

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO –
CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS –
AGRONOMIA

BIOINOCULAÇÃO COM *Bacillus* spp. E SEUS EFEITOS
FISIOLÓGICOS NO DESEMPENHO DE PLÂNTULAS DE MILHO

Autora: Ludimila Lopes da Silva

Orientadora: Profa. Dra. Juliana de Fátima Sales

RIO VERDE - GO
Outubro– 2025

BIOINOCULAÇÃO COM *Bacillus* spp. E SEUS EFEITOS FISIOLÓGICOS NO DESEMPENHO DE PLÂNTULAS DE MILHO

Mestranda: Ludimila Lopes da Silva
Orientadora: Prof.^a Dr.^a Juliana de Fátima Sales
Coorientadores: Prof. Dr. Arthur Almeida
Rodrigues
Prof.^a Dr.^a Ingrid Maressa Hungria de Lima e Silva

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS - AGRONOMIA, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias - Agronomia - do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Rio Verde – Agronomia.

RIO VERDE - GO
Outubro – 2025

**Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do
Programa de Geração Automática do Sistema Integrado de Bibliotecas do IF Goiano - SIBi**

S586 Lopes da Silva, Ludimila
 BIOINOCULAÇÃO COM *Bacillus* spp. E SEUS EFEITOS
 FISIOLÓGICOS NO DESEMPENHO DE PLÂNTULAS DE
 MILHO / Ludimila Lopes da Silva. Rio Verde 2025.

 1f. il.

 Orientadora: Prof^ª. Dra. Juliana de Fátima Sales.
 Coorientador: Prof. Dr. Arthur Almeida Rodrigues.
 Monografia (Especialista) - Instituto Federal Goiano, curso de
0231014 - Mestrado em Ciências Agrárias - Agronomia - Rio
Verde (Campus Rio Verde).
 1. Desenvolvimento radicular. 2. Eficiência fotossintética. 3.
Emergência de plântulas. 4. *Zea mays*. I. Título.

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

Tese (doutorado)

Dissertação (mestrado)

Monografia (especialização)

TCC (graduação)

Artigo científico

Capítulo de livro

Livro

Trabalho apresentado em evento

Produto técnico e educacional - Tipo:

Nome completo do autor:

Matrícula:

Título do trabalho:

RESTRIÇÕES DE ACESSO AO DOCUMENTO

Documento confidencial: Não Sim, justifique:

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

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 inclusos 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.

Local

/ /
Data

Assinatura do autor e/ou detentor dos direitos autorais

Ciente e de acordo:

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 103/2025 - SREPG/CMPR/CPG-RV/DPGPI-RV/CMPRV/IFGOIANO

ATA Nº/233
BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Ao trigésimo primeiro dia do mês de outubro do ano de dois mil e vinte e cinco, às 13:30h, reuniram-se os componentes da Banca Examinadora: Prof^a. Dra. Juliana de Fátima Sales (Presidente), Prof. Dr. Aurélio Rúbio Neto (Avaliador interno), Prof^a. Dra. Ingrid Maressa Hungria de Lima e Silva (Avaliadora externa), sob a presidência do primeiro, em sessão pública realizada no IF Goiano – Campus Rio Verde, para procederem a avaliação da defesa de Dissertação, em nível de mestrado, de autoria de **LUDIMILA LOPES DA SILVA** discente do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias – Agronomia do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde. A sessão foi aberta pelo presidente da Banca Examinadora Prof^a. Dra. Juliana de Fátima Sales, que fez a apresentação formal dos membros da Banca. A palavra, a seguir, foi concedida a autora da Dissertação para, em 40 min., proceder à apresentação de seu trabalho. Terminada a apresentação, cada membro da banca arguiu a examinada, tendo-se adotado o sistema de diálogo sequencial. Terminada a fase de arguição, procedeu-se a avaliação da defesa. Tendo-se em vista as normas que regulamentam o Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias – Agronomia, e procedidas às correções recomendadas, a Dissertação foi **APROVADA**, considerando-se integralmente cumprido este requisito para fins de obtenção do título de **MESTRE EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS-AGRONOMIA**, na área de concentração Produção Vegetal Sustentável no Cerrado, pelo Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde. A conclusão do curso dar-se-á quando da entrega na secretaria do PPGCA-AGRO da versão definitiva da Dissertação, com as devidas correções. Assim sendo, esta ata perderá a validade se não cumprida essa condição, em até **60** (sessenta) dias da sua ocorrência. A Banca Examinadora recomendou a publicação dos artigos científicos oriundos dessa Dissertação em periódicos de circulação nacional e/ou internacional, após procedida as modificações sugeridas. Cumpridas as formalidades da pauta, a presidência da mesa encerrou esta sessão de defesa de Dissertação de Mestrado, e para constar, eu, Vanilda Maria Campos, secretaria do PPGCA-AGRO, lavrei a presente Ata, que, após lida e achada conforme, será assinada pelos membros da Banca Examinadora.

Prof^a. Dra. Juliana de Fátima Sales (Presidente)

Prof. Dr. Aurélio Rúbio Neto (Avaliador interno)

Prof^a. Dra. Ingrid Maressa Hungria de Lima e Silva (Avaliadora externa)

Documento assinado eletronicamente por:

- **Juliana de Fatima Sales, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO**, em 31/10/2025 15:05:51.
- **Ingrid Maressa Hungria de Lima e Silva, Ingrid Maressa Hungria de Lima e Silva - Professor Avaliador de Banca - Universidade Federal de Lavras (22078679000174)**, em 31/10/2025 15:07:43.
- **Aurelio Rubio Neto, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO**, em 31/10/2025 15:08:05.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 29/10/2025. 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: 757895

Código de Autenticação: 3ca0307608



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



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

Documentos 68/2025 - SREPG/CMPR/CPG-RV/DPGPI-RV/CMPRV/IFGOIANO

BIOINOCULAÇÃO COM *Bacillus* spp. E SEUS EFEITOS FISIOLÓGICOS NO DESEMPENHO DE PLÂNTULAS DE MILHO

Autora: Ludimila Lopes da Silva

Orientadora: Dra. Juliana de Fátima Sales

TITULAÇÃO: Mestre em Ciências Agrárias - Agronomia - Área de Concentração em Produção Vegetal Sustentável no Cerrado

APROVADA em, 31 de outubro de 2025.

Prof^ª. Dra. Juliana de Fátima Sales (Presidente)

Prof. Dr. Aurélio Rúbio Neto (Avaliador interno)

Prof^ª. Dra. Ingrid Maressa Hungria de Lima e Silva (Avaliadora externa)

Documento assinado eletronicamente por:

- **Juliana de Fatima Sales, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO**, em 31/10/2025 15:03:46.
- **Aurelio Rubio Neto, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO**, em 31/10/2025 15:06:40.
- **Ingrid Maressa Hungria de Lima e Silva, Ingrid Maressa Hungria de Lima e Silva - Professor Avaliador de Banca - Universidade Federal de Lavras (22078679000174)**, em 31/10/2025 15:08:37.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 29/10/2025. 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: 757942
Código de Autenticação: f9e9be850c



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

*" À minha família e ao meu noivo, José Wellington,
por sempre me apoiarem em todas as
minhas escolhas."*

DEDICO.

A minha família e amigos,
À Prof.^a Dr.^a. Juliana de Fátima Sales, Dr. Arthur
Almeida Rodrigues, Dr.^a. Ingrid Maressa e Dr.^a.
Thaís Fernandes que tanto colaboraram para o
sucesso deste trabalho;

OFEREÇO.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por iluminar e guiar cada passo ao longo desta etapa. Em seguida, aos meus pais, Joselene Felix da Silva Lopes e Wanderley Lopes Soares, pelo apoio incondicional em cada uma das minhas escolhas. Ao meu noivo, José Wellington, por compartilhar comigo esta longa caminhada, oferecendo apoio, incentivo e lembrando-me constantemente de que sou capaz de alcançar tudo o que almejo, estando sempre ao meu lado.

Aos meus irmãos, Laila e Lucas, pelas palavras de motivação e pela constante confiança de que tudo daria certo, e aos demais familiares, que sempre acreditaram em mim e me enviaram votos de boa sorte.

Agradeço à minha orientadora, Dra. Juliana de Fátima Sales, pela dedicação e disponibilidade ao longo de todo o período de orientação, sempre oferecendo apoio e tornando esta jornada mais leve e enriquecedora. Aos coorientadores, Arthur Almeida Rodrigues e Ingrid Maressa Hungria de Lima e Silva, pela constante disposição em auxiliar e colaborar com os experimentos e estudos, contribuindo significativamente para o desenvolvimento desta pesquisa.

À equipe do Laboratório de Sementes do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, pelo acolhimento e incentivo ao longo desses dois anos, em especial à Thaís, Layane, Klara, Rafael e Ana Victória, pela parceria e apoio nas atividades de rotina. Um agradecimento especial à minha amiga Edilma Brandão, que já estava no laboratório quando cheguei e me auxiliou em cada etapa e reprocesso dos experimentos. Foram dias, noites e finais de semana de intenso trabalho e aprendizado, que se tornaram mais leves e significativos graças à sua companhia.

Agradeço ao Laboratório de Ecofisiologia e Produtividade Vegetal, ao Laboratório de Cultura de Tecidos e ao Laboratório de Anatomia Vegetal do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, pelos recursos, infraestrutura e suporte técnico, fundamentais para a realização desta pesquisa. À equipe da Coordenação da Pós-Graduação em Ciências Agrárias, em especial ao coordenador Dr. Marconi, pela constante disponibilidade e atenção ao longo de todo o curso.

Aos professores do programa, que ministraram as disciplinas com excelência, contribuindo imensamente para o meu enriquecimento profissional. E a todos os funcionários desta instituição, que, direta ou indiretamente, me ajudaram.

Por fim, agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG) pela concessão da bolsa, fundamental para o desenvolvimento desta pesquisa.

BIOGRAFIA DA AUTORA

Ludimila Lopes da Silva, filha de Wanderley Lopes Soares e Joselene Felix da Silva, nasceu em 23 de março de 1999 em Santa Helena de Goiás. Iniciou sua vida acadêmica em 2017 no curso de Técnico em Agropecuária com finalização de 2018.

Iniciou a graduação em Bacharelado em Agronomia em 2019 em Rio Verde no Instituto Federal Goiano (IF Goiano) – Campus Rio Verde - GO, sendo concluinte no primeiro semestre de 2023. Saindo da graduação já empregada, a empresa me deu a oportunidade de enquanto trabalhava pudesse fazer o mestrado e isto foi feito, até minha saída da empresa.

Em agosto do mesmo ano, fui aprovada no processo seletivo do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias do Instituto Federal Goiano (IF Goiano) – Campus Rio Verde - GO. Iniciei o curso de mestrado em setembro de 2023, com atuação na área de Tecnologia de Sementes, sendo contemplada com bolsa de pesquisa e no ano de 2025 fiquei noiva.

Durante os dois anos de mestrado, como bolsista da FAPEG/CAPES, dedicou-se a pesquisas sobre condicionamento de sementes e potencial fisiológico. Em agosto de 2025, submeteu sua dissertação para defesa, requisito indispensável para a obtenção do título de Mestra em Ciências Agrárias-Agronomia.

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE TABELA	7
ÍNDICE DE FIGURAS.....	8
LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES	10
RESUMO	12
ABSTRACT.....	13
1. INTRODUÇÃO	14
2. MATERIAL E MÉTODOS	16
2.1 Material vegetal e execução dos tratamentos	16
2.2 Análises Fisiológicas das sementes.....	16
2.3 Trocas gasosas.....	17
2.4 Imagem de fluorescência da clorofila <i>a</i>	17
2.5 Caracterização anatômica e histoquímica.....	17
2.6 Análise estatística.....	18
3. RESULTADOS.....	19
4. DISCUSSÃO	27
5. CONCLUSÃO	30
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	31

ÍNDICE DE TABELA

Tabela 1. Taxa transpiratória (ETR), Taxa fotossintética (A), relação entre concentração interna e externa de CO ₂ (C_i/C_a) e condutância estomática (G_s) em plântulas de milho aos 12 dias após emergência.....	24
--	----

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Porcentagem média de emergência de plântulas de milho (%) submetidas a diferentes doses com água (0) concentrações de 50; 100; 150 e 200 μL de bioinoculante. Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Barras representam média \pm erro-padrão..... 20
- Figura 2.** Comprimento da raiz (cm) de plântulas de milho submetidas a diferentes doses dose com água (0) concentrações de 50; 100; 150 e 200 μL de bioinoculante. Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Barras representam média \pm erro-padrão..... 20
- Figura 3.** Comprimento da parte aérea (cm) de plântulas de milho submetidas a diferentes doses com água (0) concentrações de 50; 100; 150 e 200 μL de bioinoculante. Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Barras representam média \pm erro-padrão..... 21
- Figura 4.** Massa seca da raiz (mg) de plântulas de milho submetidas a diferentes doses com água (0) concentrações de 50; 100; 150 e 200 μL de bioinoculante. Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Barras representam média \pm erro-padrão..... 21
- Figura 5.** Massa seca da parte aérea (mg) de plântulas de milhos submetidas a diferentes doses com água (0) concentrações de 50; 100; 150 e 200 μL de bioinoculante. Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Barras representam média \pm erro-padrão..... 22
- Figura 6.** Rendimento quântico potencial do PSII (F_v/F_m), fluorescência máxima (Fm), fluorescência inicial (F0), rendimento quântico efetivo do PSII (Φ_{II}), rendimento quântico de dissipação de energia não regulada do PSII (Φ_{NO}) em plantas de milho tratadas com diferentes doses de bioinoculante. Os asteriscos indicam diferenças a 5% (*) de probabilidade, em relação ao controle pelo teste de Tukey. Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Barras representam média \pm erro-padrão..... 23
- Figura 7.** Cortes transversais em plântulas de milho, sob microscopia óptica, corada com azul de toluidina (A, B). E coloração com xylidine ponceau para identificação de proteína (C, D). Area foliar controle com água (A, C) e 200 μL do bioinoculante (B, D). Epiderme adaxial (AdEp); Epiderme abaxial (AbEp); Célula buliforme (CB); Parênquima clorofiliano (PC); Bainha Kranz (BK); Xilema (X); Floema (FL). Barras: 100 μm 25
- Figura 8.** Biplots da análise de componentes principais (PCA) com os eixos Dim1 \times Dim2 (a) e Dim2 \times Dim3 (b) para variáveis de qualidade, crescimento e vigor de sementes, emergência (EM), comprimento de raiz (CR), comprimento de parte aérea (CP), massa seca de raiz (MSR), massa seca de parte aérea (MSP), dados de fluorescência de imagem, rendimento quântico potencial do PSII (F_v/F_m), fluorescência máxima (Fm), fluorescência inicial (F0), rendimento quântico efetivo do PSII (Φ_{II}), rendimento de extinção não fotoquímica (YNPQ), rendimento quântico de dissipação de energia não regulada do PSII (Φ_{NO}) e de trocas gasosas, taxa fotossintética (A), taxa transpiratória (E) condutância estomática (Gs) e relação entre

concentração interna e externa de CO₂ (C_i/C_a) de plântulas de milho submetidas a doses com água (D0) concentrações de D50; D100; D150 e D200 µL . Os pontos representam as repetições individuais, agrupadas por elipses de confiança a 95%. Os vetores indicam a direção e a força da contribuição de cada variável.....

26

Figura 9. Correlações de Pearson entre variáveis de crescimento, fluorescência da clorofila e trocas gasosas. A intensidade da correlação é indicada pela cor (azul para positiva, vermelho para negativa) e pelo coeficiente (r). As abreviações correspondem a: EM (emergência), CR (comprimento da raiz), CP (comprimento da parte aérea), MSR (massa seca da raiz), MSP (massa seca da parte aérea), Fm (fluorescência máxima), F_v/F_m (rendimento quântico potencial do PSII), YII (rendimento quântico efetivo do PSII), YNPQ (rendimento quântico da dissipação não fotoquímica regulada), YNO (rendimento quântico de dissipação de energia não regulada do PSII), F0 (fluorescência inicial), E (transpiração), A (assimilação de CO₂), CICA (razão C_i/C_a) e GS (condutância estomática).....

27

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES

Símbolo/sigla	Significado	Unidades
\approx	Aproximadamente	-
%	Porcentagem	-
\pm	Mais ou menos	-
$>$	Maior	-
$<$	Menor	-
\leq	Menor ou igual	-
$=$	Igual	-
*	Significativo a 5% de significância	-
°	Grau	-
'	Minutos	-
H	Horas	-
G	Gramas	-
Mg	Miligramas	-
°C	Temperatura em graus Celsius	-
Kv	Quilovolt	-
Mm	Milímetro	-
Cm	Centímetros	-
mL L ⁻¹	Mililitro por litro	-
ml	Mililitro	-
μ L	Microlitro	-
μ M	Micrômetro	-
μ S	Micro-Siemens	-
Mmol	Micromol	-
Nmol	Nanomol	-
<i>P</i>	Probabilidade de significância	-
<i>F</i> ₀	Fluorescência mínima	-
<i>F</i> _m	Fluorescência máxima	-
PSII	Fotossistema II	-
<i>F_v/F_m</i>	Rendimento quântico potencial do fotossistema II	-
<i>F_m'</i>	Máxima fluorescência no claro	-
<i>F</i>	Fluorescência	-
<i>F</i> ₀	Fluorescência inicial	-
Φ_{NO}	Rendimento quântico de dissipação de energia não regulada	-
Φ_{II}	Rendimento quântico efetivo do PSII	-
<i>G_s</i>	Condutância estomática	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
<i>A</i>	Taxa fotossintética	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$

		1
<i>E</i>	Taxa transpiratória	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
CiCa	Concentração interna de CO ₂	-
ETR	Taxa de transporte de elétrons	%
Ci	Concentração interna de CO ₂	-
Ca	Concentração externa de CO ₂	-
PCA	Análise de Componentes Principais	-
XP	Xylidine Ponceau	-
DIC	Delineamento inteiramente casualizado	-
spp.	Várias espécies	-
TA	Teor de água	-
EM	Emergência	%
CP	Comprimento parte aérea	cm
CR	Comprimento de raiz	cm
MP	Massa seca parte aérea	g
MR	Massa seca de raiz	g
AdEp	Epiderme adaxial	-
AbEp	Epiderme abaxial	-
CB	Células buliforme	-
BK	Bainha Kranz	-
PC	Parênquima clorofiliano	-
X	Xilema	-
FL	Floema	-
IRGA	Analizador por gases infravermelho	-
BPCP	Bactérias promotoras de crescimento	-

RESUMO

Silva, Ludimila Lopes da. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Rio Verde – GO, outubro de 2025. **Bioinoculação com *Bacillus* spp., e seus efeitos fisiológicos no desempenho de plântulas de milho.** Orientadora: Prof.^a Dr.^a Juliana de Fátima Sales. Coorientadores: Dr. Arthur Almeida Rodrigues. Dr.^a Ingrid Maressa Hungria de Lima e Silva.

A crescente demanda por alternativas sustentáveis na agricultura tem estimulado o uso de microrganismos promotores de crescimento vegetal como estratégia para otimizar o desempenho inicial das culturas. Neste contexto, objetivou-se avaliar os efeitos fisiológicos iniciais da aplicação de bioinoculante comercial contendo *Bacillus* spp., em plântulas de milho (*Zea mays* L.), cultivadas em areia estéril sob condições controladas. O experimento foi conduzido nas concentrações de 0 (água); 50; 100; 150 e 200 µL e quatro repetições. Foram analisadas variáveis morfológicas (emergência, comprimento e massa seca de raízes e parte aérea), fisiológicas (fluorescência da clorofila *a* e trocas gasosas), anatômica e histoquímica e analisadas por PCA e correlação de Pearson. A aplicação na dose 100 µL do bioinoculante promoveu maior porcentual na emergência atingindo 85%, incremento no sistema radicular, acúmulo de biomassa e maior eficiência fotoquímica (*Fv/Fm*). Doses mais elevadas resultaram em desempenho fisiológico inferior e alterações anatômicas indicativas de estresse. A análise de componentes principais destacou 100 µL como a dose com maior associação entre as variáveis favoráveis ao crescimento e desenvolvimento vegetal. Além disso, observou-se forte correlação positiva entre rendimento fotossintético e crescimento radicular. Conclui-se, que a dose de 100 µL destacou-se como mais eficiente, promovendo equilíbrio entre crescimento radicular e eficiência fotoquímica. A aplicação adequada de bioinoculantes representa uma abordagem biotecnológica capaz de otimizar o estabelecimento inicial do milho, contribuindo para sistemas de produção mais eficientes e sustentáveis.

Palavras-chave: Desenvolvimento radicular; eficiência fotossintética; emergência de plântulas; *Zea mays*.

ABSTRACT

Silva, Ludimila Lopes da. Federal Institute of Education, Science and Technology Goiano - Rio Verde Campus – GO, October 2025. Bioinoculation with *Bacillus* spp., and its physiological effects on the performance of corn seedlings. Advisor: Prof. Dr. Juliana de Fátima Sales. Co-advisors: Dr. Arthur Almeida Rodrigues. Dr. Ingrid Maressa Hungria de Lima e Silva.

The growing demand for sustainable alternatives in agriculture has stimulated the use of plant growth-promoting microorganisms as a strategy to optimize the initial performance of crops. In this context, the objective was to evaluate the initial physiological effects of applying a commercial bioinoculant containing *Bacillus* spp. to maize seedlings (*Zea mays* L.) grown in sterile sand under controlled conditions. The experiment was conducted at concentrations of 0 (water); 50; 100; 150 and 200 μ L and with four replicates. Morphological (emergence, root and shoot length and dry mass), physiological (chlorophyll a fluorescence and gas exchange), anatomical and histochemical variables were analyzed using PCA and Pearson correlation. The application of the 100 μ L dose of the bioinoculant promoted a higher percentage of emergence, reaching 85%, an increase in the root system, biomass accumulation, and greater photochemical efficiency (F_v/F_m). Higher doses resulted in lower physiological performance and anatomical changes indicative of stress. Principal component analysis highlighted 100 μ L as the dose with the strongest association between variables favorable to plant growth and development. Furthermore, a strong positive correlation was observed between photosynthetic yield and root growth. It is concluded that the 100 μ L dose stood out as the most efficient, promoting a balance between root growth and photochemical efficiency. The proper application of bioinoculants represents a biotechnological approach capable of optimizing the initial establishment of corn, contributing to more efficient and sustainable production systems.

Keywords: Root development; photosynthetic efficiency; seedling emergence; *Zea mays*.

1. INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é um dos cereais mais cultivados e consumidos no mundo, desempenhando papel fundamental na alimentação humana e animal, além de matéria-prima para diversas indústrias. Atualmente, o Brasil encontra-se em terceiro lugar entre os maiores produtores e exportadores mundiais, contribuindo consideravelmente para o abastecimento global (CONAB, 2025).

Na safra 2023/24, a produção nacional foi estimada em 115,72 milhões de toneladas, representando redução de 12,3% em relação ao ciclo anterior (CONAB, 2025). Essa diminuição é atribuída a diferentes condições climáticas afetadas por fatores bióticos e abióticos como altas temperaturas e padrões de chuvas irregulares, além dos ataques de pragas em importantes regiões produtoras do país. Tais estresses são normalmente correlacionados e têm causado alterações na germinação e no desenvolvimento inicial, o que compromete todo o aparato fisiológico e bioquímico das plântulas (Gentil e Lucena, 2022).

O estabelecimento inicial das plântulas de milho é determinante para a produtividade da cultura. Sementes de alto vigor fisiológico tendem a formar plântulas com maior acúmulo de matéria seca, área foliar expandida e sistema radicular mais desenvolvido, características que favorecem a absorção de nutrientes e água, promovem emergência rápida e uniforme reduzindo assim a competição com plantas invasoras no campo (Tetreault et al., 2023).

A qualidade fisiológica da semente de milho torna-se questão fundamental, pois sementes com baixo vigor podem resultar em germinação lenta e desuniforme, plântulas fracas, e conseqüentemente, produtividade reduzida (Silva et al., 2021). Portanto, garantir a qualidade dessas sementes é essencial para atender à crescente demanda global por alimentos e sustentar práticas agrícolas mais eficientes e ecológicas (Zhang et al., 2023). Diante disso, os bioinsumos surgem como ferramentas biotecnológicas capazes de melhorar o vigor e o desempenho inicial das culturas (Sommer et al., 2024).

Os bioinsumos utilizados na agricultura podem ser classificados como microbiológicos, microbiológicos e fitoquímicos/bioativos. Dentre os gêneros usados, destacam-se os bioinoculantes à base de *Bacillus* spp., bactérias eficazes na promoção do crescimento vegetal por meio de múltiplos mecanismos, dentre eles solubilização de fosfatos, fixação de nitrogênio e indução de resistência sistêmica (Jião et al., 2021).

Estudos na cultura do milho com bactérias do gênero *B. aryabhattai* demonstraram aumento significativo ao comprimento da parte aérea e do sistema radicular das plântulas, além de modular positivamente a microbiota rizosférica (Deng et al., 2024; Fuga et al., 2023;), Singht et al., (2024) também destacou que *B. aryabhattai* promoveu o alongamento radicular e a altura das plântulas por meio da produção de ácido indolacético (AIA), sendo especialmente eficaz na fase inicial de desenvolvimento. Em trabalhos com *B. subtilis* como a de Wu et al. (2023), observou-se melhora na germinação, no crescimento radicular e na

biomassa de plântulas submetidas a estresse salino. Embora ainda pouco estudado em milho, *B. haynesii* também se destaca pelo potencial promissor para o crescimento vegetal e controle biológico de fitopatógenos em outras culturas (Pathak et al., 2024).

A aplicação conjunta dessas espécies pode resultar em efeitos sinérgicos, promovendo melhorias expressivas na emergência, no desenvolvimento morfofisiológico e na eficiência fotossintética das plântulas, além de contribuir para o vigor fisiológico e a produtividade das lavouras (Santoyo et al., 2021; Tsotetsi et al., 2022).

Nesse contexto, a redução significativa na produtividade do milho observada na safra 2023/24, aliada aos desafios climáticos e fitossanitários enfrentados pelos produtores, evidencia a necessidade de estratégias agronômicas mais eficientes e sustentáveis. Parte-se da hipótese de que a aplicação de bioinoculante comercial à base de *Bacillus* spp. é capaz de promover efeitos positivos sobre o desempenho fisiológico inicial das plântulas, refletindo em maior vigor, crescimento radicular e eficiência fotossintética.

Supõe-se ainda que o incremento das doses do bioinoculante possa potencializar o desenvolvimento morfofisiológico, resultando em respostas sinérgicas entre as espécies de *Bacillus*, o que evidencia o potencial agronômico dessas bactérias como promotoras de crescimento vegetal.

Diante disso, objetivou-se avaliar os efeitos de diferentes doses de bioinoculante à base de *Bacillus* spp. sobre o desempenho fisiológico de plântulas de milho cultivadas em areia estéril sob condições controladas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal e execução dos tratamentos

Os experimentos foram conduzidos nos Laboratórios de Análises de Sementes, Anatomia Vegetal, Cultura de Tecidos e Ecofisiologia Vegetal do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia - IF Goiano, Campus Rio Verde - GO. Foi implantado com a cultivar BRS284 de milho, safra 23/2024. Antes da instalação do experimento foi determinado o teor de água e realizado o teste de germinação, de acordo com Brasil (2025).

Como substrato utilizou-se areia, que foi peneirada, esterilizada e mantida na estufa a 200 °C, durante 2 horas. Após esfriar, a areia foi disposta em 10 bandejas de isopor (21 x 18 x 1,8 cm), para cada dosagem foi usado 2 bandejas totalizando 4 kg de areia em cada uma delas.

Posteriormente, realizou a diluição do produto comercial à base de *Bacillus* spp., o qual foi diluído em água destilada para alcançar as seguintes concentrações: 0 (água destilada), 50; 100; 150 e 200 µL. A definição das doses baseou-se através da recomendação do produto comercial. Posteriormente, o líquido foi adicionado diretamente na areia até atingir sua capacidade de campo (60%), conforme a metodologia descrita nas Regras para Análise de Sementes (RAS, Brasil (2025).

Após o preparo do substrato já inoculado, realizou-se a semeadura de 200 sementes de milho, posicionadas a 1 cm de profundidade. Os tratamentos foram organizados em quatro repetições, conduzidos em duas bandejas. As bandejas foram revestidas com sacos plásticos para não ocorrer a perda de umidade por evaporação e mantidas em câmara de germinação sobre temperatura controlada de $25 \pm 0,5$ °C.

2.2 Análises fisiológicas das sementes

- Teste de emergência: no sétimo dia após a semeadura, utilizando substrato de areia previamente inoculado foram mantidas em câmara de germinação a $25 \pm 0,5$ °C. A avaliação consistiu na contagem das plântulas emergidas, sendo aquelas que apresentavam o cotilédone visível acima da superfície do substrato, conforme os critérios descritos por Nakagawa (1999).

- Comprimento de plântula: realizado no décimo segundo dia após a semeadura foram selecionadas aleatoriamente 10 plântulas por repetição, essas plântulas foram lavadas em água corrente para que saíssem com sistema radicular completo. O comprimento do sistema radicular e da parte aérea foi mensurado com o auxílio de uma régua milimetrada, sendo os resultados expressos em centímetros (Brasil, 2025).

- Massa seca: Após a mensuração do comprimento, as mesmas plântulas foram destinadas a determinação da massa seca. O material vegetal foi separado em parte aérea e sistema radicular, condicionado em estufa de circulação de ar forçado, mantida à de 80 °C, até obtenção de peso constante. Posteriormente, as amostras foram pesadas em balança analítica de precisão, conforme metodologia descrita por Nakagawa (1999). Os resultados foram expressos em gramas por plântula.

2.3 Trocas gasosas

As trocas gasosas foram mensuradas em quatro folhas totalmente expandidas por tratamentos das plântulas de milho, ao décimo segundo dia após a semeadura. Analisou-se a taxa líquida de fotossíntese (A , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), transpiração (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e condutância estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e a relação entre concentração interna (C_i) e externa (C_a) de CO_2 (C_i/C_a) utilizando-se um analisador de gases infravermelhos em sistema aberto (IRGA, LI-6800, LI-COR Inc., Lincoln, NE, EUA). Os dados foram determinados entre 8h e 11h da manhã sob radiação fotossinteticamente ativa (PAR, $1000 \mu\text{mol de fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e temperatura de 25°C .

2.4 Imagem de fluorescência da clorofila *a*

As imagens de fluorescência da clorofila *a* foram obtidas utilizando um fluorômetro modulado Imaging-PAM (versão MAXI-Standard, Heinz Walz). Inicialmente, foram selecionadas aleatoriamente quatro plântulas por repetição, levadas ao fluorômetro no escuro por, no mínimo, 40 minutos. Nesse período, foram determinadas a fluorescência inicial (F_0) e fluorescência máxima (F_m), em que F_0 é rendimento mínimo de fluorescência, excitado por luz vermelha modulada de baixa intensidade ($3 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e F_m é a fluorescência máxima obtida por meio da aplicação de um pulso de luz saturante com duração de 0,8 s e intensidade superior a $6000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Com esses valores, calculou-se o rendimento quântico potencial do fotossistema II (PSII), por meio da equação: $F_v/F_m = (F_m - F_0) / F_m$. As variáveis referentes à fase lenta da indução de fluorescência foram determinadas sequencialmente pela aplicação de iluminação de intensidade constante por 30 s, seguida de um pulso de luz saturante. Foram obtidos, assim, os valores de fluorescência em folhas adaptadas à luz antes do pulso (F) e fluorescência máxima em folhas adaptadas à luz (F_m'). A fluorescência mínima no tecido vegetal iluminado foi calculada pela equação: $F_0 / [((F_m - F_0) / F_m) + (F_0 / F_m)]$ conforme descrito por Oxborough e Baker (1997). A partir desses parâmetros, determinaram-se: o rendimento quântico efetivo da conversão de energia fotoquímica no PSII ($\Phi_{II} = (F_m' - F) / F_m'$); o rendimento quântico de dissipação de energia regulada ($\Phi_{NPQ} = (F / F_m') - (F / F_m)$); e o rendimento quântico de dissipação não regulada ($\Phi_{NO} = F / F_m$), seguindo Genty et al. (1989) e Hendrickson et al. (2004).

2.5 Caracterização anatômica e histoquímica

O material vegetal usada foi retirado no décimo segundo dia, onde os cortes anatômicos foram usados da região do limbo foliar, de quatro folhas totalmente expandidas, de cada tratamento. Em seguida, todo o material foi fixado em Karnovsky (1965), por 24 horas. Após esse período, as amostras foram desidratadas em serie etílica crescente, pré-infiltradas e infiltradas em historesina (Leica, Nussloch, Alemanha), após essas etapas foi realizado o emblocamento. Através do micrótomo rotativo de mesa (Modelo 1508R, Logen Scientific, China) as amostras foram seccionadas transversalmente com espessura de $5 \mu\text{m}$ e corados com azul de toluidina (O'Brien et al., 1964). Para a análise histoquímica, os cortes foram corados com Xylidine ponceau (XP) para identificação de proteínas

totais (O'Brien & McCully, 1981). Por fim, as lâminas das folhas foram observadas no microscópio Olympus (modelo BX61, Tóquio, Japão), equipado com câmera DP-72 para a captura de imagens, utilizando a configuração de campo claro.

2.6 Análise estatística

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições de 50 sementes cada. Os dados foram submetidos à pressuposição da análise de variância (ANOVA) e as comparações foram realizadas pelo teste de Tukey a 5%. Os dados do potencial fisiológico, fluorescência, parâmetros das trocas gasosas, foram submetidos a análise de componentes principais (PCA) e a análise de correlação de Pearson (r). Utilizando o pacote estatístico software R 4.3.2® e os gráficos realizados no SigmaPlot versão 11.0.

3. RESULTADOS

3.1 Efeito da aplicação de diferentes doses de bioinoculante na emergência, comprimento de raiz, comprimento de parte aérea, massa seca de raiz e parte aérea de plântulas de milho

O ensaio apresentou diferenças estatísticas entre as doses de bioinoculante, onde houve um aumento na porcentagem quando avaliada à emergência de plântulas, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) (Figura 1).

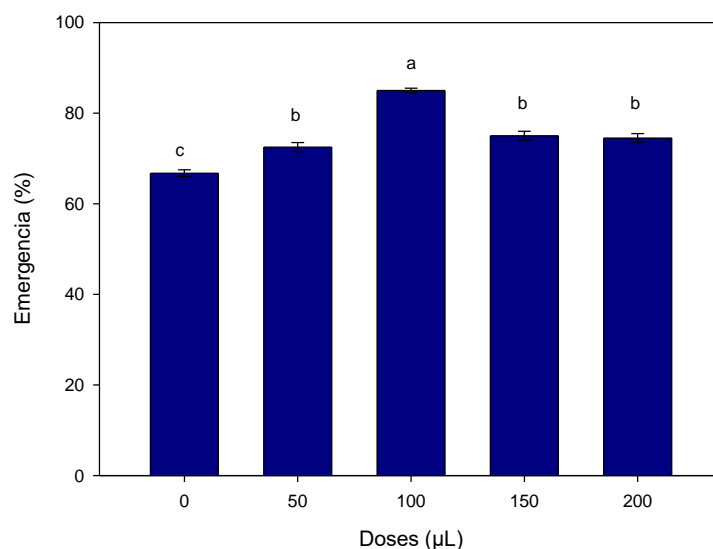


Figura 1. Porcentagem média de emergência de plântulas de milho (%) submetidas a diferentes doses: concentrações de 0; 50; 100; 150 e 200 µL de bioinoculante. Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Barras representam média \pm erro-padrão.

A aplicação do bioinoculante influenciou significativamente a emergência de plântulas, apresentando dose-dependente. O controle (0,00 µL), apresentou a menor taxa de emergência (67%). A resposta aumentou gradualmente, atingindo o valor máximo na dose 100 µL com 85% de emergência, estatisticamente superior aos demais tratamentos. As doses de 50; 150 e 200 µL, também promoveram emergência superior à do controle (com taxas de 73, 75 e 75% respectivamente), mas sem diferenças significativas entre si.

Para comprimento de raiz (cm), todas as doses resultaram em incremento significativo em relação ao controle (Figura 2).

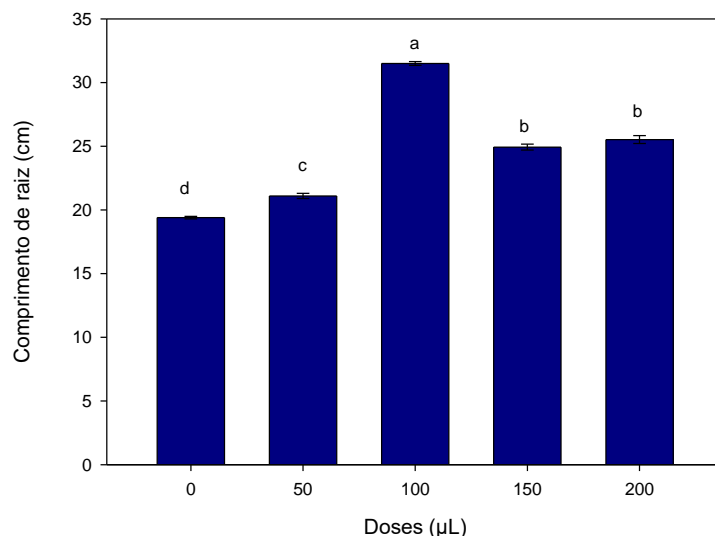


Figura 2. Comprimento da raiz (cm) de plântulas de milho submetidas a diferentes doses: água (0) concentrações de 50; 100; 150 e 200 µL de bioinoculante. Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Barras representam média \pm erro-padrão.

As plântulas controle (0,00 µL) tiveram o menor comprimento radicular com 19 cm, sendo estatisticamente inferior aos demais tratamentos. Uma resposta positiva foi observada com a aplicação da dose de 50 a 200 µL. A dose de 100 µL proporcionou maior comprimento radicular médio sendo aproximadamente 68% a mais de raiz que o controle (Figura 2), sendo estatisticamente superior aos demais tratamentos ($p < 0,05$). As doses de 150 e 200 µL não diferiram entre si, mas apresentaram valores superiores aos observados nos tratamentos de 0 e 50 µL.

O comprimento da parte aérea (cm) também foi influenciado com a aplicação do bioinoculante. O controle com água destilada (0,00) foi inferior, enquanto todas as doses inoculadas diferiram dele, mas não entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Dessa forma, observa-se que, independentemente da dose aplicada, não houve diferença significativa no comprimento da parte aérea entre os tratamentos com o bioinoculante, indicando que doses menores já são suficientes para promover o máximo crescimento das plântulas (Figura 3).

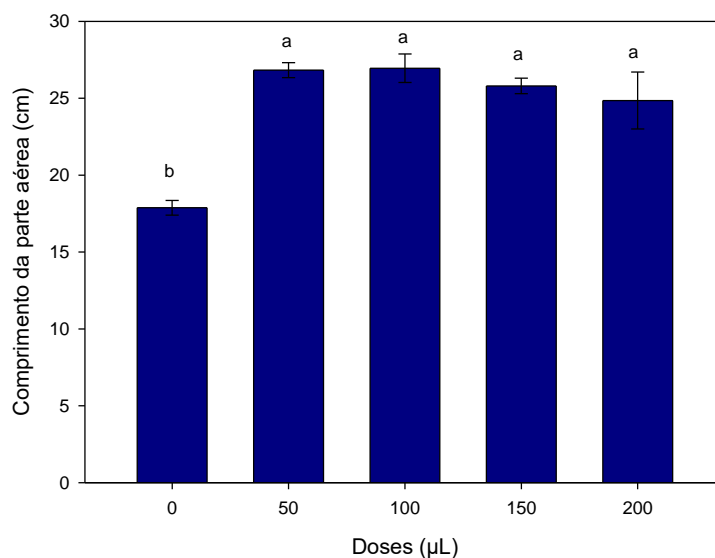


Figura 3. Comprimento da parte aérea (cm) de plântulas de milho submetidas a diferentes doses: água (0) concentrações de 50; 100; 150 e 200 μL de bioinoculante. Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Barras representam média \pm erro-padrão.

A avaliação da massa seca da raiz (g) seguem a resposta observada no comprimento radicular, conforme o teste de Tukey ($p < 0,05$) (Figura 4).

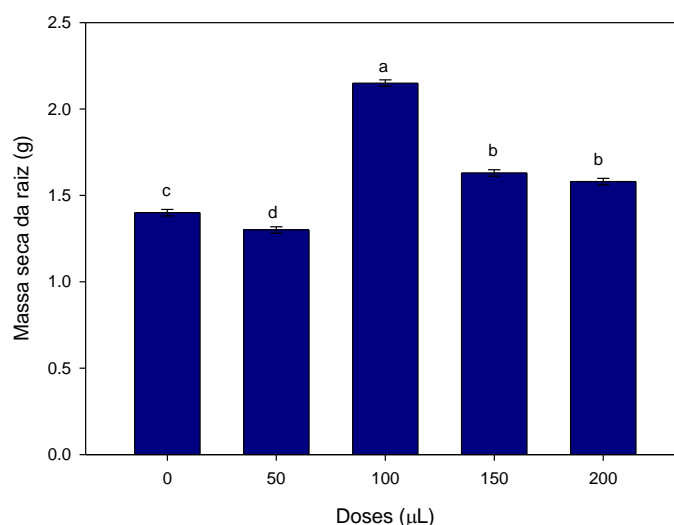


Figura 4. Massa seca da raiz (g) de plântulas de milho submetidas a diferentes doses: água (0) concentrações de 50; 100; 150 e 200 μL de bioinoculante. Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Barras representam média \pm erro-padrão.

Para a massa seca de raiz, todos os tratamentos diferiram estatisticamente. A dose de 50 μL apresentou o menor incremento, próxima ao controle. O maior acúmulo de biomassa radicular foi obtido com 100 μL atingindo cerca de 2,1 g, resultado estatisticamente superior aos demais tratamentos e indicando maior eficiência desta dose no desenvolvimento do sistema radicular.

Assim como no comprimento da parte aérea, as doses de 150 e 200 μL reduziram o desempenho das plântulas em aproximadamente 25% em relação à dose de maior eficiência, mantendo-se estatisticamente semelhantes entre si e superiores apenas às doses de 0,0 e 50 μL .

A avaliação da massa seca da parte aérea (g) não interferiu estatisticamente entre os resultados analisados. De acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$) (Figura 5).

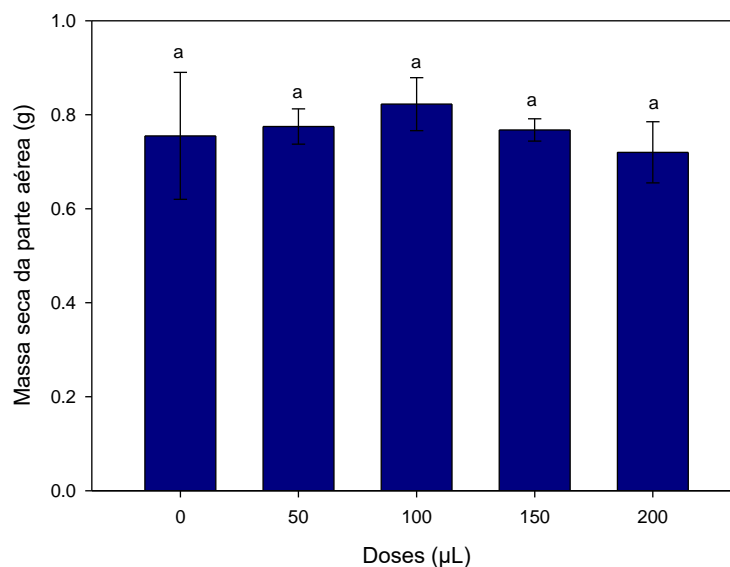


Figura 5. Massa seca da parte aérea (g) de plântulas de milho submetidas a doses: água (0) concentrações de 50; 100; 150 e 200 µL de bioinoculante. Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Barras representam média \pm erro-padrão.

Embora tenha-se observado maior aumento na massa seca na dose de 100 µL, que atingiu 0,82 g, houve ligeira queda das respostas promovidas pelas doses subsequentes não houve diferença.

3.2 Efeito da aplicação de diferentes doses de bioinoculante na análise fisiológica por fluorescência de imagem em plântulas de milho

A fluorescência de clorofila obtida por imagem foi utilizada para avaliar o impacto das doses de bioinoculante na fisiologia fotossintética das plântulas, com foco em parâmetros do fotossistema II (PSII) (Figura 6).

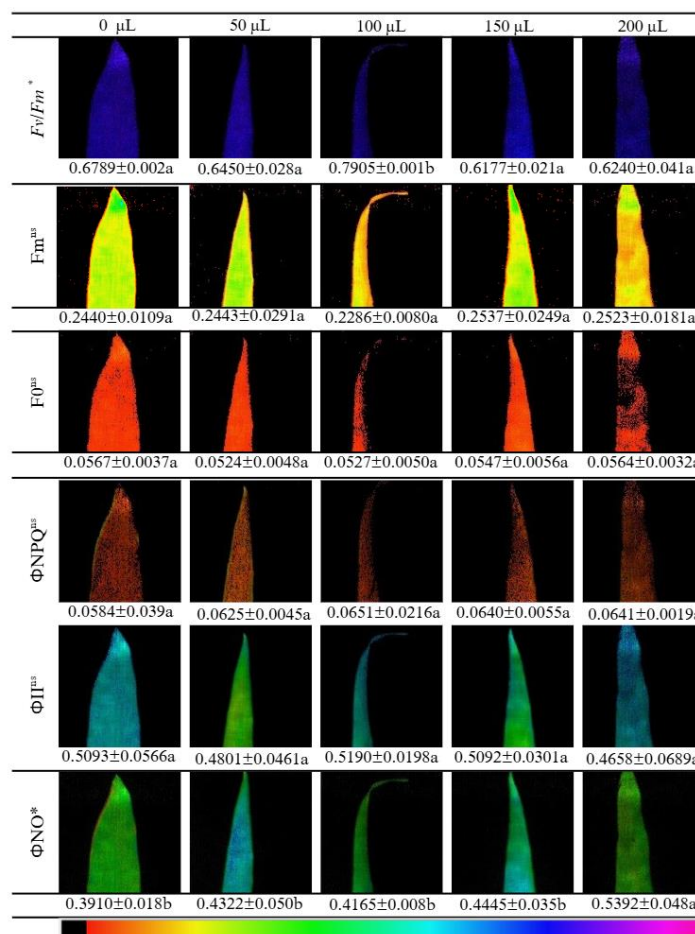


Figura 6. Rendimento quântico potencial do PSII (Fv/Fm), fluorescência máxima (Fm), fluorescência inicial ($F0$), rendimento quântico efetivo do PSII (ΦII), rendimento quântico de dissipação de energia não regulada do PSII (ΦNO) em plântulas de milho, tratadas com diferentes doses: água (0) concentrações de 50; 100; 150 e 200 μL de bioinoculante. Os asteriscos indicam diferenças a 5% (*) de probabilidade, em relação ao controle pelo teste de Tukey. Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Barras representam média \pm erro-padrão.

Houve efeito significativo para o rendimento quântico potencial do PSII (Fv/Fm) e para o rendimento quântico de dissipação de energia não regulada do PSII (ΦNO). A dose de 100 μL se destacou, apresentando o maior valor de Fv/Fm , que foi estatisticamente superior aos resultados obtidos pelas outras doses avaliadas. Na dissipação de energia não regulada, apenas a dose de 200 μL apresentou diferença. Assim, o bioinoculante não alterou a dinâmica fotoquímica, exceto pelo ganho de Fv/Fm na dose de 100 μL .

3.3 Efeito da aplicação de diferentes doses de bioinoculante na fisiologia das trocas gasosas

A análise estatística das variáveis de trocas gasosas realizada ao décimo segundo dia, não apresentou alteração nos parâmetros das trocas gasosas entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os valores médios (\pm erro padrão) são homogêneos em todas as concentrações (Tabela 1).

Tabela 1. Taxa transpiratória (E), Taxa fotossintética (A), relação entre concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a) e condutância estomática (g_s) em plântulas de milho aos 12 após emergência.

Doses	E ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	A ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	C_i/C_a	g_s ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
0 (água)	0.0025±0.0011	1.73±1.04	1.15±0.07	0.12±0.06
50	0.0024±0.0015	3.06±1.02	1.43±0.39	0.11±0.07
100	0.0025±0.0023	1.96±1.53	1.35±0.40	0.12±0.11
150	0.0008±0.0005	2.44±0.57	1.64±0.21	0.04±0.02
200	0.0033±0.0024	3.39±1.47	1.74±0.77	0.16±0.12
CV (%)	91.44	61.3	40.3	95.82

Médias ± Erro padrão seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.4 Efeito da aplicação de diferentes doses nas alterações anatômicas e histoquímicas induzidas pelo bioinoculante

O milho é uma planta do tipo C4, com morfologia foliar caracterizada pela presença de células da bainha do feixe vascular organizadas em torno do xilema e floema, arranjo este conhecido como anatomia Kranz, parênquima clorofiliano desenvolvido e células buliformes. A análise anatômica evidenciou diferenças na morfologia das plântulas como observado na figura 7.

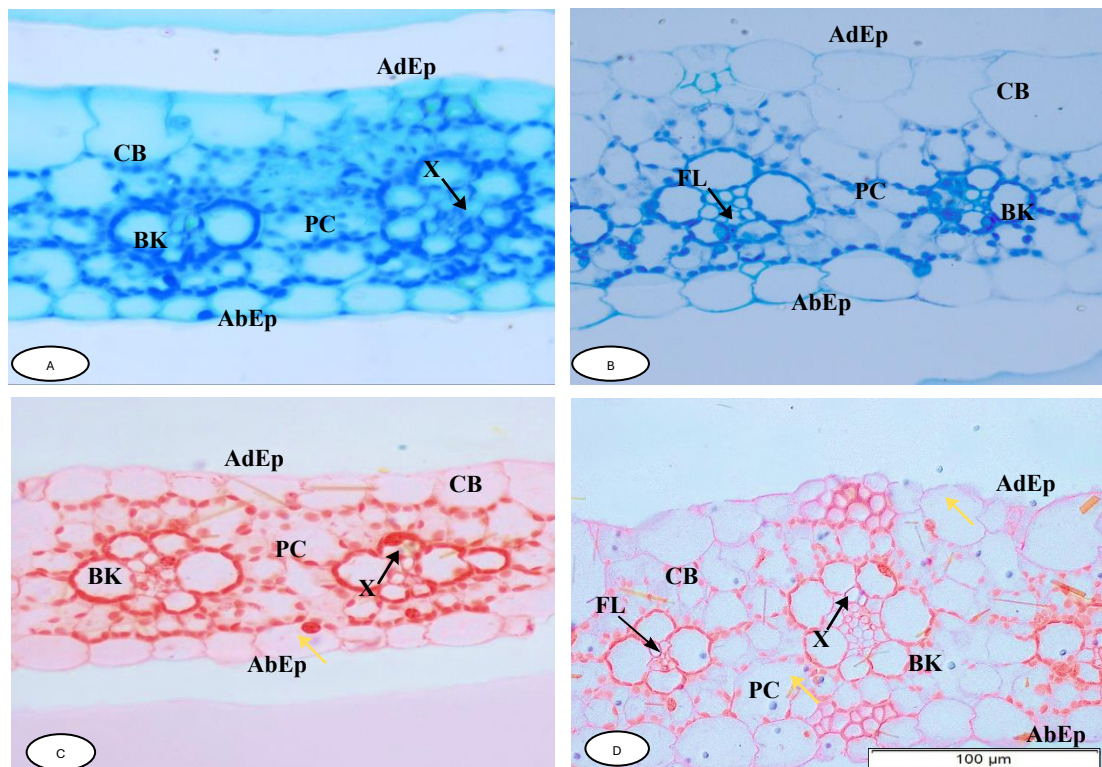


Figura 7. Cortes transversais em plântulas de milho, sob microscopia óptica, corada com azul de toluidina (A, B). E coloração com xylydine ponceau para identificação de proteína (C, D). Área foliar controle com água (A, C) e 200 μL do bioinoculante (B, D). Epiderme adaxial (AdEp); Epiderme abaxial (AbEp); Célula buliforme (CB); Parênquima clorofiliano (PC); Bainha Kranz (BK); Xilema (X); Floema (FL). Barras: 100 μm .

A imagem ilustrativa de controle (A e C), mostra uma forma mais organizada das estruturas celulares da folha, com as epidermes bem definidas, células buliformes (CB) mantendo turgência foliar, bainha do feixe (BK), parênquima clorofiliano (PC), xilema (X) e floema (FL) em disposição mais compacta. Nas imagens (B e D), com bioinoculante na dose 200 μL , é notável desorganização no parênquima, espaçamento intracelular maior e menor definição do sistema vascular (xilema e floema).

3.5 Análise multivariada por componentes principais (PCA) das respostas morfofisiológicas às doses de bioinoculante em plântulas de milho

A análise de componentes principais (PCA) analisou os tratamentos e as características em três eixos que, juntos, explicaram 67,5 % da variância total: Dim1 = 29,3 %, Dim2 = 20,0 % e Dim3 = 18,2 % (Figura 8).

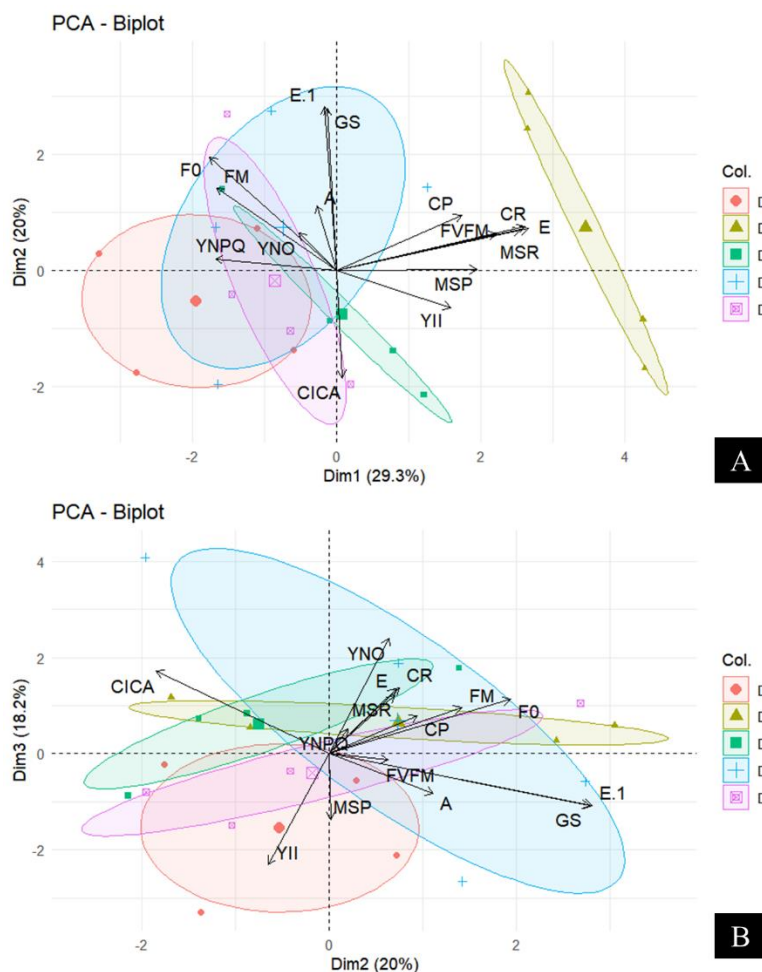


Figura 8. Biplots da análise de componentes principais (PCA) com os eixos Dim1 \times Dim2 (a) e Dim2 \times Dim3 (b) para variáveis de qualidade, crescimento e vigor de sementes, emergência (EM), comprimento de raiz (CR), comprimento de parte aérea (CP), massa seca de raiz (MSR), massa seca de parte aérea (MSP), dados de fluorescência de imagem, rendimento quântico potencial do PSII (F_v/F_m), fluorescência máxima (Fm), fluorescência inicial (F₀), rendimento quântico efetivo do PSII (Φ II), rendimento de extinção não fotoquímica (YNPQ), rendimento quântico de dissipação de energia não regulada do PSII (Φ NO) e de trocas gasosas, taxa fotossintética (A), taxa transpiratória (E) condutância estomática (Gs) e relação entre concentração interna e externa de CO₂ (Ci/Ca) de plântulas de milho submetidas a doses com água (D0) concentrações de D50; D100;

D150 e D200 μL . Os pontos representam as repetições individuais, agrupadas por elipses de confiança a 95%. Os vetores indicam a direção e a força da contribuição de cada variável.

A análise de componentes principais destacou a dose de 100 μL (D100) pela maior associação com crescimento e eficiência fotoquímica, enquanto o controle (D0) e 50 μL (D50) agruparam-se com menor desempenho. A dose de 200 μL (D200) esteve mais relacionada às variáveis de trocas gasosas, e a de 150 μL (D150) ocupou posição intermediária entre maior crescimento e maior dissipação de energia.

3.6 Correlações de Pearson entre variáveis de crescimento, fluorescência da clorofila e trocas gasosas

A análise de correlação de Pearson evidenciou as possíveis variações de crescimento (EM, CR, CP, MSR, MSP), parâmetros de fluorescência de imagem (Fm, F_v/F_m , YII, YNPQ, YNO, F0) e trocas gasosas (E, A, CI/CA, GS), figura 9.

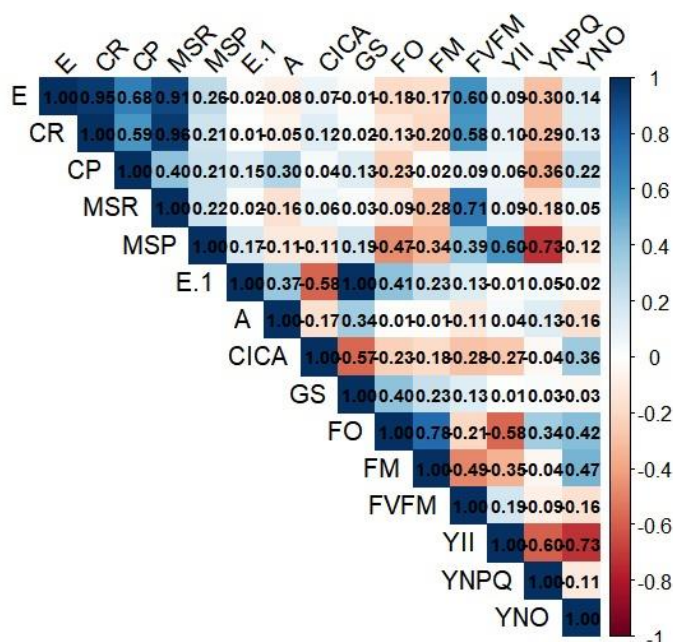


Figura 9. Correlações de Pearson entre variáveis de crescimento, fluorescência da clorofila e trocas gasosas. A intensidade da correlação é indicada pela cor (azul para positiva, vermelho para negativa) e pelo coeficiente (r). As abreviações correspondem a: EM (emergência), CR (comprimento da raiz), CP (comprimento da parte aérea), MSR (massa seca da raiz), MSP (massa seca da parte aérea), Fm (fluorescência máxima), F_v/F_m (rendimento quântico potencial do PSII), YII (rendimento quântico efetivo do FSII), YNPQ (rendimento quântico da dissipação não fotoquímica regulada), YNO (rendimento quântico de dissipação de energia não regulada do PSII), F0 (fluorescência inicial), E (transpiração), A (assimilação de CO_2), CICA (razão Ci/Ca) e GS (condutância estomática).

Os índices de estabelecimento e crescimento mostraram forte associação entre si. A emergência de plântulas (EM) apresentou correlação quase perfeita com o comprimento de raiz (CR; $r = 0,95$) e com a massa seca de raiz (MSR; $r = 0,91$), além de associação moderada com o comprimento da parte aérea (CP; $r = 0,68$). Já a massa seca da parte aérea (MSP) correlacionou-se positivamente com o rendimento quântico efetivo do PSII (YII; $r = 0,60$). Por outro lado, a

fluorescência máxima (F_m) mostrou correlações negativas com F_v/F_m ($r = -0,49$) e Y_{II} ($r = -0,35$), enquanto Y_{II} apresentou forte correlação negativa com Y_{NPQ} ($r = -0,63$) e Y_{NO} ($r = -0,73$).

Nas variáveis de trocas gasosas, Y_{II} correlacionou-se positivamente com a taxa de assimilação de CO_2 (A ; $r = 0,04$) e com a condutância estomática (GS ; $r = 0,01$). A apresentou correlação negativa com a razão C_i/C_a ($r = -0,17$) e correlação positiva moderada com GS ($r = 0,34$), refletindo a coerência funcional entre esses parâmetros.

4. DISCUSSÃO

As bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) compõem um grupo de microrganismos de vida livre capazes de estimular o desenvolvimento das plantas por mecanismos diretos ou indiretos. Elas atuam solubilizando nutrientes, produzindo fitormônios e ativando mecanismos de defesa, como a indução de resistência sistêmica. Além disso, essas bactérias colonizam a rizosfera ou até mesmo os tecidos internos das plantas, estabelecendo interações benéficas tanto para o hospedeiro quanto para os microrganismos (Dias; Santos, 2022).

Os resultados obtidos neste trabalho indicam um efeito positivo do bioinoculante sobre a variável emergência de plântulas. Observou-se um maior índice de emergência na dose de 100 μ L, que superou o tratamento controle (67%). Esse resultado sugere que a presença de *Bacillus* spp. favoreceu o processo de emergência. Um comportamento semelhante foi relatado por Deng et al. (2022), que observaram aumento na emergência de plântulas de milho inoculadas com *Bacillus aryabhattai*, efeito atribuído à produção de fitormônios e à maior solubilização de nutrientes no substrato. Resultados parecidos na cultura do milho também foram encontrados por Song et al. (2023), em experimentos com *Bacillus circulans*, reforçando a atuação dessas bactérias como bioestimulantes nos estágios iniciais do desenvolvimento vegetal.

O aumento no crescimento e na biomassa pode ser relacionado à capacidade dessas bactérias em auxiliar na promoção de crescimento vegetal, por meio de múltiplos mecanismos como: solubilização de fosfatos, biossíntese de fitormônios como ácido indolacético (AIA), produção de sideróforos e fixação biológica de nitrogênio (Zhang et al., 2023; Zhao et al., 2024). Estudos conduzidos por Radhakrishnan et al. (2017) destacam que essas alterações são fundamentais para o desenvolvimento radicular, pois estimulam o metabolismo da planta e aumentam a disponibilidade de nutrientes.

Na dose ideal do bioinoculante à base de *Bacillus* spp., ocorre uma melhor resposta na sinergia entre a bactéria e a planta, sem que haja competição por recursos e promovendo o desenvolvimento eficiente das plântulas. A análise de componentes principais (PCA) reforça esses achados ao posicionar a dose de 100 μ L isoladamente no eixo Dim1, em associação com as variáveis comprimento de raiz (CR), massa seca da raiz (MSR) e rendimento quântico potencial do PSII (F_v/F_m), sugerindo uma sinergia entre o crescimento radicular e a eficiência fisiológica.

Um trabalho similar, conduzido por Pathak et al. (2024), demonstra que, embora *Bacillus aryabhattai* e *Bacillus circulans* promovam o crescimento inicial de plântulas de milho, doses elevadas de inoculantes podem causar desequilíbrio fisiológico na planta, interferindo na sinalização hormonal das raízes e provocando o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ROS). Esse padrão também foi observado no presente estudo: as doses de 150 e 200 μL apresentaram desempenho inferior em relação à dose de 100 μL na variável massa seca de raiz, corroborando os achados de Egamberdieva et al. (2018), os quais indicam que a superinoculação pode levar à competição entre as bactérias na rizosfera por espaço e nutrientes, além de induzir estresses abióticos na região radicular.

O uso do bioinoculante a base de *Bacillus* spp., apresentou uma resposta positiva, com aumento significativo no comprimento da parte aérea em todas as doses testadas em comparação a dose controle. Esse resultado não se aplicou quando foi observado na biomassa, pois não houve acréscimo proporcional sugerindo assim uma predominância a expansão celular, possivelmente induzido por algum fitormônio microbiano.

Essa dissociação no crescimento também foi observada por Alonazi et al. (2025), onde esse padrão de acúmulo de biomassa e alongamento ocorreu em parte aérea em milho sobre inoculação com *Bacillus haynessi* sob estresse salino, observaram um incremento na parte aérea, mas sem incremento na massa seca da mesma. A literatura indica que esse tipo de resposta pode estar relacionado à produção de giberelinas por bactérias promotoras de crescimento, hormônios estes que induzem alongação celular sem aumentar a densidade tecidual (Song et al., 2023). Estudos como o de Oliveira et al. (2023), também demonstram esse comportamento, onde cepas como *Bacillus velezensis* promovem um direcionamento dos fotoassimilados para o sistema radicular, com aumento de 40% na massa seca das raízes de trigo, sem ao menos ter alguma alteração na parte aérea.

A análise da fluorescência de imagem apresentou maior eficiência no fotossistema II (F_v/F_m) na dose 100 μL do bioinoculante, esse resultado mostra um melhor desempenho fotoquímico do PSII. Estudos com pepino (*Cucumis sativus*) mostrou que em conjunto com potássio a bactéria de *Bacillus subtilis* apresentou aumento no comprimento das raízes, altura de plantas e parâmetros fotossintéticos como F_v/F_m (Li et al., 2024).

Além disso, o aumento em F_v/F_m pode estar associado à produção de fitormônios, como o ácido indolacético (AIA), induzida por *Bacillus* spp., que favorecem o crescimento radicular. Estudos mostram que a inoculação com *Bacillus* elevou a relação F_v/F_m em plantas de pimenta, acompanhada de produção de auxinas (Samaniego-Gámez et al., 2016). Em milho, foi demonstrado que a via de biossíntese de IAA em uma cepa de *Bacillus* é essencial para o efeito promotor de crescimento (Figueredo et al., 2023). O equilíbrio entre a eficiência fotossintética e a sinalização hormonal explica a sinergia entre desempenho fisiológico e morfológico.

Segundo Galicia-Campos et al. (2023) trabalhando com Oliveiras (*Olea europaea*), também mostrou um aumento no F_v/F_m inoculado com *Bacillus* spp., em condições de estresse salino, resultado este relacionados a prevenção de acúmulos excessivo de oxigênio. Podemos observar que

os *Bacillus* spp., promovem eficiência não só na cultura do milho, mas em diferentes culturas, inclusive sob condições adversas.

Na relação de rendimento quântico da dissipação não regulada, o valor mais alto é na dose 200 μL , onde sugere-se que a planta não conseguiu dissipar adequadamente o seu excesso de energia de forma regulada causando risco de danos no PSII, resposta essa que indicam efeitos tóxicos ou estresse por altas doses. Como observado neste experimento, os cortes anatômicos e histoquímicos na dose 200 μL , apresentou diferença visual do estresse nas células das plântulas.

Neste estudo, não foram observadas diferenças estatísticas significativas nas variáveis relacionadas às trocas gasosas. Ainda que não tenha havido impacto direto nesse estágio inicial de desenvolvimento das plântulas, não se pode descartar a possibilidade de efeitos mais nas fases posteriores do ciclo da cultura. Da mesma forma, as análises histoquímicas revelaram alterações relevantes nas estruturas celulares, o que reforça a necessidade de investigações complementares. São necessários mais estudos para compreender, de forma mais aprofundada, a influência das bactérias do gênero *Bacillus* spp., sobre os mecanismos fisiológicos associados às trocas gasosas e às modificações histoquímicas em tecidos vegetais.

A análise de componentes principais (PCA) foi eficaz ao sintetizar os efeitos combinados das variáveis morfológicas, fisiológicas e bioquímicas avaliadas. A dose de 100 μL destacou-se ao agrupar-se isoladamente no quadrante positivo do primeiro componente (Dim1), altamente correlacionado com características de crescimento, como comprimento da raiz, comprimento da parte aérea, massa seca radicular e rendimento quântico potencial do PSII (F_v/F_m). Estes resultados indicam que essa dose intermediária configurou um perfil fisiológico equilibrado e favorecedor para o desenvolvimento das plântulas de milho. Essa abordagem multivariada também é observada em outras culturas como exemplo o espinafre, infectadas com *Bacillus circulans*, o PCA permitiu diferenciar os grupos de plantas em função de parâmetros como crescimento radicular, biomassa e atividade fotossintética, com esses últimos fortemente associados às variáveis de crescimento Shahid et al. (2022).

A análise de correlação de Pearson revelou fortes associações entre: emergência, comprimento da raiz ($r = 0,95$) e massa seca de raiz ($r = 0,91$), indicando que o sistema radicular foi determinante para o sucesso inicial das plântulas. O rendimento quântico efetivo do PSII (YII) também apresentou correlação positiva com a massa seca da parte aérea ($r = 0,60$), sugerindo que respostas fisiológicas sutis podem antecipar ganhos em biomassa.

Essas abordagens se tornam comuns em estudos com *Bacillus* spp., em um experimento com diferentes cepas de bactérias no milho em condições normais e de estresse salino, foram observadas fortes correlações entre biomassa da raiz, comprimento de raiz e parte aérea, além de agrupamentos distintos no PCA (Zakavi et al., 2022). Esse padrão reforça que a dose de 100 μL promoveu o melhor perfil fisiológico e morfológico, enquanto doses extremas (150 e 200 μL) se associaram a menores desempenhos ou alterações indesejadas, como emergência reduzida ou sinais de estresse fisiológico.

Por fim, a consistência da dose de 100 μ L tanto isoladamente quanto em conjunto com outras variáveis reforça que a escolha dessa concentração oferece um crescimento morfofisiológico. Portanto, estudos complementares em condições de campo e fases posteriores da cultura são recomendados para validar os efeitos aqui observados inicialmente.

5. CONCLUSÃO

A bioinoculação com *Bacillus* spp. demonstrou potencial para aprimorar o estabelecimento inicial de plântulas de milho e favorecer o desempenho fisiológico de plântulas de milho.

A dose de 100 μ L destacou-se como mais eficiente, promovendo equilíbrio entre crescimento radicular e eficiência fotoquímica.

O uso de bioinoculantes em doses adequadas representa uma alternativa promissora para o manejo sustentável da cultura do milho.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alonazi, M. et al. Native plant growth-promoting rhizobacteria containing ACC deaminase promote plant growth and alleviate salinity and heat stress in maize (*Zea mays* L.). *Plants*, v. 14, n. 3, p. 402, 2025. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2223-7747/14/3/402>.
- Brasil. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Regras para análise de sementes. Brasília, DF: MAPA/Secretaria de Defesa Agropecuária, 2025.
- CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento – Conab. (2024). Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos> . Acesso em: 31 maio 2025.
- Deng, C. et al. *Bacillus aryabhattai* LAD impacts rhizosphere bacterial community structure and promotes maize plant growth. *Frontiers in Microbiology*, v. 13, p. 917382, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.917382>
- Dias, S. A.; Santos, C. C. Bactérias promotoras de crescimento de plantas: conceitos e potencial de uso. Cuiabá, MT: Editora Pantanal, 2022. e-book. Acesso em: 12 ago. 2025.
- Egamberdieva, D.; Wirth, S. J.; Alqarawi, A. A.; Abd-Allah, E. F.; Hashem, A. Phytohormones and beneficial microbes: essential components for plants to balance stress and fitness. *Frontiers in Microbiology*, v. 8, p. 2104, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02104>.
- Freire da Silva, M.; Assunção, C.; Lourençato, V. Teste de vigor para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho. 324–334, 2023.
- Figueredo, Ma et al. O papel fundamental da biossíntese do ácido indol-3-acético por *Bacillus thuringiensis* RZ2MS9 na promoção do crescimento do milho revelado pelo gene *ipdC*. *Frontiers in Plant Science*, v. 14, p. 1168493, 2023.
- Fuga, C. A. et al. Promoção de crescimento de plântulas de milho por *Bacillus aryabhattai* CMAA 1363. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2023. Disponível em: [https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1164575/1/Melo-Growth-promotion-2023](https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1164575/1/Melo-Growth-promotion-2023.pdf) .pdf. Acesso em: 12 ago. 2025.
- Galicia-Campos, E., García-Villaraco, A., Montero-Palmero, M.B. et al. *Bacillus* G7 improves adaptation to salt stress in *Olea europaea* L. plantlets, enhancing water use efficiency and preventing oxidative stress. *Sci Rep* **13**, 22507 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-49533-z> . Gentil Jacinto Junior, S.; Lucena, E. Alterações morfofisiológicas e metabólitos secundários produzidos por feijoeiros submetidos ao estresse hídrico: uma revisão integrativa. *Research, Society and Development*, v. 11, n. 14, 2022. DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i14.36505>.
- Genty, B.; Briantais, J. M.; Baker, N. R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica*

et Biophysica Acta – General Subjects, v. 990, p. 87–92, 1989. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(89\)80016-9](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(89)80016-9).

Hendrickson, L. et al. Photoprotection strategies in near-surface-tundra plants. Functional Plant Biology, v. 31, p. 1075–1085, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1071/FP04082>.

Jiao, X.; Takishita, Y.; Zhou, G.; Smith, D. L. Plant associated rhizobacteria for biocontrol and plant growth enhancement. Frontiers in Plant Science, v. 12, art. 634796, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.634796>

Li, C.; Zeng, Q.; Han, Y.; Zhou, X.; Xu, H. Effects of *Bacillus subtilis* on cucumber seedling growth and photosynthetic system under different potassium ion levels. Biology, v. 13, art. 348, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/biology13050348>

Nakagawa, J. Testes de vigor baseados na avaliação das plântulas. In: Krzyzanowski, F. C.; Vieira, R. D.; França Neto, J. B. (org.). Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 1999. p. 2.1–2.21.

O'Brien, T. P.; Feder, N.; McCully, M. E. The study of plant structure: principles and selected methods. Protoplasma, v. 59, p. 368–373, 1964.

Oxborough, K.; Baker, N. R. Resolving chlorophyll a fluorescence images of photosynthetic efficiency into photochemical and nonphotochemical components – calculation of qP and F_v'/F_m' without measuring F_o' . Photosynthesis Research, v. 54, p. 135–142, 1997. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1005936823310>

Pathak, R. K.; Wang, Y.; Zhao, W.; Wang, C. et al. Optimization of *Bacillus* spp. inoculum dose improves growth and stress tolerance in maize (*Zea mays*). Journal of Applied Microbiology, v. 136, n. 1, p. 110–123, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1111/jam.15874>

Radhakrishnan, R.; Khan, A. L.; Lee, I. J. Endophytic *Bacillus* species modulate plant hormones and promote growth under normal and abiotic stress conditions. Indian Journal of Microbiology, v. 57, n. 4, p. 419–428, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12088-017-0654-8>

Samaniego-gámez, by et al. A inoculação com *Bacillus* spp. melhora a eficiência do fotossistema II e aumenta a fotossíntese em plantas de pimenta. Revista Chilena de Pesquisa Agrícola, v. 76, n.10.4067/S0718-58392016000400003

Santoyo, G.; Guzmán-Guzmán, P.; Parra-Cota, FI; Santos-Villalobos, Sdl; Orozco-Mesquita, MDC; Glick, BR Estimulação do crescimento de plantas por Microbial Consortia. *Agronomia* **2021**, 11, 219. <https://doi.org/10.3390/agronomy11020219>

Shiferaw, B., Prasanna, B. M., Hellin, J., & Bänziger, M. (2011). Crops that feed the world 6. Past successes and future challenges to the role played by maize in global food security. *Food Security*, 3(3), 307–327. <https://doi.org/10.1007/s12571-011-0140-5>

Silva, F. S. et al. Importance of physiological quality of corn seeds. Journal of Agricultural Science and Technology, v. 23, n. 5, p. 211–220, 2021.

Singh, R.; Kumar, S.; Patel, M. Auxin-producing *Bacillus aryabhattai* LAD improves early root development in *Zea mays* through modulation of ROS and IAA signaling. *BMC Microbiology*, v. 24, n. 43, p. 1–12, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12866-024-03479-y>

Sommer, A. S. et al. Vigor of hybrid corn seeds is determinant for the establishment of seedlings in the field. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, Lages, SC, 2024. ISSN 2238-1171.

Song, X. et al. Plant growth-promoting rhizobacteria improve maize growth and tolerance to cadmium stress. *Scientific Reports*, v. 13, art. 4398, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-31478-w>

Shahid, et al. Plant growth-promoting *Bacillus* sp. strain SDA-4 confers Cd tolerance by physio-biochemical improvements, better nutrient acquisition and diminished Cd uptake in *Spinacia oleracea* L. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 2020. DOI:10.1007/s12298-020-00900-4

Tetreault, H., Jin, X., & Huayta-Hinojosa, M. (2023). An RGB image dataset for seed germination prediction and vigor assessment. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1341335. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1341335>

Tsotetsi T, Nephali L, Malebe M, Tugizimana F. *Bacillus* for Plant Growth Promotion and Stress Resilience: What Have We Learned? *Plants* (Basel). 2022 Sep 22;11(19):2482. Doi: [10.3390/plants11192482](https://doi.org/10.3390/plants11192482)

Wu, J. et al. Alleviation of salt stress in maize by *Bacillus subtilis* HS5B5 through enhancement of photosynthesis and antioxidant defense. *Agronomy*, v. 13, n. 7, p. 1874, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/agronomy13071874>

Zakavi, M., Askari, H. & Shahrooei, M. Resposta do crescimento do milho a diferentes cepas de *Bacillus* isoladas de uma área de pântano salgado sob estresse salino. *BMC Plant Biol* **22**, 367 (2022). <https://doi.org/10.1186/s12870-022-03702-w>

Zhang, X.; Liu, Y.; He, L.; Wang, Y. et al. Root architecture enhancement by *Bacillus* strains through auxin biosynthesis and nutrient mobilization. *Environmental Microbiology Reports*, v. 15, n. 1, p. 78–88, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1111/1758-2229.13135>

Zhao, H.; Li, J.; Mao, Y. et al. Role of *Bacillus* spp. in improving phosphorus availability and root development in maize (*Zea mays* L.). *Plant and Soil*, v. 493, p. 231–246, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11104-023-06293-9>