); and T6 - Dry+ BV03+BV10, both inoculated in the seeds and both applied in the leaves. Physiological parameters were evaluated, such as: Water potential in the morning ( $\Psi_{am}$ ) and at noon ( $\Psi_{md}$ ), water changes gaseous ( $A$ ,  $g_s$ ,  $E$ ,  $C_i$ ,  $\phi_{FSII}$  and  $\phi_{FSII}/CO_2$ ), concentration of photosynthetic pigments (Chl a Chl b and total Chl) and electrolyte leakage (EE). It was observed that the plants inoculated with the microorganisms were able to mitigate the effects of drought, attenuating the damage, maintaining a good  $\Psi_w$ , with gas exchange values close to that of T1, in addition to guaranteeing a good rate of EE, guaranteeing the integrity of the membrane. It is concluded that BV03+BV10 managed to mitigate the damage caused by drought, where the form of application manages to increase this protection.

Keywords: *Bacillus amyloliquefaciens*, Bio defensives, Multicepa, Seca, *Trichoderma asperellum*.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1** – Potencial hídrico na antemanhã (A) e ao meio dia (B) em plantas *Glycine max* submetidas à seca, tratadas e não tratadas com *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 e *Trichoderma asperellum* BV10. T1 – Controle; T2 - Seca (30% de água disponível no solo); T3 - Seca+BV03; T4 - Seca+BV03; T5 - Seca+BV03+BV10; e T6 - Seca+ BV03+BV10. Barra azul significa controle e barras marrom significa seca, onde barras com pontilhados são plantas inoculadas com microrganismos e com (\*\*\*) são plantas com inoculantes e aplicação via foliar. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si de acordo com o teste SNK a 0,05 % de probabilidade. As barras estatísticas indicam o desvio padrão entre os tratamentos. (Pág. 13).

**Figura 2** – Determinação de clorofila a (A); Clorofila b (B); e clorofilas totais (C); em plantas *Glycine max* submetidas à seca, tratadas e não tratadas com *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 e *Trichoderma asperellum* BV10. T1 – Controle; T2 - Seca (30% de água disponível no solo); T3 - Seca+BV03; T4 - Seca+BV03; T5 - Seca+BV03+BV10; e T6 - Seca+ BV03+BV10. Barra azul significa controle e barras marrom significa seca, onde barras com pontilhados são plantas inoculadas com microrganismos e com (\*\*\*) são plantas com inoculantes e aplicação via foliar. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si de acordo com o teste SNK a 0,05 % de probabilidade. As barras estatísticas indicam o desvio padrão entre os tratamentos. (Pág. 14).

**Figura 3** – Análises de parâmetros fisiológicos. Eficiência fotoquímica do transporte de elétrons associado ao fotossistema II ( $\phi$ FSII) Taxa de assimilação líquida de carbono (A); Razão entre a taxa de transporte de elétrons no fotossistema II e eficiência quântica de assimilação de carbono ( $\phi$ FSII/ $\phi$ CO<sub>2</sub>) (B); taxa de assimilação líquida de carbono (A) (C); Condutância estomática ( $g_s$ ) (D); Taxa transpiratória (E) (E); e Concentração interna de carbono (Ci) (F) em plantas *Glycine max* submetidas à seca, tratadas e não tratadas com *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 e *Trichoderma asperellum* BV10. T1 – Controle; T2 - Seca (30% de água disponível no solo); T3 - Seca+BV03; T4 - Seca+BV03; T5 - Seca+BV03+BV10; e T6 - Seca+ BV03+BV10. Barra azul significa controle e barras marrom significa seca, onde barras com pontilhados são plantas inoculadas com microrganismos e com (\*\*\*) são plantas com inoculantes e aplicação via foliar. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si de acordo com o teste SNK a 0,05 % de probabilidade. As barras estatísticas indicam o desvio padrão entre os tratamentos. (Pág. 16).

**Figura 4** – Taxa de extravasamento de eletrólitos em plantas *Glycine max* submetidas à seca, tratadas e não tratadas com *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 e *Trichoderma asperellum* BV10. T1 – Controle; T2 - Seca (30% de água disponível no solo); T3 - Seca+BV03; T4 - Seca+BV03; T5 - Seca+BV03+BV10; e T6 - Seca+ BV03+BV10. Barra azul significa controle e barras marrom significa seca, onde barras com pontilhados são plantas inoculadas com microrganismos e com (\*\*\*) são plantas com inoculantes e aplicação via foliar. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si de acordo com o teste SNK a 0,05 % de probabilidade. As barras estatísticas indicam o desvio padrão entre os tratamentos. (Pág. 17).

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$\Psi_w$  – Potencial Hídrico

ROS – Espécies Reativas de Oxigênio

MPCP – Microrganismos promotores de Crescimento de Plantas

BV03 – *Bacillus amyloliquefaciens*

BV10 – *Trichoderma asperellum*

$g_s$  – Condutância estomática

$A$  – Taxa fotossintética

$E$  – Taxa transpiratória

CC – Capacidade de campo

$\Psi_{am}$  – Potencial hídrico da antemanhã

$\Psi_{md}$  – Potencial hídrico do meio dia

$\phi_{FSII}$  – Eficiência fotoquímica do transporte de elétrons associado ao fotossistema II

$\phi_{FSII}/CO_2$  – Razão entre a taxa de transporte de elétrons no fotossistema II e eficiência quântica de assimilação de carbono

$C_i$  – Concentração interna de  $CO_2$

EE - Extravasamento de eletrólitos

DH – Déficit hídrico

## SUMÁRIO

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO .....</b>  | <b>7</b>  |
| <b>2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>  | <b>10</b> |
| <b>2.1 Inoculação e Aplicação Foliar dos Microrganismos .....</b>          | <b>10</b> |
| <b>2.2 Potencial Hídrico (<math>\Psi_w</math>).....</b>                    | <b>11</b> |
| <b>2.3 Índice Relativo de Clorofila (IRC).....</b>                         | <b>11</b> |
| <b>2.4 Trocas Gasosas .....</b>  | <b>11</b> |
| <b>2.5 Extravasamento de Eletrólitos.....</b>                              | <b>11</b> |
| <b>2.6 Análises Estatísticas .....</b>                                     | <b>12</b> |
| <b>3 RESULTADOS.....</b>   | <b>12</b> |
| <b>3.1 Relações Hídricas .....</b>   | <b>12</b> |
| <b>3.2 Determinação da concentração de pigmentos fotossintéticos .....</b> | <b>13</b> |
| <b>3.3 Trocas gasosas .....</b>  | <b>14</b> |
| <b>3.4 Extravasamento de Eletrólitos.....</b>                              | <b>17</b> |
| <b>4 DISCUSSÃO .....</b>   | <b>17</b> |
| <b>5 CONCLUSÃO .....</b>   | <b>21</b> |
| <b>7 REFERÊNCIAS.....</b>  | <b>22</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

Dentre todas as leguminosas cultivada no mundo a soja (*Glycine max* L. Merrill) é uma das culturas com o maior nível econômico, possuindo uma importância em termos de segurança alimentar (BANDILLO et al., 2017). A soja se destaca sendo uma leguminosa cultivada altamente proteica e rica em óleos vegetais, assim se tornando um alimento básico para os humanos e outros animais, com ênfase na agropecuária (YIN et al., 2014; CHEN et al., 2018; ZHANG, 2017). A soja também possui importância medicinal, de acordo com Ferreira et al., (2022) a soja possui moléculas como isoflavonas que estão sendo utilizadas como medicamento fitoterápico pela indústria farmacêutica, além de servir como matéria prima para a produção de biocombustível (ZHANG, 2017).

No Brasil a soja é a principal cultura que move a economia do país, sendo representada com a maior área cultivada em relação aos demais cultivos (CONAB, 2022). Estima-se que haja um crescimento na produção de soja brasileira de 2,6% ao ano até 2026, em contrapartida a uma média de 1,9% na produção mundial (OECD, 2017). Atualmente o Brasil é o maior produtor e exportador de soja no mundo. Na safra de 2020/2021 o Brasil produziu 138 milhões de toneladas de soja, ocupando aproximadamente 39 milhões de hectares de área plantada, segundo demonstra o estudo da CONAB, apresentado em julho de 2022. O estudo traz ainda que, a produtividade do plantio do grão no país é de 3.525 kg/ha.

No entanto apesar de o Brasil possuir um clima favorável e atualmente ser o maior produtor e exportador de soja no mundo, a produção brasileira é frequentemente comprometida pela ocorrência frequente de veranicos (manifestações de estiagem prolongadas no período da estação chuvosa). Na safra 2020/2021, o Paraná sofreu grande queda na produtividade devido à ocorrência de secas, enquanto na safra 2020/2021 regiões do Rio Grande do Sul apresentaram diminuição de até 60% na produção devido à ocorrência de veranicos e conseqüentemente o estresse hídrico (CONAB, 2020). Segundo Tardieu, Simonneau e Muller (2018) o déficit hídrico resulta da disponibilidade insuficiente de água no solo para atender à demanda de uma planta em um determinado momento. O déficit hídrico afeta uma grande porção de funções da planta, como transpiração, fotossíntese, crescimento de folhas e raízes e

desenvolvimento reprodutivo. Também impacta os processos fisiológicos subjacentes, incluindo a divisão celular, hidráulica, mecânica da parede celular, comprometendo o metabolismo além da geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) que são uma das principais moléculas causadoras de danos nas membranas celulares. Segundo Batista et al (2019) os danos decorrentes do déficit hídrico se tornam mais intensos com as oscilações climáticas, ocorrendo durante períodos de veranicos e secas prolongadas e causando grandes perdas nas lavouras. Essas perdas contribuem para diminuir a competitividade do produto brasileiro quando comparado a outros países, como Argentina e EUA.

Uma das principais estratégias em resposta à seca consiste no fechamento estomático, com conseqüente redução da condutância estomática ( $g_s$ ), que contribui sobretudo para o aumento ou para a manutenção do potencial hídrico ( $\Psi_w$ ) dentro de limites que sustentem o metabolismo celular (MARCOS et al., 2018). A redução de  $g_s$ , no entanto, leva a um menor influxo de  $CO_2$  para o interior dos cloroplastos, causando reduções nas taxas fotossintéticas devido às limitações difusivas (SHEN et al., 2015). Diversos estudos já demonstraram que as taxas de  $g_s$  e, conseqüentemente, de fotossíntese, são diretamente influenciadas pela capacidade de uma planta em transportar água das raízes até os tecidos transpirantes. Nesse sentido, a condutividade hidráulica da planta é considerada fator preponderante para a manutenção do processo fotossintético (SCOFFONI, 2012). Sendo assim, considerando a importância da soja para a segurança alimentar e nutricional, juntamente com o aumento populacional e as mudanças climáticas, tem-se havido a necessidade de busca por alternativas para aumentar a produção de soja, procurando estratégias para que essa a soja seja mais resistente a períodos de estiagem hídrica.

A rizosfera possui um sistema biológico complexo e dinâmico, onde os microrganismos realizam a degradação de praticamente todos os compostos orgânicos, realizando assim a reciclagem desses compostos (NANNIPIERI et al., 2017). No solo, as plantas interagem com os microrganismos ali presente oferecendo um ambiente bastante específico para o desenvolvimento e crescimento natural de comunidades microbianas. Durante o processo evolutivo, essas comunidades desenvolveram habilidades e estratégias que possibilitaram

sua interação com as plantas (WANG et al., 2017). Essas interações podem trazer benefícios, portanto, sem causar danos para as plantas, ou podem trazer malefícios, quando microrganismos patogênicos provocam desequilíbrio bioquímico e fisiológico nas plantas, gerando diferentes tipos de doenças (ÁLVAREZ et al., 2016). De acordo com Camargo et al., (2019) os (MPCP – Microrganismos Promotores de Crescimento em Plantas) são microorganismos que colonizam diversos órgãos vegetais e que, através da produção de hormônios e outras moléculas alteram o metabolismo da planta, otimizando o seu crescimento e desenvolvimento. Podendo aumentar o rendimento e produtividade em plantas cultivadas (SHEIRDIL et al., 2019).

Dentre vários microrganismos que tem sido caracterizado como capazes de incrementar o crescimento vegetal, destaca-se aqui bactérias do gênero *Bacillus* e fungos do gênero *Trichoderma*, os quais exibem capacidade de fixação e solubilização de nutrientes essenciais e fornecem metabólitos envolvidos no mecanismo de tolerância aos estresses abióticos (CHAGAS et al., 2017; SU et al., 2017, CAMARGO et al., 2019). Alguns estudos já relataram, inclusive, que alguns desses microorganismo, como a bactéria *Bacillus amyloliquefaciens* e o fungo *Trichoderma asperellum*, são capazes de aumentar o crescimento das plantas mesmo em condições de estresses abióticos além de ajudar na resistência das culturas a estresses bióticos (CHAGAS et al., 2017; SILVA, 2019).

Segundo Santin (2008), “devido ao impacto ambiental, a baixa eficiência e alto custo” do controle químico, “torna-se necessário estudar alternativas de controle, as quais possam ser utilizadas como novas estratégias e, assim, reduzir os prejuízos”. Portanto utilizar multicepas de microrganismos apresenta-se como uma solução inovadora, com um baixo custo financeiro e, portanto, mais acessível ao grande e médio produtor, visto que tecnologias que buscam o melhoramento genético de plantas tem um valor aquisitivo muito alto, se tornando inviável. Diante disso, uma abordagem ecológica que pode vir a gerar melhoria na produção de importantes oleaginosas em condições de estresses abióticos consiste no uso de microrganismos presentes no solo e em simbiose com as plantas (SATHYA et al., 2017; SHEIRDIL, 2019).

Apesar dos resultados prévios promissores, no entanto, ainda são necessários estudos que avaliem a melhor forma de aplicação, dose recomendada, bem como o possível efeito benéfico da interação entre diferentes microrganismos, a fim de gerar uma metodologia eficiente para a aplicação em campo. O presente trabalho propôs a caracterização de dois microrganismos comercializados pelo grupo Vittia: *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 (NO-NEMA) e *Trichoderma asperellum* BV10 (TRICHO-TURBO), bem como a interação desses microrganismos combinados, uma vez que já se tem bons resultados desses aplicados isoladamente, e a forma de aplicação seja inoculado nas sementes antes do plantio ou combinado com aplicação via foliar.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

O presente trabalho foi realizado em casa de vegetação do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Campus Rio Verde. As sementes utilizadas foram da cultivar Neo680 com ciclo de vida super precoce possuindo um alta produtividade em um curto período de tempo, estas foram semeadas em vasos, com solo+areia na proporção 2:1 e em seguida foi autoclavado a fim de garantir a permanência apenas dos microrganismos estudados. Quando atingiram o estágio V3 as plantas foram submetidas aos seguintes tratamentos: T1 – Controle; T2 – Seca; T3 - Seca+BV03 inoculado nas sementes (Dose Padrão); T4 – Seca+BV03 inoculado nas sementes + aplicação foliar (Dose Padrão); T5 - Seca+BV03+BV10, ambos inoculados nas sementes (Dose Padrão) e T6 - Seca+ BV03+BV10, ambos inoculados nas sementes e ambos aplicados nas folhas.

As plantas controles permaneceram permanentemente irrigadas, enquanto as plantas expostas à seca foram submetidas à suspensão gradual da irrigação, até que o solo atingisse 30% da capacidade de campo (CC) (seca severa). As plantas em DH permaneceram nessas condições durante 10 dias.

### **2.1 Inoculação e Aplicação Foliar dos Microrganismos**

As sementes foram inoculadas com os microrganismos antes da germinação, pelo método da homogeneização em calda contendo aproximadamente 6 ml de calda em 1 kg de sementes. A aplicação foliar foi realizada no primeiro dia de seca nos tratamentos adequados, utilizando a dose padrão recomendada pela bula, com o auxílio de um borrifador comercial

simples. No último dia de seca foram avaliados os parâmetros fisiológicos descritos nas seções subsequentes.

## **2.2 Potencial Hídrico ( $\Psi_w$ )**

O potencial hídrico foliar foi determinado em folhas individuais de cada um dos tratamentos, ao final dos 10 dias de seca com o auxílio de bomba de pressão tipo Scholander, na antemanhã (04:30 h – 05:30) ( $\Psi_{am}$ ) e ao meio-dia ( $\Psi_{md}$ ).

## **2.3 Índice Relativo de Clorofila (IRC)**

A avaliação do Índice Relativo de Clorofila (IRC) foi determinada pelo aparelho ClorofiLOG<sup>®</sup> da empresa Falker<sup>®</sup> (FALKER, Porto Alegre, Brasil) ao final dos 10 dias de seca. As medições foram realizadas em três folhas trifoliadas individuais, completamente desenvolvidas, de cada tratamento para obtenção dos valores de clorofila a, b e clorofilas totais.

## **2.4 Trocas Gasosas**

Os dados de trocas gasosas foram obtidos com o uso de um leitor de gases a infravermelho (LI-6800, Li-Cor Inc., Nebraska, EUA) e analisados seguindo o proposto por Maxwell e Jhonson (2000). Com esses parâmetros, foram calculados a eficiência fotoquímica do transporte de elétrons associado ao fotossistema II ( $\phi_{FSII}$ ), a razão entre a taxa de transporte de elétrons no fotossistema II e eficiência quântica de assimilação de carbono ( $\phi_{FSII}/\phi_{CO_2}$ ). A taxa de assimilação líquida do carbono ( $A$ ), a condutância estomática ( $g_s$ ), a concentração interna de CO<sub>2</sub> ( $C_i$ ) e a taxa transpiratória ( $E$ ), foi determinada em sistema aberto, sob luz saturante (1000  $\mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), com o analisador de gases a infravermelho supracitado.

## **2.5 Extravasamento de Eletrólitos**

Para avaliação da integridade das membranas celulares, 10 discos foliares foram retirados de cada planta, os quais foram lavados previamente (2 vezes) em água desionizada. A seguir, os discos foram colocados para flutuar em frascos contendo 30 ml de água desionizada. As amostras foram incubadas por 24 h, à temperatura ambiente, e a condutividade inicial (livre) (CL) foi avaliada utilizando o Conductivity Meter (Modelo Instrutherm CD-850). A seguir esses frascos foram colocados na estufa a 100°C, onde permaneceram por 1 h, período após o qual a leitura foi feita novamente para determinar a condutividade

máxima (total) (CT). A taxa de extravasamento de eletrólitos (TEE) foi calculada de acordo com a fórmula proposta por Lutts et al. (1996):

$$\text{TEE (\%)} = (\text{CL}/\text{CT}) * 100$$

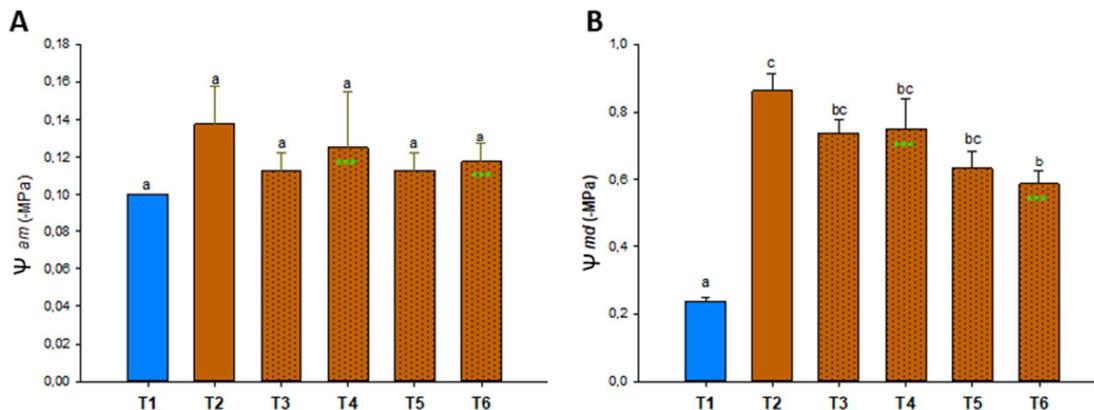
## 2.6 Análises Estatísticas

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com cinco repetições. Cada tratamento foi avaliado individualmente, sendo todos os dados submetidos à ANOVA e as médias calculadas pelo teste SNK (Student Newman Keuls), a 5% de probabilidade.

## 3 RESULTADOS

### 3.1 Relações Hídricas

A exposição das plantas de soja a 10 dias de seca promoveu alterações nas relações hídricas (Fig. 1). Não foi observado diferença significativa no  $\Psi_{am}$  entre os tratamentos, indicando uma ótima manutenção do status hídrico mesmo as plantas em DH, pelo fato do  $\Psi_{am}$  mostrar o deslocamento do potencial químico (energia livre) entre as células na sua forma basal (Fig. 1A). No entanto, ao observar-se o  $\Psi_{md}$ , foi possível observar que as plantas expostas apenas à seca (T2) apresentaram valores marcadamente menores em comparação ao controle, indicando um menor status hídrico em relação as plantas controle (Fig. 1B). Com efeito, a adição de microrganismos apresentou tendência a melhorar o status hídrico das folhas, no entanto, sem diferenças estatísticas entre si, exceto ao tratamento T6 (BV03+BV10, ambos inoculados nas sementes e com a aplicação via foliar), apresentando maiores valores de  $\Psi_{md}$  em comparação as plantas apenas na seca (T2), estando um pouco mais do controle.



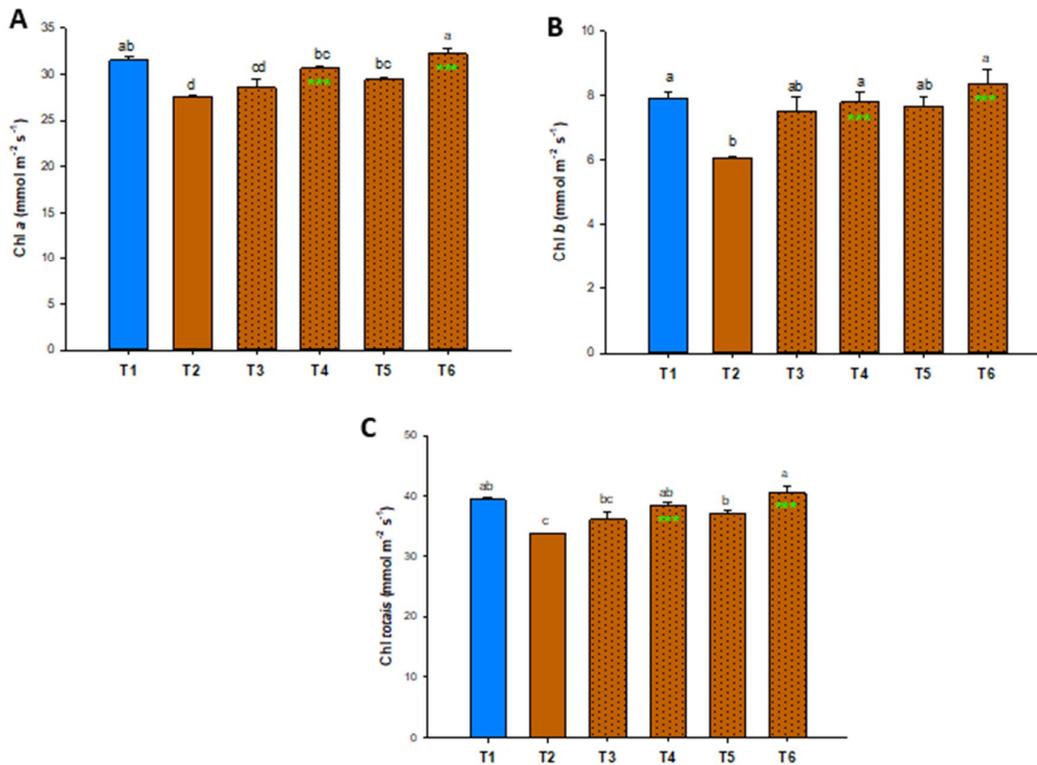
**Figura 1** – Potencial hídrico na antemã (A) e ao meio dia (B) em plantas *Glycine max* submetidas à seca, tratadas e não tratadas com *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 e *Trichoderma asperellum* BV10. T1 – Controle; T2 - Seca (30% de água disponível no solo); T3 - Seca+BV03; T4 - Seca+BV03; T5 - Seca+BV03+BV10; e T6 - Seca+ BV03+BV10. Barra azul significa controle e barras marrom significa seca, onde barras com pontilhados são plantas inoculadas com microrganismos e com (\*\*\*) são plantas com inoculantes e aplicação via foliar. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si de acordo com o teste SNK a 0,05 % de probabilidade. As barras estatísticas indicam o desvio padrão entre os tratamentos.

### 3.2 Determinação da concentração de pigmentos fotossintéticos

A exposição aos tratamentos promoveu alteração na concentração de pigmentos fotossintéticos (Fig. 3). A concentração de clorofila a (Chl a) foi menor nos tratamentos T2 (apenas seca) e T3 (Seca+BV03 nas sementes) em relação ao controle (T1) (Fig. 3A). Notou-se também que nos demais tratamentos com os microrganismos (T4, T5 e T6) as concentrações de clorofila a foi superior ao T2, estando estatisticamente igual ao controle. Mostrando que os microrganismos conseguiram atenuar a queda nas taxas de clorofila a, com ênfase no tratamento T6 (BV03+BV10 inoculados nas sementes e aspergidos nas folhas), em comparação as plantas apenas na seca (Fig. 3A).

O mesmo padrão foi observado em relação a concentração de clorofila b e novamente o tratamento T6, com menor concentração deste pigmento em relação ao controle, enquanto os tratamentos com microrganismos aplicados nas sementes e folhas (T4 e T6) apresentaram maiores pigmentos entre os tratamentos (Fig. 3B). Logo, a concentração de clorofilas totais (Chl totais) notou-se que as plantas submetidas à seca sem os inoculantes (T2) obteve um declínio quando comparado com o tratamento controle (T1). Já as plantas submetidas a

seca com os inoculantes se mostrou mais expressantes comparado com o tratamento T2 seca sem os inoculantes, com exceção de T3 - Seca+BV03, que não se diferiu estatisticamente de T2. Um respaldo para o tratamento T6 que mostrou valores equivalentes as plantas T1 (controle com as plantas irrigadas) (Fig. 3C).



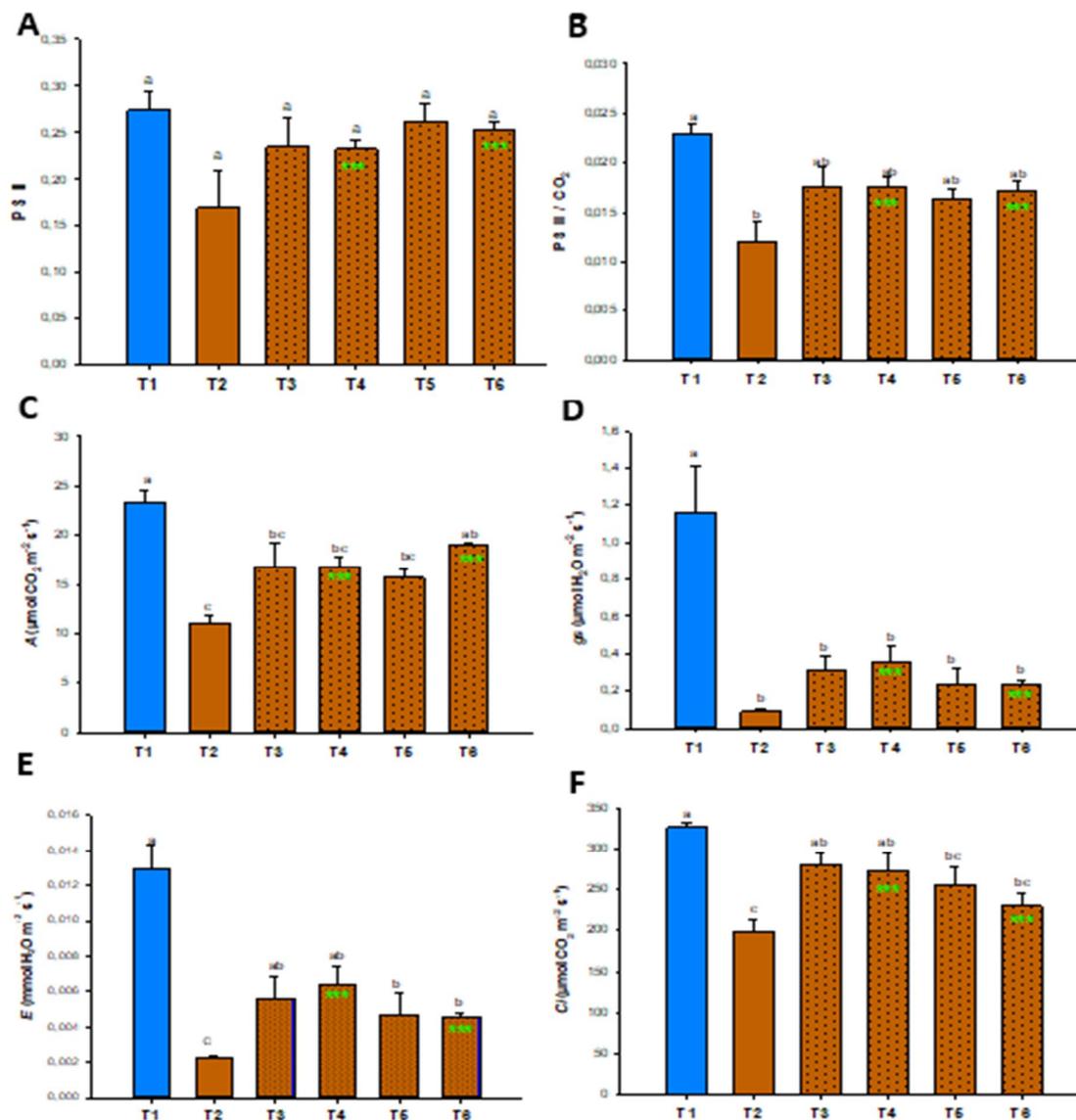
**Figura 2** – Determinação de clorofila *a* (A); Clorofila *b* (B); e clorofilas totais (C); em plantas *Glycine max* submetidas à seca, tratadas e não tratadas com *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 e *Trichoderma asperellum* BV10. T1 – Controle; T2 - Seca (30% de água disponível no solo); T3 - Seca+BV03; T4 - Seca+BV03; T5 - Seca+BV03+BV10; e T6 - Seca+ BV03+BV10. Barra azul significa controle e barras marrom significa seca, onde barras com pontilhados são plantas inoculadas com microrganismos e com (\*\*\*) são plantas com inoculantes e aplicação via foliar. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si de acordo com o teste SNK a 0,05 % de probabilidade. As barras estatísticas indicam o desvio padrão entre os tratamentos.

### 3.3 Trocas gasosas

A exposição das plantas a seca afetou os processos fisiológicos analisados. Cabe ressaltar ainda que, apesar das plantas não apresentarem diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos na taxa de transporte de elétrons ( $\phi$ FSII) (Fig. 3A), a razão entre a taxa de transporte de elétrons no

fotossistema II e eficiência quântica de assimilação de carbono ( $\phi_{FSII}/\phi_{CO_2}$ ) mostrou que as plantas apenas em seca gastavam muito mais energia para assimilar carbono enquanto nas plantas tratadas com os microrganismos esse parâmetro permaneceu similar ao controle (Fig. 3B).

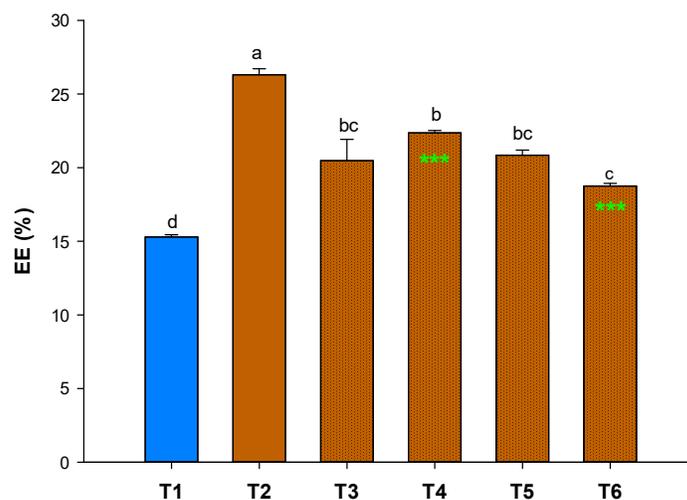
Observou-se que as plantas que foram expostas à seca sozinha (T2) tiveram a taxa de assimilação líquida de carbono ( $A$ ) impactada negativamente quando comparada com as plantas controles (T1), com aumento significativo dos níveis de  $A$  com a adição dos microrganismos, sendo mais expressivo no tratamento T6, não diferindo do controle (Fig. 3C). Notou-se também que todas as plantas de soja em déficit hídrico, com ou sem os microrganismos BV03 isolados ou combinados com o BV10, apresentaram baixa  $g_s$  (Fig. 3D), com conseqüente decréscimo na taxa transpiratória ( $E$ ) das plantas em seca, com exceção nas plantas tratadas apenas com a bactéria BV03 (T3 e T4), não diferindo do controle (Fig. 3E). Também foi observado que as plantas tratadas apenas com a BV03 apresentaram uma maior taxa de concentração interna de carbono ( $C_i$ ) em relação as plantas expostas à seca sem os microrganismos e as plantas inoculadas com BV03+BV10 não se diferiram estatisticamente das plantas T2 (apenas em seca) nas concentrações de  $C_i$  (Fig. 3F).



**Figura 3** – Análises de parâmetros fisiológicos. Eficiência fotoquímica do transporte de elétrons associado ao fotossistema II ( $\phi$ FSII) Taxa de assimilação líquida de carbono (**A**); Razão entre a taxa de transporte de elétrons no fotossistema II e eficiência quântica de assimilação de carbono ( $\phi$ FSII/ $\phi$ CO<sub>2</sub>) (**B**); taxa de assimilação líquida de carbono (A) (**C**); Condutância estomática (g<sub>s</sub>) (**D**); Taxa transpiratória (E) (**E**); e Concentração interna de carbono (C) (**F**) em plantas *Glycine max* submetidas à seca, tratadas e não tratadas com *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 e *Trichoderma asperellum* BV10. T1 – Controle; T2 - Seca (30% de água disponível no solo); T3 - Seca+BV03; T4 - Seca+BV03; T5 - Seca+BV03+BV10; e T6 - Seca+ BV03+BV10. Barra azul significa controle e barras marrom significa seca, onde barras com pontilhados são plantas inoculadas com microrganismos e com (\*\*\*) são plantas com inoculantes e aplicação via foliar. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si de acordo com o teste SNK a 0,05 % de probabilidade. As barras estatísticas indicam o desvio padrão entre os tratamentos.

### 3.4 Extravasamento de Eletrólitos

Com os resultados obtidos foi possível observar que os danos em membranas, de acordo com o parâmetro de extravasamento de eletrólitos, se mostraram mais expresso nas plantas expostas a seca sem os inoculantes (T2) apresentando 26,30% de extravasamento de eletrólitos (EE) quando comparado com T1 com uma taxa de 15,29% de EE. Já nas plantas em seca com os microrganismos, notou-se valores constantes havendo uma mitigação dos danos de membrana, com ênfase novamente no tratamento T6, no qual foram observados os menores valores, cerca de 18,74% para taxa de extravasamento de eletrólitos (Fig. 4).



**Figura 4** – Taxa de extravasamento de eletrólitos em plantas *Glycine max* submetidas à seca, tratadas e não tratadas com *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 e *Trichoderma asperellum* BV10. **T1** – Controle; **T2** - Seca (30% de água disponível no solo); **T3** - Seca+BV03; **T4** - Seca+BV03; **T5** - Seca+BV03+BV10; e **T6** - Seca+ BV03+BV10. Barra azul significa controle e barras marrom significa seca, onde barras com pontilhados são plantas inoculadas com microrganismos e com (\*\*\*) são plantas com inoculantes e aplicação via foliar. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si de acordo com o teste SNK a 0,05 % de probabilidade. As barras estatísticas indicam o desvio padrão entre os tratamentos.

## 4 DISCUSSÃO

Os promotores de crescimento de plantas (MPCP) vêm sendo utilizados na agricultura como uma alternativa de manejo eficiente e economicamente

viável, para obtenção de maior resistência a estresses bióticos e abióticos, maior produtividade e redução de custos. As bactérias do gênero *Bacillus* são bastante estudadas para fins agronômicos e incluem uma vasta variedade de MPCP, que auxiliam na mitigação dos efeitos de estressores bióticos e abióticos (GAGNÉ-BOURQUE, et al. 2015). Estudos vêm mostrando eficiência da espécie *B. amyloliquefaciens* (BV03) no crescimento e resistência a estressores, principalmente à seca (SILVA, 2019; KORBER et al, 2021). Outro MPCP que é alvo de estudos é o fungo *Trichoderma asperellum* (BV10) que atuam tanto no controle de patógenos vegetais radiculares ou habitantes do solo e também atuam como promotores de crescimento vegetal (MASCARIN et al., 2019).

No entanto, apesar da eficiência do uso isolado desses MPCP já ter sido demonstrada, pouco se sabe sobre a eficiência e benefícios em parâmetros fisiológicos vegetal causados com a interação desses microrganismos. Com isso, este estudo buscou explicar a interação desses biodefensivos bem como a forma de aplicação mais eficaz para elucidar o potencial destes microrganismos na atenuação dos efeitos danosos da seca em plantas de soja, demonstrando o papel da cepa de BV03 isolada e com a adição de BV10, na conservação do status hídrico avaliando o  $\Psi_w$  dos tecidos da soja e também na manutenção e proteção do aparato fotossintético, avaliando o teor de pigmentos fotossintetizantes correlacionando com parâmetros de trocas gasosas e assim avaliar o grau de dano nas membranas em plantas expostas à seca

Segundo Silva et al, (2010), um dos principais danos causados em plantas pela exposição à seca é a redução no  $\Psi_w$ . A redução desse parâmetro pode atingir níveis onde a planta não consiga garantir um status hídrico suficiente para suprir os processos fisiológicos de seu metabolismo. No presente estudo, a exposição das plantas à seca não tenha acarretado diferença significativa no  $\Psi_{am}$  entre os tratamentos, uma vez que isso indica um equilíbrio na manutenção do metabolismo basal das plantas. Observou-se também que a seca afetou negativamente o grau de hidratação das plantas apresentando um  $\Psi_{md}$  mais negativo que as plantas controles, indicando que devido à seca houve um acúmulo de substâncias osmoticamente ativas causando uma queda no  $\Psi_w$  (ALBUQUERQUE et al., 2013). Contudo os tratamentos com microrganismos, no entanto, se mostraram capazes de atenuar esse dano, sobretudo T6 (Seca+

BV03+BV10, ambos inoculados nas sementes e ambos aplicados nas folhas). Notou-se que os microrganismos corroboraram para a uma melhor absorção e eficiência do uso da água, uma vez que estudos já demonstraram que alguns MPCP secretam solutos/osmólitos para as plantas quando em estresse para evitar a dessecação dos seus tecidos assim garantindo um ajuste no potencial osmótico e hídrico (VURUKONDA et al., 2016).

A seca reduz principalmente o sistema fotossintético, causando um desequilíbrio entre a captação e utilização da luz, reduzindo a atividade da Rubisco e a quantidade de pigmentos fotossintéticos, inibindo a área foliar e danificando o aparato fotossintético (FAROOQ et al., 2019). Os pigmentos primários nos sistemas de absorção de luz são *Chl a* e *Chl b*, e seu equilíbrio contribui para a manutenção da homeostase dentro da célula (FERREIRA, et al., 2019) e acordo com Anderson e colaboradores (2008), o equilíbrio no conteúdo e proporção de clorofila na membrana do cloroplasto é um pré-requisito importante para o bom funcionamento do aparato fotossintético. Um aumento no teor de *Chl* na seca aponta para a reorganização dos pigmentos fotossintéticos para melhor lidar com condições estressantes (LIMA, et al., 2011). Nesse estudo notou-se que a seca causou uma diminuição na quantidade de pigmentos, no entanto as plantas inoculadas conseguiram manter valores mais altos que T2 comparação nas plantas apenas em seca. É interessante observar que as plantas com BV03+BV10 (ambas tratadas nas sementes e folhas) (T6) tiveram uma otimização do conteúdo de *Chl a* e *Chl b* e *Chl totais* iguais as plantas controle (T1) (Fig. 2C). Comparando esses dados na literatura, o trabalho de Kim et al, (2017) também trabalharam com *B. amyloliquefaciens* em plantas de soja submetidas à salinidade, em um de seus tratamentos inoculados foi possível observar um aumento no teor de clorofila, (o mesmo aconteceu no presente trabalho com estresse hídrico) indicando que os inoculantes garantiram o bom funcionamento e manutenção do aparato fotossintético. (SAMANIEGO-GÁMEZ et al., 2016).

O presente estudo não mostrou diferenças entre os tratamentos na taxa de transporte de elétrons ( $\Phi_{PSII}$ ), entretanto a relação de entre a taxa de transporte de elétrons e a fixação de  $CO_2$  ( $\Phi_{PSII}/\Phi_{CO_2}$ ) mostrou que os microrganismos foram capazes de manter um alto consumo de elétrons, e que

provavelmente eram direcionados para diferentes processos de fixação de CO<sub>2</sub> nas plantas expostas à seca. Em contrapartida T2 apresentou valores baixos de  $\Phi_{PSII}/\Phi_{CO_2}$ , indicando que a soja em seca sem os inoculantes podem estar desviando CO<sub>2</sub> para rotas prejudiciais como fotorrespiração e a redução do oxigênio molecular, podendo gerar espécies reativas de oxigênio (ROS) (SINGH et al., 2019; Taiz et al., 2017).

A seca ainda provoca diversas alterações no metabolismo das células vegetais que, após certo tempo, se manifestam por alterações fisiológicas no crescimento, desenvolvimento e funções do organismo. O principal efeito do estresse causado pela deficiência hídrica é o fechamento dos estômatos, resultando na diminuição da concentração e assimilação de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e na diminuição da transpiração (BARICKMAN, et al., 2021). Quando expostas à seca as plantas (T1) apresentaram um declínio acentuado em *A* o que pode ser explicado pela baixa concentração de pigmentos fotossintéticos e conseqüentemente houve a queda de *g<sub>s</sub>*, na taxa transpiratória e em *C<sub>i</sub>*. No entanto os tratamentos com os inoculantes T3, T4, T5 e T6 foram capazes de mitigar os danos a seca, uma vez que conseguiram manter uma taxa de assimilação de carbono relativamente alta mesmo apresentando um *g<sub>s</sub>* baixo e conseqüentemente uma taxa transpiratória baixa. Esses resultados se tornam interessantes do ponto de vista econômico, pois mesmo com restrição hídrica a soja com BV03 e BV0+BV10 conseguiram manter a taxa de *A* em limites ótimos para a assimilação de carbono, mesmo com os estômatos fechados garantindo uma baixa perda de água por *E*. Isso pode garantir com que a produtividade desse grão mesmo as plantas passando por secas inesperadas. O fato de as plantas em seca com os inoculantes estarem com alta concentra de *C<sub>i</sub>* mesmo com os estômatos fechado, pode ser um agravante caso houvesse danos no aparato da cadeia transportadora de elétrons, gerando uma sobrecarga no PSII e assim gerando espécies reativas de oxigênio (ROS) o que pode causar sérios danos nas membranas celulares (Taiz et al., 2017).

Em relação a taxa de extravasamento de eletrólitos (EE), plantas submetidas à seca tendem a diminuir o potencial hídrico, podendo levar a alta produção de ROS levando a danos nas membranas celulares. Notou-se que as plantas do tratamento T1, como era de se esperar apresentaram valores baixos

cerca de 15,29% e as T2 que estavam em seca e sem inoculantes apresentaram um alto valor de EE (26,30%), indicando danos nas membranas celulares. Já os tratamentos T3, T4 e T5 conseguiram mitigar os danos mantendo valores lineares por volta de 20%, valores esses que quando comparados com T1 e T2 mostrou um efeito atenuante aos danos da seca e o tratamento T6 mostrou uma melhor mitigação na taxa de EE (18,74%), indicando que entre os tratamentos além da combinação dos microrganismos a forma de aplicação também influencia na mitigação dos danos (Fig. 4). As ROS são geradas como produtos naturais do metabolismo celular fotossintético e aeróbico da planta. Em baixas concentrações, as ROS podem servir como moléculas de sinalização na via de transdução de sinal redox de plantas. No entanto, a superprodução de ROS em células vegetais sob estresse pode danificar componentes celulares, incluindo DNA, proteínas e lipídios de membrana, sendo assim, se a taxa fotorrespiratória aumenta e a assimilação de CO<sub>2</sub> diminui, há um balanço negativo de carbono, pois a Rubisco diminuiu sua função de carboxilação e passa a empregar mais a função de oxigenação em decorrência ao baixo valor de *gs* devido à seca (Taiz et al., 2017; FARNESE et al., 2017).

## 5 CONCLUSÃO

Conclui-se que de síntese, que os resultados apresentados nesse estudo mostram que a utilização de microrganismos multicepas, especificamente *Bacillus amyloliquefaciens* e *Trichoderma asperellum*, se mostram bastante eficazes na manutenção e mitigação dos danos decorrentes da seca, garantindo um bom status hídrico e protegendo o aparato fotossintético. Notou-se também que a mistura dos microrganismos mostrou melhor resultado em vários parâmetros avaliados quando comparado com a BV03 inoculada isoladamente. Outro ponto que também incrementou na maior proteção aos danos da seca é a forma de aplicação onde provou-se aqui que a mistura de BV0+BV10 submetidos a se e ambos inoculados nas sementes e aspergidos nas folhas, se mostrou mais eficaz evitando uma drástica desidratação dos tecidos vegetal, garantindo a eficiência do aparato fotossintético e a integridade das membranas. Portanto o protocolo aqui apresentado possui um grande potencial na agricultura sustentável e economicamente viável.

## 7 REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, Marcos Paulo Ferreira de; MORAES, Fabrícia Kelly Cabral; SANTOS, Rodolfo Inácio Nunes; CASTRO, Gledson Luiz Salgado de; RAMOS, Edson Marcos Leal Soares; PINHEIRO, Hugo Alves. Ecofisiologia de plantas jovens de mogno-africano submetidas a déficit hídrico e reidratação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [S.L.], v. 48, n. 1, p. 9-16, jan. 2013.
- ÁLVAREZ, Sandra Pérez et al. *Pseudomonas fluorescens* Migula, control biológico o patógeno. *Revista de Protección Vegetal*, v. 30, n. 3, p. 225, 2016.
- ANDERSON, Jan M. et al. Dynamic flexibility in the structure and function of photosystem II in higher plant thylakoid membranes: the grana enigma. **Photosynthesis Research**, [S.L.], v. 98, n. 1-3, p. 575-587, out. 2008.
- BANDILLO, Nonoy B. et al. Dissecting the Genetic Basis of Local Adaptation in Soybean. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 1-12, dez. 2017.
- BARICKMAN, T. Casey et al. Drought and Elevated CO<sub>2</sub> Impacts Photosynthesis and Biochemicals of Basil (*Ocimum basilicum* L.). **Stresses**, [S.L.], v. 1, n. 4, p. 223-237, 22 out. 2021.
- BATISTA, Priscila Ferreira et al. Biochemical and physiological impacts of zinc sulphate, potassium phosphite and hydrogen sulphide in mitigating stress conditions in soybean. **Physiologia Plantarum**, [S.L.], n. 168, p. 456-472, 10 out. 2019.
- CAMARGO GSM (2019) Ação de *Trichoderma sp.* e *Bacillus subtilis* associado a Centro Universitário de Anápolis – UniEVANGÉLICA. 36f.
- CHAGAS, Lillian França Borges et al. *Trichoderma* na promoção do crescimento vegetal. **Revista de Agricultura Neotropical**, [S.L.], v. 4, n. 3, p. 97-102, 1 set. 2017.
- CHEN, Li-Miao et al. GmSYP24, a putative syntaxin gene, confers osmotic/drought, salt stress tolerances and ABA signal pathway. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 1-12, 12 abr. 2018.
- CONAB (2020) Acompanhamento da safra brasileira 2019/2020 – Décimo segundo.

CONAB (2022) Acompanhamento da safra brasileira 2021/2022 – Décimo segundo.

FARNESE, Fernanda S. *et al.* The Involvement of Nitric Oxide in Integration of Plant Physiological and Ultrastructural Adjustments in Response to Arsenic. **Frontiers In Plant Science**, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 1-2, 19 abr. 2017.

FAROOG, M. *et al.* Plant Drought Stress: effects, mechanisms and management. **Sustainable Agriculture**, [S.L.], p. 153-188, 2019.

FERREIRA, L. H. A.; SANTOS, T. F.; MELO, J. D. G.. Medicamentos fitoterápicos e o uso de Glycine Max no climatério. **Scire Salutis**, v.12, n.1, p.25-33, 2022.

FERREIRA DOS SANTOS, P. L.; MONTEIRO DE CASTILHO, R. M.; DINALLI GAZOLA, R. P. Pigmentos fotossintéticos e sua correlação com nitrogênio e magnésio foliar em grama bermuda cultivada em substratos. **Acta Iguazu**, [S. l.], v. 8, n. 1, p. 92–101, 2019.

GAGNÉ-BOURQUE, F. *et al.* Accelerated growth rate and increased drought stress resilience of the model grass *Brachypodium distachyon* colonized by *Bacillus subtilis* B26. **PLoS One**, v. 10, n. 6, p. 130-156, 2015.

KARIMPOUR, M. Effect of drought stress on RWC and chlorophyll content on wheat (*Triticum durum* L.) genotypes. **World. Ess. J**, v. 7 n. 1, p. 52-56, 2019.

KIM, M. *et al.* Plant growth promoting effect of *Bacillus amyloliquefaciens* H-2-5 on crop plants and influence on physiological changes in soybean under soil salinity. **Physiology and molecular biology of plants**, v. 23, n. 3, p. 571-580, 2017.

KORBER, Luana Patrícia Pinto *et al.* Eficiência de produtos biológicos na coinoculação de sementes de soja. **South American Sciences Issn 2675-7222**, [S.L.], v. 2, n. 2, p. e21109, 30 set. 2021.

KUKI KN, *et al.* Avaliação da eficiência do dimetilsulfóxido na extração de pigmentos foliares de *Schinus terebenthifolius* e *Cocos nucifera*. In: Anais X

Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal e XII Congresso Latino Americano de Fisiologia Vegetal, 2005.

LIMA, Milene Conceição *et al.* Crescimento e produção de pigmentos fotossintéticos em *Achillea millefolium* L. cultivada sob diferentes níveis de sombreamento e doses de nitrogênio. **Ciência Rural**, [S.L.], v. 41, n. 1, p. 45-50, 2011.

MARCOS, F.C.C. *et al.* Drought tolerance of sugarcane is improved by previous exposure to water deficit. **Journal Plant Physiology**. n. 223, p. 9-18, 2018.

MASCARIN, Gabriel Moura *et al.* Current status and perspectives of fungal entomopathogens used for microbial control of arthropod pests in Brazil. **Journal Of Invertebrate Pathology**, [S.L.], v. 165, p. 46-53, jul. 2019.

MAXWELL, Kate *et al.* Chlorophyll fluorescence—a practical guide. **Journal Of Experimental Botany**, [S.L.], v. 51, n. 345, p. 659-668, abr. 2000.

NANNIPIERI, P. *et al.* Microbial diversity and soil functions. *European journal of soil science*, v. 68, n. 1, p. 12-26, 2017.

OECD. "Oilseeds and Oilseed Products", in *OECD-FAO Agricultural Outlook 2017-2026*. Organization for economic co-operation and development (OECD). Publishing, Paris, 2017.

SAMANIEGO-GÁMEZ, B. Y. *et al.* *Bacillus spp.* inoculation improves photosystem II efficiency and enhances photosynthesis in pepper plants. **Chilean journal of agricultural research**, v. 76, n. 4, p. 409-416, 2016.

SANTIN, R. C. M. Potencial do uso dos fungos *Trichoderma spp.* e *Paecilomyces lilacinus* no biocontrole de *Meloidogyne incognita* em *Phaseolus vulgaris*. 2008. 81 f. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

SATHYA, A; *et al.* Plant growth-promoting actinobacteria: a new strategy for enhancing sustainable production and protection of grain legumes. 3 **Biotech**, v. 7, n. 2, p. 102-126, 2017.

SCOFFONI, C.; RAWLS, M.; McKOWN, A.; COCHARD, H.; SACK, L. Decline of Leaf Hydraulic Conductance with Dehydration: Relationship to Leaf Size and Venation Architecture. **Plant Physiology**, v. 156, n. 2, p. 1375-843, 2012.

SHAH, Rasool *et al.* An Analytical Technique to Solve the System of Nonlinear Fractional Partial Differential Equations. **Mathematics**, [S.L.], v. 7, n. 6, p. 505, 2 jun. 2019.

SHEIRDIL, Rizwan Ali *et al.* Exploring Potential Soil Bacteria for Sustainable Wheat (*Triticum aestivum* L.) Production. **Sustainability**, [S.L.], v. 11, n. 12, p. 3361, 18 jun. 2019.

SHEN, Jiazhi *et al.* Metabolite profiling of tea (*Camellia sinensis* L.) leaves in winter. **Scientia Horticulturae**, [S.L.], v. 192, p. 1-9, ago. 2015.

SILVA MCAP (2019) Impacto da inoculação com cepas da bactéria *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 sobre os processos fisiológicos de soja exposta à seca. Instituto Federal Goiano – IFGOIANO. 36f.

SILVA, Evandro Nascimento *et al.* Photosynthetic changes and protective mechanisms against oxidative damage subjected to isolated and combined drought and heat stresses in *Jatropha curcas* plants. **Journal Of Plant Physiology**, [S.L.], v. 167, n. 14, p. 1157-1164, set. 2010.

SINGH, S. K. *et al.* Interactive effects of temperature and phosphorus nutrition on soybean: leaf photosynthesis, chlorophyll fluorescence, and nutrient efficiency. **Photosynthetica**, v. 57, n. 1, p. 248-257, 2019.

SU, An-Yu *et al.* Synergistic Effects of *Bacillus amyloliquefaciens* (GB03) and Water Retaining Agent on Drought Tolerance of Perennial Ryegrass. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 18, n. 12, p. 2651, 11 dez. 2017.

TAIZ, L. *et al.* **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora, 2017.

TARDIEU, François; SIMONNEAU, Thierry; MULLER, Bertrand. The Physiological Basis of Drought Tolerance in Crop Plants: a scenario-dependent

probabilistic approach. **Annual Review Of Plant Biology**, [S.L.], v. 69, n. 1, p. 733-759, 29 abr. 2018.

VURUKONDA, Sai Shiva Krishna Prasad *et al.* Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. **Microbiological Research**, [S.L.], v. 184, p. 13-24, mar. 2016.

WANG, Peng *et al.* Shifts in microbial communities in soil, rhizosphere and roots of two major crop systems under elevated CO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub>. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 15019, 2017.

WELLBURN, Alan R. *et al.* The Spectral Determination of Chlorophylls *a* and *b*, as well as Total Carotenoids, Using Various Solvents with Spectrophotometers of Different Resolution. **Journal Of Plant Physiology**, [S.L.], v. 144, n. 3, p. 307-313, set. 1994.

YIN, Guangjun *et al.* Screening and identification of soybean seed-specific genes by using integrated bioinformatics of digital differential display, microarray, and RNA-seq data. **Gene**, [S.L.], v. 546, n. 2, p. 177-186, ago. 2014.

ZHANG, J. *et al.* Photosynthetic performance of soybean plants to water deficit under high and low light intensity. **South African Journal Of Botany**, [S.L.], v. 105, p. 279-287, jul. 2016.