

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIAS E TECNOLOGIA GOIANO

MARIA CLARA DE ANDRADE PEREIRA DA SILVA

IMPACTO DA INOCULAÇÃO COM CEPAS DA BACTÉRIA *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 SOBRE OS PROCESSOS FISIOLÓGICOS DE SOJA EXPOSTA À SECA

**RIO VERDE – GO
2019**

MARIA CLARA DE ANDRADE PEREIRA DA SILVA

IMPACTO DA INOCULAÇÃO COM CEPAS DA BACTÉRIA *Bacillus amyloliquefaciens* SOBRE OS PROCESSOS FISIOLÓGICOS DE SOJA EXPOSTA À SECA

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado à disciplina TCC 2, do curso de Bacharelado em Ciências Biológicas do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – *Campus* Rio Verde, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel.

Orientador (a): Prof^a. Dra. Fernanda dos Santos Farnese

Corientador (a): Prof. Dr. Eduardo Souza Freire

RIO VERDE – GO

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

S IM34i Silva, Maria Clara de Andrade Pereira da
IMPACTO DA INOCULAÇÃO COM CEPAS DA BACTÉRIA
Bacillus amyloliquefaciens SOBRE OS PROCESSOS
FISIOLÓGICOS DE SOJA EXPOSTA À SECA / Maria Clara de
Andrade Pereira da Silva; orientadora Fernanda dos
Santos Farnese; co-orientador Eduardo Souza Freire. -
- Rio Verde, 2019.
36 p.

Monografia (em Bacharelado em Ciências
Biológicas) -- Instituto Federal Goiano, Campus Rio
Verde, 2019.

1. Glycine max.. 2. déficit hídrico. 3. fisiologia
vegetal. 4. fotossíntese. I. Farnese, Fernanda dos
Santos, orient. II. Freire, Eduardo Souza, co-
orient. III. 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 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

Identificação da Produção Técnico-Científica

- Tese Artigo Científico
 Dissertação Capítulo de Livro
 Monografia - Especialização Livro
 TCC - Graduação Trabalho Apresentado em Evento
 Produto Técnico e Educacional - Tipo: _____

Nome Completo do Autor: *Janina Elana de Andrade Pereira da Silva*
Matrícula: *2016102230530279*

Título do Trabalho: *Impacto da Inoculação com cepas da bactéria *Bacillus amyloliquefaciens* B103 sobre os processos fisiológicos de soja exposta à seca.*
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;
- obteve autorização de quaisquer materiais incluídos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, 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;
- 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


Janina Elana de A. P. da Silva
Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

Ciente e de acordo:

Lucimonda S. Carmese
Assinatura do(a) orientador(a)

No dia 22 do mês de novembro de 2019, às 14 horas e 00 minutos, reuniu-se a banca examinadora composta pelos docentes Fernanda dos Santos Farnese, Leticia Ferreira de Sousa e Rauander Douglas Ferreira Barros Alves para examinar o Trabalho de Curso (TC-2) intitulado: **Impacto da inoculação com cepas da bactéria *Bacillus amyloliquefaciens* sobre os processos fisiológicos de soja exposta à seca** do(a) acadêmico(a) Maria Clara de Andrade Pereira da Silva, Matrícula nº 2016102230530279 do curso de Bacharelado em Ciências Biológicas do IF Goiano – Campus Rio Verde. Após a apresentação oral do projeto, houve arguição do candidato pelos membros da banca examinadora. Após tal etapa, a banca examinadora decidiu pela aprovação do(a) acadêmico(a). Ao final da sessão pública de defesa foi lavrada a presente ata, que segue datada e assinada pelos examinadores.

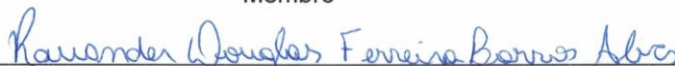
Rio Verde, 22 de novembro de 2019.



Fernanda dos Santos Farnese
Orientador(a)



Leticia Ferreira de Sousa
Membro



Rauander Douglas Ferreira Barros Alves
Membro

Observação:

() O(a) acadêmico(a) não compareceu à defesa do TC.

Dedico este trabalho à minha família.

AGRADECIMENTOS

Difícil definir em palavras o quão grata estou por finalizar mais essa etapa. Gostaria de agradecer primeiramente a Deus, por me dar suporte e a manter esperança. Gostaria de agradecer a minha queridíssima Mãe, por me amar, motivar e consolar na loucura dessa vida de universitária, assim como agradecer ao meu irmão, que mesmo longe e difícil comunicação, me ouviu e me incentivou. Enfim, agradeço a minha família por me incentivar sempre a continuar, mesmo quando os meus avós diziam “ pra vir embora logo”. Amo minha família e prezo de todo coração;

Meus agradecimentos vão também ao Vicejar – Laboratório de Fisiologia Vegetal do Estresse, por me auxiliar na minha aprendizagem e carreira de pesquisadora. Aos meus orientadores, Fernanda e Paulo por estarem tão dispostos a orientar-me durante esses 3 anos e meio e a ajudar no meu crescimento, assim como o meu co-orientador Eduardo por nos apoiar neste experimento. Aos meus colegas do laboratório, Lucas, Letícia, Rauander, Maria Lúcia por me ajudar e motivar durante o meu próprio experimento. Assim como os novos ICs do laboratório, Igor, Kamila, Maria Eduarda e Gabriel. Não esquecendo também, de minha amiga Jéssica, que passou a madrugada neste IF comigo;

Sou grata também ao Instituto Federal Goiano, por disponibilizar um curso tão conceituado com professores próximos aos alunos e dispostos a fazer muito pelo curso e pelos alunos. Sou grata também ao CNPq e ao IF Goiano, por investir na pesquisa e assim podermos fazer um mundo com mais conhecimento.

Com isso, deixo todos com estima consideração e agradecimento.

OBRIGADA!

“Caminhando e cantando e seguindo a canção
Somos todos iguais braços dados ou não
Nas escolas, nas ruas, campos construções
Caminhando e cantando e seguindo a canção
Vem vamos embora que esperar não é saber
Quem sabe faz a hora não espera acontecer
Vem vamos embora que esperar não é saber
Quem sabe faz a hora não espera acontecer [...]”.

- Geraldo Vandré

RESUMO

SILVA, MARIA CLARA DE ANDRADE PEREIRA DA. **Impacto Da Inoculação Com Cepas Da Bactéria *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 Sobre Os Processos Fisiológicos De Soja Exposta À Seca.** 2019. 32 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Bacharelado em Ciências Biológicas. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, Goiás. Rio Verde Goiás, 2019.

A soja é um dos grãos mais consumidos e produzidos mundialmente, portando a economia de vários países, principalmente Estados Unidos e o Brasil. Com a expansão agrícola, a produção de soja se encontra em toda região brasileira. Desta forma, compreendendo a grande responsabilidade que o Brasil tem na produção e exportação da soja é importante estudar a fisiologia desta cultivar para que possamos estipular metodologias e estratégias para garantir a sobrevivência e produtividade da soja nos cenários atuais, os veranicos, e o cenário futuro, mudanças climáticas e aquecimento global. Em um estudo, simularam o efeito do aquecimento global sob a cultivar de soja e observaram que é efetivamente negativo para produção e rendimento da soja, pois o fator limitante para produção é a disponibilidade hídrica e no atual e futuro cenário, se observa uma maior frequência de estiagem e restrição hídrica. Logo, uma estratégia que as plantas tomam quando em estresse, é o fechamento estomático, pois ele limita a perda de água para a atmosfera, porém, se for um período de seca muito prolongada e intensa pode ocasionar danos no aparato fotossintético, levando a planta até a morte. Neste sentido, para contornar esses efeitos negativos, alguns produtores agrícolas estão utilizando de programas agrícolas sustentáveis, por exemplo, a utilização de microrganismos promotores de crescimentos em plantas, pois eles possuem um potencial de mitigar o efeito estressante, principalmente fitopatológico, e aumentar a produtividade, além disso, esses microrganismo são encontrados na própria microbiota, tornando a sua utilização sustentável e prática. Logo, utilizamos a bactéria *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 (BV03), preparamos uma calda e homogeneizamos as sementes de soja e semeamos em solo adubado, dispendo em tratamentos: controle (CT), déficit hídrico (DH), controle mais BV03 (CT+BV03) e déficit hídrico mais BV03 (DH+BV03). As plantas ficaram submetidas aos tratamentos por 16 dias e após este tempo, avaliamos o potencial hídrico, área foliar e altura, parâmetros fisiológicos, concentração de pigmentos e danos de membrana. A partir disso, observamos que as plantas em DH+BV03, apresentaram uma maior fotossíntese em relação às plantas em DH, assim como maior eficiência na carboxilação e uso da água, sendo assim, o BV03 foi capaz de atenuar os danos ocasionados pelo DH evitando a desidratação dos tecidos e mantendo o potencial fotossintético das plantas. Neste sentido, o BV03 apresentou um grande potencial para utilização em programas agrícolas sustentáveis.

Palavras – chave: *Glycine max.*, Déficit hídrico, Fisiologia vegetal, Fotossíntese.

ABSTRACT

MARIA CLARA OF ANDRADE PEREIRA DA. **Impact of *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 Strain Inoculation On The Physiological Processes Of Soybean Under Drought.** 2019. 32 f. Course Conclusion Paper (Undergraduate) - Bachelor of Biological Sciences. Goiano Federal Institute - Rio Verde Campus, Goiás. Rio Verde Goiás, 2019.

Soybean is one of the most consumed and produced grains worldwide, carrying the economy of several countries, mainly the United States and Brazil. With agricultural expansion, soy production is found throughout the Brazilian region. Thus, understanding the great responsibility that Brazil has in soybean production and exportation, it is important to study the physiology of this cultivar so that we can stipulate methodologies and strategies to ensure soybean survival and productivity in current, summer, and future scenarios. , climate change and global warming. In one study, they simulated the effect of global warming on soybean cultivar and found that it is actually negative for soybean production and yield, as the limiting factor for production is water availability and in the current and future scenario, a higher frequency is observed. drought and water restriction. Thus, a strategy that plants take when under stress is stomatal closure, as it limits the loss of water to the atmosphere, but if it is a very prolonged and intense drought period it can cause damage to the photosynthetic apparatus, leading to the plant. until death. In order to circumvent these negative effects, some agricultural producers are using sustainable agricultural programs, for example, the use of plant growth promoting microorganisms, as they have the potential to mitigate the stress effect, mainly phytopathological, and increase productivity. Moreover, these microorganisms are found in the microbiota itself, making their use sustainable and practical. Therefore, we use the bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 (BV03), prepare a syrup and homogenize the soybean seeds and sow in fertilized soil, with treatments: control (CT), water deficit (WD), control plus BV03 (CT + BV03) and water deficit plus BV03 (WD + BV03). The plants were subjected to treatments for 16 days and after this time we evaluated the water potential, leaf area and height, physiological parameters, pigment concentration and membrane damage. From this, we observed that the plants in WD + BV03, presented a higher photosynthesis in relation to the plants in WD, as well as greater efficiency in carboxylation and water use, thus, the BV03 was able to attenuate the damage caused by WD avoiding dehydration of tissues and maintaining the photosynthetic potential of plants. In this sense, BV03 has great potential for use in sustainable agricultural programs.

Keywords: *Glycine max.*, Water deficit, Plant physiology, Photosynthesis.

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* BV0315
- FIGURA 2** - Taxa de crescimento absoluto caulinar (A) e taxa de crescimento absoluto foliar (B) em plantas *Glycine max* submetidas à seca, tratadas e não tratadas com *Bacillus amyloliquefaciens* BV0317
- FIGURA 3** - Análises dos parâmetros fisiológicos: fluorescência mínima (A); fluorescência máxima (B); rendimento quântico basal dos processos fotoquímicos (C); rendimento quântico máximo do fotossistema II (D); dissipação não fotoquímica (E); taxa de transporte de elétrons (F); taxa de transporte de elétrons no fotossistema II (G); e razão entre a taxa de transporte de elétrons do fotossistema II e eficiência quântica de assimilação de carbono (H) em plantas *Glycine max* submetidas à seca, tratadas e não tratadas com *Bacillus amyloliquefaciens* BV0319
- FIGURA 4** - Análises dos parâmetros fisiológicas: assimilação carbônica (A); transpiração (B); condutância estomática (C); uso eficiente da água (D); eficiência de carboxilação (E); taxa de assimilação de carbono pelo fotossistema II (F); concentração interna CO₂ (G); razão entre concentração interna e externa de CO₂ (H) em plantas *Glycine max* submetidas à seca, tratadas e não tratadas com *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 22
- FIGURA 5** - Análises de fotorrespiração (A), respiração noturna (B) e diurna (C) em plantas *Glycine max* submetidas à seca, tratadas e não tratadas com *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 23
- FIGURA 6** - Determinação de clorofila a (A), clorofila b (B), clorofila totais (C) e carotenoides (D) em plantas *Glycine max* submetidas à seca, tratadas e não tratadas com *Bacillus amyloliquefaciens* BV0324
- FIGURA 7** - Extravasamento de Eletrólitos em plantas *Glycine max* submetidas à seca, tratadas e não tratadas com *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 25

Lista de Tabelas

- TABELA 1**- Área foliar total em plantas *Glycine max* submetidas à seca, tratadas e não tratadas com *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 16
- TABELA 2** - Altura do caule em plantas *Glycine max* submetidas à seca, tratadas e não tratadas com *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 17

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo Geral.....	15
2.2 Objetivos Específicos.....	15
3 MATERIAL E MÉTODOS	15
3.1 Design experimental	15
3.2 Inoculação	16
3.3 Potencial hídrico	16
3.4 Área foliar total, altura caulinar e taxa de crescimento absoluto	16
3.5 Fotossíntese, respiração e fotorrespiração	17
3.6 Determinação da concentração de pigmentos fotossintéticos	18
3.7 Extravasamento de Eletrólitos	18
3.8 Análises estatísticas.....	18
4 RESULTADOS	19
4.1 Relações hídricas	19
4.2 Análises morfológicas e de crescimento.....	19
4.3 Fotossíntese, respiração e fotorrespiração	21
4.4 Determinação da concentração de pigmentos fotossintéticos	25
4.5 Extravasamento de Eletrólitos	26
5 DISCUSSÃO	27
6 CONCLUSÃO	32
7 REFERÊNCIAS	32

1 INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é a leguminosa mais importante cultivada no mundo, sendo fonte essencial de nutrientes e, principalmente, proteína e óleo, além de ser considerada importante cultura para a produção de biodiesel (PIMENTEL & PATZEK, 2007). Atualmente o Brasil é o segundo maior produtor mundial desse grão e, apenas em 2018, foram produzidos 116,996 milhões de toneladas de soja em território nacional (CONAB, 2019). O plantio da soja nos próximos anos, no entanto, pode vir a ser comprometido pelo incremento na ocorrência de eventos de seca em todo o mundo (LENG & HALL, 2019). Com efeito, o crescimento e desenvolvimento das plantas podem ser afetados por estresses abióticos e/ou bióticos (CHANDRA et al., 2018; MARIANO et al., 2013). Entre as diferentes restrições ambientais, a seca é o fator abiótico mais limitante na produtividade das culturas (CHAVARRIA et al., 2015). Grande parte das oscilações da produção brasileira de soja é atribuída à ocorrência de secas prolongadas, sendo estimada, em escala mundial, uma média de redução de 50% na produtividade dessa cultura (WANG et al., 2003). Considerando que a seca pode se tornar mais frequente e mais intensa a cada ano, segundo as previsões de mudanças climáticas, tais reduções de produtividade podem ser agravadas (IPCC, 2014).

Plantas expostas ao déficit hídrico podem apresentar alterações em diferentes vias metabólicas, o que pode resultar no fechamento estomático, redução do crescimento, redução da taxa fotossintética, redução na eficiência do uso da água, alteração da partição de fotoassimilados e danos oxidativos, dentre outros (OSAKABE et al., 2014). Uma das primeiras respostas das plantas à seca consiste no fechamento estomático (NGUYEN et al., 2018). No entanto, embora o fechamento estomático seja importante para manter o status hídrico dos tecidos vegetais, ele também limita a difusão de dióxido de carbono, diminuindo a disponibilidade dessa molécula para a realização do processo fotossintético (NGUYEN et al., 2018). A queda no processo fotossintético, por sua vez, limita a disponibilidade de carboidratos para a planta, o que resulta em quedas no acúmulo de biomassa e no crescimento (SACK & SCOFFONI, 2012). Além disso, o comprometimento do processo fotossintético, bem como de outros processos fisiológicos, como a respiração, frequentemente desencadeia a formação excessiva de espécies reativas de oxigênio (ROS), as quais podem causar danos às membranas, inativação de proteínas e quebra de ácidos

nucleicos (OSAKABE et al., 2014). A ocorrência desses danos irá comprometer o desenvolvimento vegetal e, não raramente, resulta na morte da planta (OSAKABE et al., 2014).

As bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) fazem parte da população de microrganismos residentes nas plantas que, devido à produção de hormônios e outras moléculas, promove o crescimento vegetal, tal associação é a tempos conhecida, existindo diversos produtos biológicos a base de BPCP sendo comercializados no mundo todo (MARIANO et al., 2013). Com efeito, a utilização de bactérias na formulação de inoculantes ou biofertilizantes pode reduzir os custos de produção e impacto ambiental e, aumentar a produtividade das culturas (MARIANO et al., 2013). Alguns estudos apontaram, ainda, que a inoculação com bactérias é capaz de aumentar a tolerância das plantas a agentes estressores, mantendo o crescimento vegetal mesmo em condições de déficit hídrico (CHANDRA et al., 2018). No entanto, ainda não está totalmente esclarecido como essas bactérias alteram o metabolismo vegetal em plantas expostas à seca.

Estudar e compreender os mecanismos responsáveis pela tolerância das plantas ao déficit hídrico é o primeiro passo para propor novas abordagens, novas metodologias e novos produtos agrícolas que auxiliarão na manutenção da produtividade frente à eventos recorrentes de seca (LENG & HALL, 2019). De fato, a compreensão e o desenvolvimento de novas tecnologias agrícolas capazes de aumentar a tolerância das plantas aos estresses são essenciais para garantir a segurança alimentar. Nesse contexto, a utilização de microrganismos representa uma alternativa interessante, uma vez que apresenta baixo custo, fácil manipulação, não acarreta poluição ou outros tipos de impacto ambiental e danos à saúde humana (SU et al., 2017).

Dentre as BPCP, o gênero *Bacillus* apresenta eficiente na simbiose com as plantas, principalmente quando as mesmas se encontram infectadas por microrganismos patogênicos, gerindo assim, um controle biológico (MARIANO et al., 2013; RODRIGUES, 2019). Além do mais, este gênero apresentou-se eficiente com ou sem concomitância com outra BPCP, mitigando os efeitos do estresse nas plantas, fornecendo metabólitos e incrementando fitohormônios no organismo (KUMAR et al., 2016; KIM et al., 2017)). Logo, isto acarreta novas alternativas para uma agricultura sustentável (MARIANO et al., 2013). Uma representante deste gênero é a bactéria *Bacillus amyloliquenfaciens*, a mesma vem conquistando seu espaço no mercado por

possuir capacidade de controle biológico de pragas, indução de crescimento vegetal e aumento de produtividade em plantas de interesse econômico, como cana e milho (RODRIGUES, 2019; FERREIRA et al, 2018; FERREIRA, 2018). Neste estudo, utilizaremos a *B. amyloliquefaciens* BV03, um microrganismo disponível na região de Rio Verde, que possui um grande potencial de inibir a atividade de fitopatógenos e aprimorar os mecanismos de resistência das plantas, além disso, não há muito estudo sobre este microrganismo na literatura, logo, esperamos elucidar sua atividade em plantas de soja submetidas à seca (DA COSTA FERREIRA, 2019). Considerando esses fatos, o presente projeto irá analisar as respostas fisiológicas de plantas de soja expostas à restrição hídrica, bem como o impacto da inoculação com bactérias sobre esse processo. Dessa forma, o projeto em questão irá auxiliar no desenvolvimento de alternativas para manutenção da produtividade em um ambiente em constante alteração, contribuindo, portanto, para o desenvolvimento agrônomo no Brasil e no mundo.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Caracterizar o impacto da inoculação com *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 sobre processos fisiológicos e bioquímicos de plantas de soja expostas à seca.

2.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar o impacto da seca e da inoculação com *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 sobre o potencial hídrico da soja;
- Determinar o efeito da inoculação com *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 sobre o crescimento de plantas de soja expostas à seca;
- Avaliar o impacto da seca e da inoculação com *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 sobre a fotossíntese, respiração, fotorrespiração e quantificação de pigmentos;
- Determinar o efeito da exposição à seca, na presença ou na ausência de *Bacillus amyloliquefaciens* BV03, sobre a integridade das membranas biológicas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Design experimental

O projeto foi conduzido em casa de vegetação do Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetal no Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde. Sementes de soja da cultivar 7487 RR, fornecida pela empresa Cereal Ouro Agrícola – LTDA, foram cultivadas em latossolo distrófico na proporção 2:1 (solo:areia), adubado segundo a recomendação para soja e disposto em vasos de 6L. A bactéria *Bacillus amyloliquefaciens* BV03, foi fornecida pela empresa Biovalens LTDA.

As plantas de soja ao atingir o estágio V3 (três trifólios) foram submetidas aos tratamentos: controle (plantas irrigadas continuamente); controle + inoculação BV03 (plantas irrigadas e inoculadas com a bactéria *B. amyloliquefaciens* BV03); seca (suspensão da irrigação até que a água disponível no solo atinja 30% da água disponível no controle); seca + inoculação BV03 (plantas submetidas à seca e inoculadas com a bactéria *B. amyloliquefaciens* BV03). Ressaltando que ao início dos tratamentos às 09 horas e 49 minutos a temperatura foi 44°C e 70% de umidade e ao fim dos tratamentos às 09 horas e 10 minutos a temperatura e umidade foi de 40°C e 42%, respectivamente. As plantas permaneceram expostas aos tratamentos por 16 dias, sendo então utilizadas para as análises descritas nos próximos tópicos.

3.2 Inoculação

Para realização da inoculação de *B. amyloliquefaciens* BV03, foi preparada uma calda de inoculação de forma representativa de campo, ou seja, 600 ml de calda (200 ml de bactéria e 400 ml de água normal) para 100 kg de soja, de forma proporcional, foi utilizado 60 ml de calda (medindo em uma proveta, 20 ml de bactéria e adicionando 40 ml de água normal, após isso, misture até diluir todo o produto). Em seguida as sementes foram dispostas dentro de uma sacola plástica para inoculação das sementes pelo método de homogeneização, aplicando 3 ml de calda em ½ kg de sementes.

3.3 Potencial hídrico

O potencial hídrico foliar foi determinado em folhas individuais com o auxílio de bomba de pressão tipo Scholander, na antemãhã (04:20h) (Ψ_{am}) e ao meio-dia (Ψ_{md}).

3.4 Área foliar total, altura caulinar e taxa de crescimento absoluto

Os dados foram coletados de dois em dois dias durante a exposição aos tratamentos. Após a coleta não destrutiva, ou seja, a obtenção dos dados com a planta

in vivo utilizando-se de régua graduada em centímetros (cm), foram determinados a área foliar total, altura do caule total e ao fim, a taxa de crescimento absoluto foliar e a taxa de crescimento absoluto caulinar. Neste sentido, para a área foliar total foi aplicada a fórmula: área foliar = (Comprimento do folíolo x Largura do folíolo), após isto, foi exercida a seguinte fórmula para obtenção da área foliar total, considerando a forma oval do folíolo: $AFT = (AF - ((AF * 30) / 100))$, em centímetros quadrado (cm²). Para obtenção da altura do caule total (ACT), foi feita a medição com auxílio de régua graduada em centímetros (cm). Metodologia adaptada do trabalho de Musa e Usma (2016).

Em relação as taxas de crescimento absoluto; para taxa de crescimento absoluto caulinar (TCAC), foi aplicada a seguinte fórmula: $TCAC = (L1 - L2) / (t2 - t1)$ [cm/dia], onde L1 é a medida da altura da planta no tempo t1 e L2 a altura da planta no tempo t2. Quanto a taxa de crescimento absoluto foliar (TCAF), foi aplicada a seguinte fórmula: $TCAF = (A2 - A1) / (t2 - t1)$ [cm²/dia] A1 é a área foliar por planta no tempo t1 e A2 é a área foliar no tempo t2. (SILVA, BELTRÃO & AMORIM NETO, 2000)

3.5 Fotossíntese, respiração e fotorrespiração

A taxa de assimilação líquida do carbono (A), a condutância estomática (g_s), a concentração interna de CO₂ (C_i) e a taxa transpiratória (E) foram determinadas em sistema aberto, sob luz saturante (1.000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e pressão parcial de CO₂ de 40 Pa. Para tanto, foi utilizado um analisador de gases a infravermelho (LI-6400, Li-Cor Inc., Nebraska, EUA), equipado com uma fonte de luz azul/vermelho (modelo LI-6400-02B, LI-COR).

Com o mesmo analisador a respiração noturna (R_N), ou taxa de assimilação líquida de CO₂ noturna, foi avaliada antes do amanhecer. A respiração mitocondrial durante o dia (R_D), por sua vez, foi estimada a partir de R_N (BAI et al., 2008). Na antemãhã, foi obtida a fluorescência mínima (F_0) via excitação dos tecidos foliares por luz vermelha modulada de baixa intensidade (0,03 $\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$). A fluorescência máxima (F_m) foi obtida pela aplicação de um pulso de 0,8 s de luz actínica saturante (8000 $\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$). A fluorescência variável (F_v) foi determinada pela diferença F_0 e F_m e a partir desses valores, foi calculado o rendimento quântico potencial do fotossistema II (F_v/F_m).

As folhas foram aclimatadas à luz actínica (1000 $\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) durante 60s, a fim de se obter a fluorescência transiente (F_s), seguido por um pulso de luz

saturante para estimar-se a fluorescência máxima à luz (F_m') e, por último, foi aplicado um pulso de luz vermelho-distante, para obter-se a fluorescência mínima após aclimatação à luz actínica (F_o'). Com esses parâmetros, foram calculados a eficiência fotoquímica do transporte de elétrons associado ao fotossistema II (ϕ_{FSII}) (Maxwell and Johnson, 2000). A taxa de fotorrespiração da Rubisco (P_R) foi obtida usando-se a fórmula propostas por Epron and Dreyer (1993).

3.6 Determinação da concentração de pigmentos fotossintéticos

A concentração de pigmentos cloroplastídicos foi determinado por meio da extração com dimetilsulfóxido (DMSO), saturado com carbonato de cálcio ($CaCO_3$), mediante ajustes da metodologia descrita por Kuki et al. (2005). Três discos foliares com diâmetro de 5 mm foram incubados em frascos, envolvidos com papel alumínio e vedados, contendo 5 mL da solução de DMSO, por um período de 24 horas a 65 °C em banho-maria. Posteriormente a absorvância da solução de extração foi determinada nos comprimentos de onda de 480, 649 e 665 nm por meio de um espectrofotômetro UV-VIS (Modelo Evolution 60S, Thermo Scientific, Madison -USA). As concentrações de clorofila a (665 nm), b (649 nm) e carotenoides totais (480 nm) foram calculadas de acordo com Wellburn (1994) e expressos por área. A clorofila total foi calculada pelo somatório das concentrações das clorofilas a e b.

3.7 Extravasamento de Eletrólitos

Para avaliar a estabilidade 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 6 h, à temperatura ambiente, e a condutividade foi avaliada utilizando o Conductivity Meter (Modelo Instrutherm CD-850). A seguir esses frascos foram colocados na estufa a 90°C, onde permaneceram por 1 h, período após o qual a leitura foi feita novamente. A condutividade foi expressa em porcentagem da condutividade total (frascos a 90°C).

3.8 Análises estatísticas

Os experimentos foram conduzidos em delineamento experimental inteiramente casualizado, com cinco repetições, sendo os dados submetidos à ANOVA e as médias calculadas pelo teste SNK, a 5% de probabilidade. As análises

estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa estatístico Sisvar Versão 5.7 (Dex/UFLA).

4 RESULTADOS

4.1 Relações hídricas

A exposição das plantas à seca alterou o potencial hídrico na antemanhã nas plantas de soja, ocasionando uma maior desidratação dos tecidos em relação as plantas irrigadas continuamente (Figura 1A). O potencial hídrico do meio dia, por outro lado, foi mais negativo nas plantas expostas apenas ao DH, tendo a inoculação com BV03 atenuado esse efeito danoso da seca, mantendo o potencial hídrico similar ao controle (Figura 1B).

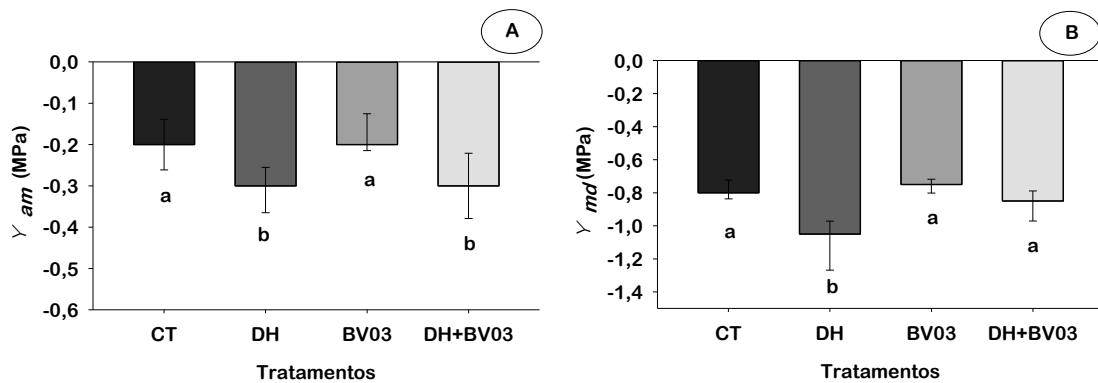


Figura 1 - Potencial hídrico na antemanhã (A) e ao meio dia (B) em plantas *Glycine max* submetidas à seca, tratadas e não tratadas com *Bacillus amyloliquefaciens* BV03. CT - controle (plantas irrigadas continuamente); DH - déficit hídrico (30% de água disponível no solo); BV03 - controle + inoculação BV03 (plantas irrigadas e inoculadas com a bactéria *B. amyloliquefaciens* BV03); DH – déficit hídrico + inoculação BV03 (plantas submetidas à seca e inoculadas com BV03). 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.

4.2 Análises morfológicas e de crescimento

A inoculação das plantas controle com BV03 estimulou um aumento da área foliar no início do experimento, sendo estatisticamente superior três dias após a imposição do estresse. Essa diferença entre controle e controle inoculado deixou de ser significativa ao longo do experimento. Em relação à restrição hídrica, observou-se que, até o décimo primeiro dia após o início dos tratamentos, as plantas expostas ao estresse foram capazes de manter área foliar estatisticamente igual ao controle. No décimo quinto dia, no entanto, a área foliar das plantas expostas à seca, tanto isoladamente quanto em conjunto com BV03, foi consideravelmente menor do que

nos demais tratamentos (Tabela 1). Em relação à altura do caule, foram observadas diferenças apenas no tratamento DH+BV03, o qual apresentou altura menor do que os demais tratamentos a partir do décimo primeiro dia de experimento (Tabela 2).

Tabela 1 – Área foliar total em plantas *Glycine max* submetidas à seca, tratadas e não tratadas com *Bacillus amyloliquefaciens* BV03. CT - controle (plantas irrigadas continuamente); DH - déficit hídrico (30% de água disponível no solo); BV03 - controle + inoculação BV03 (plantas irrigadas e inoculadas com a bactéria *B. amyloliquefaciens* BV03); DH – déficit hídrico + inoculação BV03 (plantas submetidas à seca e inoculadas com BV03).

ÁREA FOLIAR TOTAL (cm ²)				
TRATAMENTO	3º DIA	7º DIA	11º DIA	15º DIA
CT	364,01 b	448,04 a	547,93 ab	762,84 a
BV03	295,12 b	334,78 a	369,73 b	442,83 b
DH	500,3 a	535,92 a	681,73 a	885,37 a
DH+BV03	297,62 b	390,99 a	381,57 b	410,87 b

* 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.

Tabela 2 - Altura do caule em plantas *Glycine max* submetidas à seca, tratadas e não tratadas com *Bacillus amyloliquefaciens* BV03. CT - controle (plantas irrigadas continuamente); DH - déficit hídrico (30% de água disponível no solo); BV03 - controle + inoculação BV03 (plantas irrigadas e inoculadas com a bactéria *B. amyloliquefaciens* BV03); DH – déficit hídrico + inoculação BV03 (plantas submetidas à seca e inoculadas com BV03).

ALTURA DO CAULE (cm)				
TRATAMENTO	3º DIA	7º DIA	11º DIA	15º DIA
CT	16,4 a	19,3 a	21,4 a	24,7 a
BV03	16,2 a	17 a	19,2 ab	21,7 ab
DH	16,6 a	16,9 a	20,6 ab	22,3 ab
DH+BV03	16,9 a	19 a	18,7 b	19,5 b

*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.

No parâmetro de taxa de crescimento absoluto caulinar foi observado que os tratamentos diferiram quanto ao controle e que os tratamentos submetidos à seca diferiram entre si, observando que as plantas submetidas à seca inoculadas apresentaram menor crescimento que o tratamento DH (Figura 3A). Quanto a taxa de

crescimento absoluto foliar, a exposição à seca atuou negativamente na área foliar das plantas, sendo assim, os tratamentos controles diferiram dos tratamentos com plantas submetidas à seca (Figura 3B).

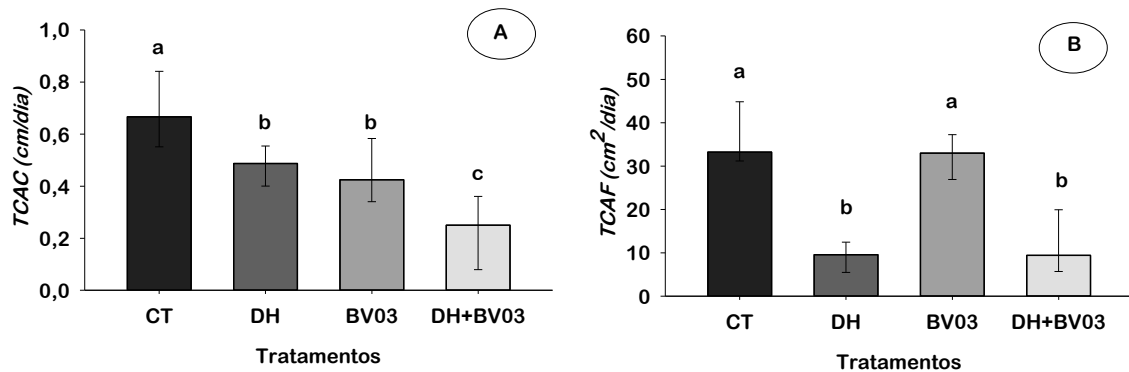


Figura 2 - Taxa de crescimento absoluto caulinar (A) e taxa de crescimento absoluto foliar (B) em plantas *Glycine max* submetidas à seca, tratadas e não tratadas com *Bacillus amyloliquefaciens* BV03. CT - controle (plantas irrigadas continuamente); DH - déficit hídrico (30% de água disponível no solo); BV03 - controle + inoculação BV03 (plantas irrigadas e inoculadas com a bactéria *B. amyloliquefaciens* BV03); DH - déficit hídrico + inoculação BV03 (plantas submetidas à seca e inoculadas com BV03). 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.

4.3 Fotossíntese, respiração e fotorrespiração

Em relação a primeira etapa da fotossíntese representadas pelos parâmetros de fluorescência, a fluorescência mínima (F_0) e a máxima (F_m) nas plantas submetidas a déficit hídrico e tratadas com *B. amyloliquefaciens* apresentaram maiores valores em relação as plantas controles e o tratamento DH (Figura 4A e B). Partindo para relações de indicadores de estresse, observamos que no rendimento quântico basal dos processos não fotoquímicos (F_0/F_m), as plantas submetidas ao déficit hídrico tiveram um incremento em relação as plantas controles, indicando assim, que de fato estas plantas estavam estressadas (Figura 4C). Já no rendimento quântico potencial do fotossistema II (F_v/F_m), as plantas submetidas à seca apresentaram um menor rendimento em relação as plantas controles, sendo assim, foi observado que o microrganismo não conseguiu atenuar o efeito do estresse nas plantas do tratamento DH+BV03 como era esperado (Figura 4D).

Em relação a dissipação não-fotoquímica (NPQ), ou seja, a dissipação de energia em forma de calor, foi observado que nas plantas submetidas à seca tratadas com *B. amyloliquefaciens* apresentaram uma maior dissipação em relação as plantas

controles inoculadas, por outro lado, não houve diferença entre os tratamentos quando comparado ao tratamento controle (Figura 4E), este último resultado se observa novamente no parâmetro de taxa de transporte de elétrons (Figura 4F). Quanto a taxa de transporte de elétrons no fotossistema II (Φ_{PSII}), não houve diferença entre os tratamentos (Figura 4G) e quanto a Φ_{PSII}/Φ_{CO_2} , as plantas do tratamento déficit hídrico gastava muito mais energia que os demais tratamentos para fixar o carbono (Figura 4H).

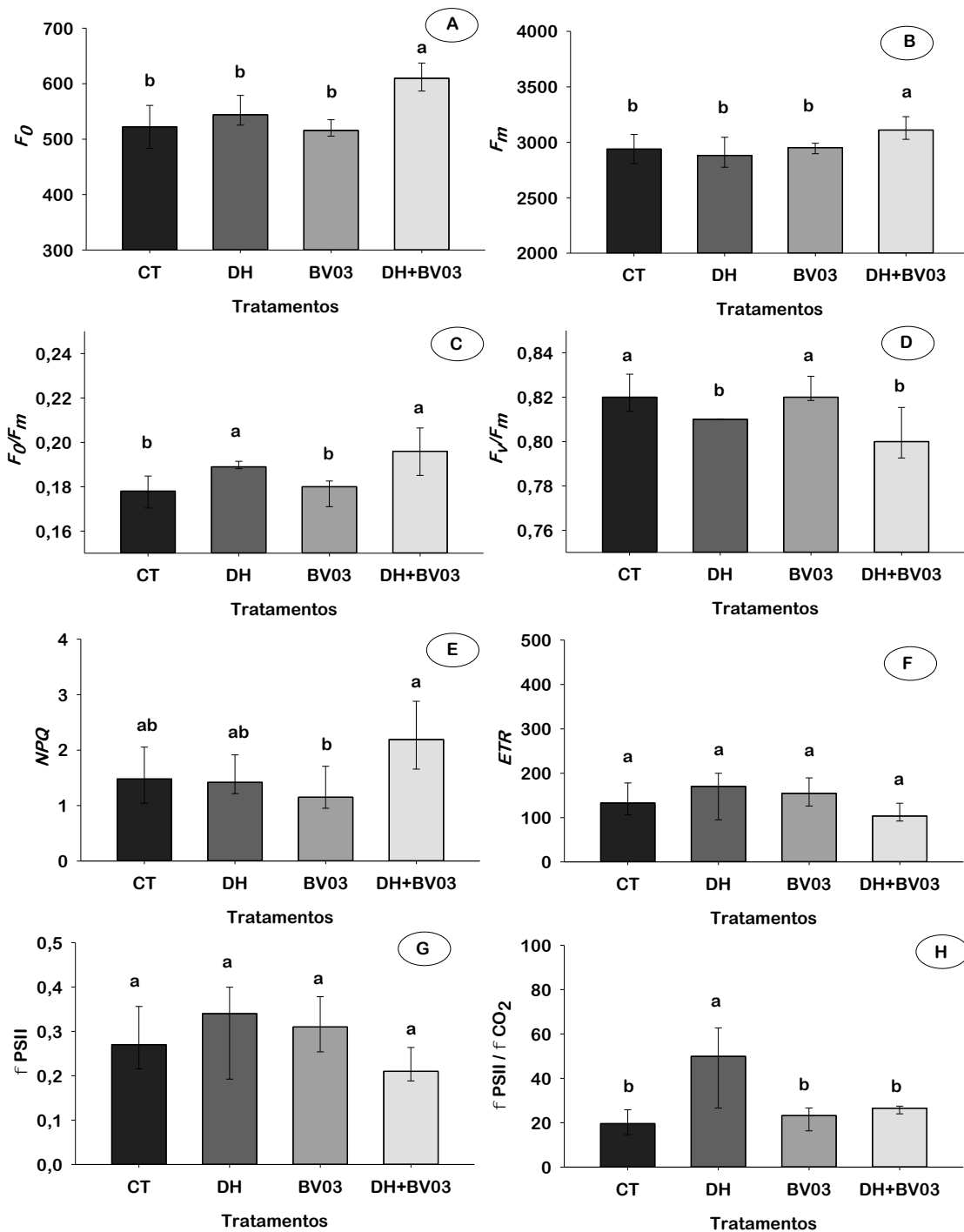


Figura 3 - Análises dos parâmetros fisiológicos: fluorescência mínima (A); fluorescência máxima (B); rendimento quântico basal dos processos fotoquímicos (C); rendimento quântico máximo do fotossistema II (D); dissipação não fotoquímica (E); taxa de transporte de elétrons (F); taxa de transporte de elétrons no fotossistema II (G); e razão entre a taxa de transporte de elétrons do fotossistema II e eficiência quântica de assimilação de carbono (H) em plantas *Glycine max* submetidas à seca, tratadas e não tratadas com *Bacillus amyloliquefaciens* BV03. CT - controle (plantas irrigadas continuamente); DH - déficit hídrico (30% de água disponível no solo); BV03 - controle + inoculação BV03 (plantas irrigadas e inoculadas com a bactéria *B. amyloliquefaciens* BV03); DH + déficit hídrico + inoculação BV03 (plantas submetidas à seca e inoculadas com BV03). 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.

A exposição das plantas ao déficit hídrico afetou negativamente a assimilação líquida de carbono (A), embora a inoculação com BV03 tenha atenuado, ainda que parcialmente esse efeito danoso da seca (Figura 5A). Observamos também que as plantas submetidas ao déficit hídrico, isoladamente ou em conjunto com BV03, apresentaram uma baixa transpiração (E), o que reflete o decréscimo na condutância estomática (g_s) nesses tratamentos (Figura 5C). Além do mais, de acordo com os parâmetros de eficiência do uso da água (A/g_s), o tratamento de plantas submetidas à seca em conjunto com a BV03 apresentou maior eficiência em relação ao tratamento controle; aos demais tratamentos, não diferiram entre si (Figura 5D). Cabe ressaltar, ainda, que plantas em déficit hídrico e inoculadas com *B. amyloliquefaciens* apresentaram maior eficiência de carboxilação (A/C_i) em comparação com plantas expostas à seca isoladamente (Figura 5E). Padrão de resposta similar foi observado para a eficiência quântica da assimilação de CO_2 (ΦCO_2), sendo que as plantas submetidas ao déficit hídrico e tratadas com o microrganismo apresentaram valores mais elevados para esse parâmetro do que as plantas submetidas apenas ao déficit hídrico (Figura 5F). Os demais parâmetros analisados, como a concentração interna de CO_2 (C_i) e a razão entre a concentração externa e interna de CO_2 (C_i/C_a) (Figuras 4G e H) não apresentaram diferenças em nenhum dos tratamentos analisados.

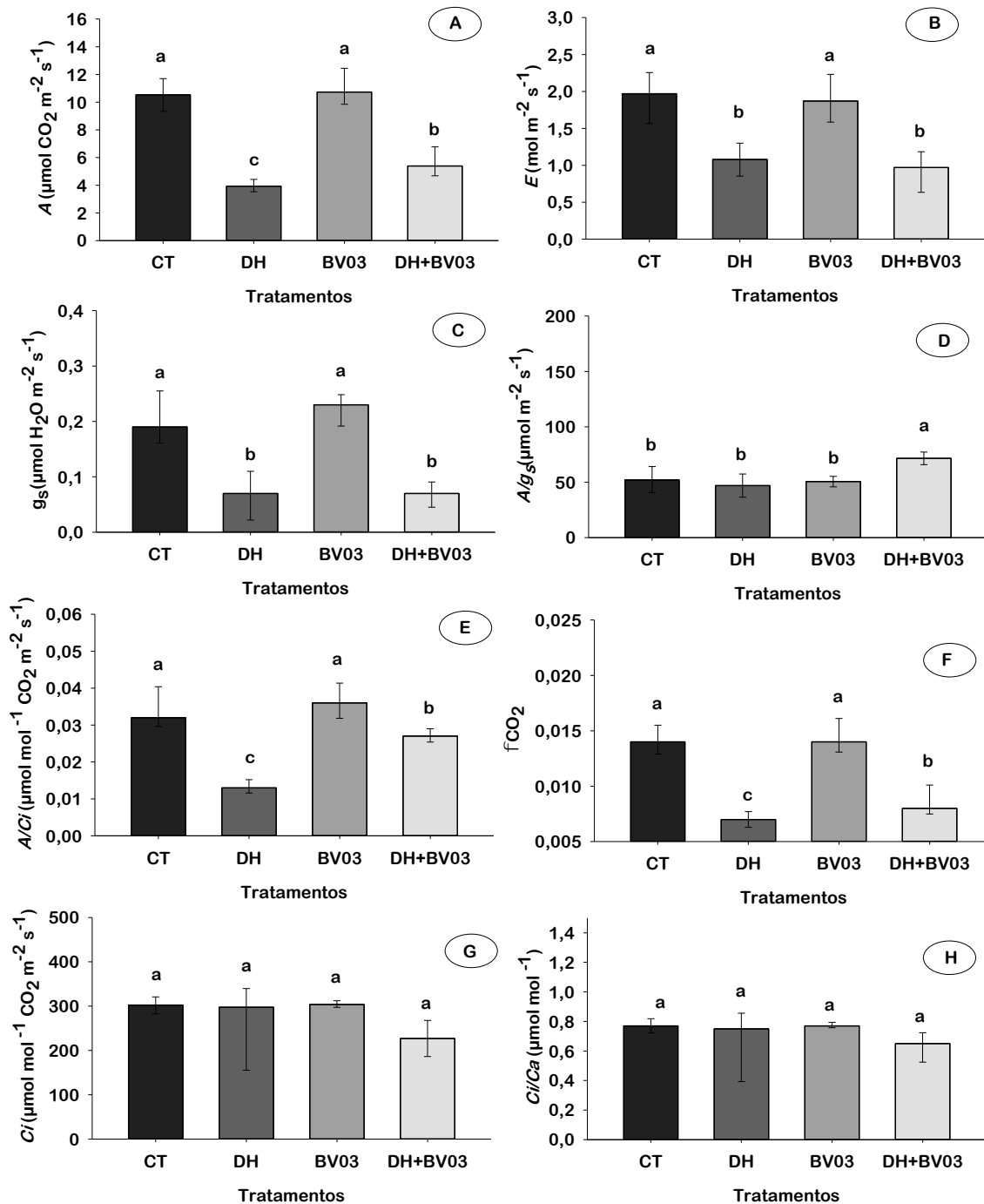


Figura 4 - Análises dos parâmetros fisiológicas: assimilação carbônica (A); transpiração (B); condutância estomática (C); uso eficiente da água (D); eficiência de carboxilação (E); taxa de assimilação de carbono pelo fotossistema II (F); concentração interna CO_2 (G); razão entre concentração interna e externa de CO_2 (H) em plantas *Glycine max*. submetidas à seca, tratadas e não tratadas com *Bacillus amyloliquefaciens* BV03. CT - controle (plantas irrigadas continuamente); DH - déficit hídrico (30% de água disponível no solo); BV03 - controle + inoculação BV03 (plantas irrigadas e inoculadas com a bactéria *B. amyloliquefaciens* BV03); DH – déficit hídrico + inoculação BV03 (plantas submetidas à seca e inoculadas com BV03). 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.

Em relação a fotorrespiração, as plantas expostas ao déficit hídrico apresentaram uma maior taxa fotorrespiratória quando comparada com o tratamento controle e quanto aos demais tratamentos, não foram observadas alterações significativas (Figura 6A). Por outro lado, nos parâmetros de respiração noturna e mitocondrial (R_N e R_D) não foram observadas diferenças em nenhum dos tratamentos analisados (Figura 6B e C).

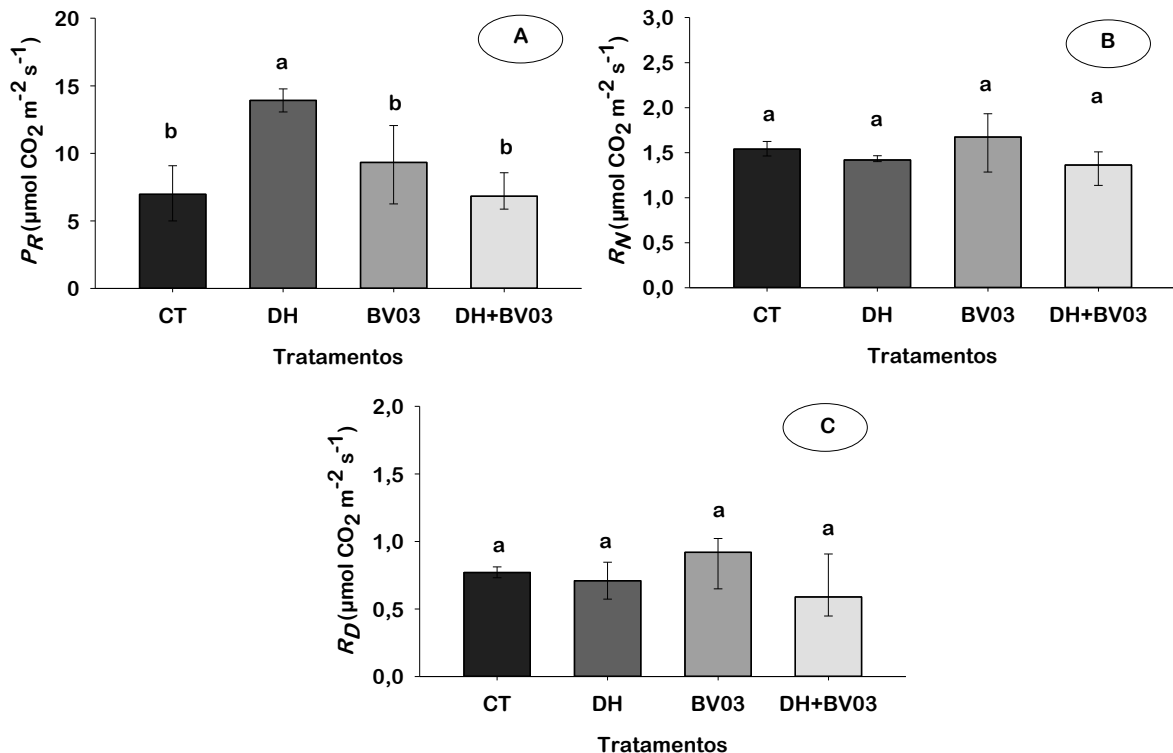


Figura 5 - Análises de fotorrespiração (A), respiração noturna (B) e diurna (C) em plantas *Glycine max* submetidas à seca, tratadas e não tratadas com *Bacillus amyloliquefaciens* BV03. CT - controle (plantas irrigadas continuamente); DH - déficit hídrico (30% de água disponível no solo); BV03 - controle + inoculação BV03 (plantas irrigadas e inoculadas com a bactéria *B. amyloliquefaciens* BV03); DH – déficit hídrico + inoculação BV03 (plantas submetidas à seca e inoculadas com BV03). 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.

4.4 Determinação da concentração de pigmentos fotossintéticos

A concentração de clorofila *a* se alterou apenas nas plantas mantidas irrigadas e inoculadas com BV03, permanecendo constante nos demais tratamentos (Figura 7A). Quanto a clorofila *b*, houve um acréscimo nos tratamentos submetidos à seca e no tratamento controle inoculado, quando comparado ao tratamento controle (Figura 7B). Logo, em relação a clorofila totais, observamos que os tratamentos submetidos à seca não diferiram do tratamento controle, por outro lado, o tratamento controle

inoculado teve um incremento quando relacionado ao tratamento controle (Figura 7C). Já para os carotenoides, não houve diferença significativa entre os tratamentos (Figura 7D).

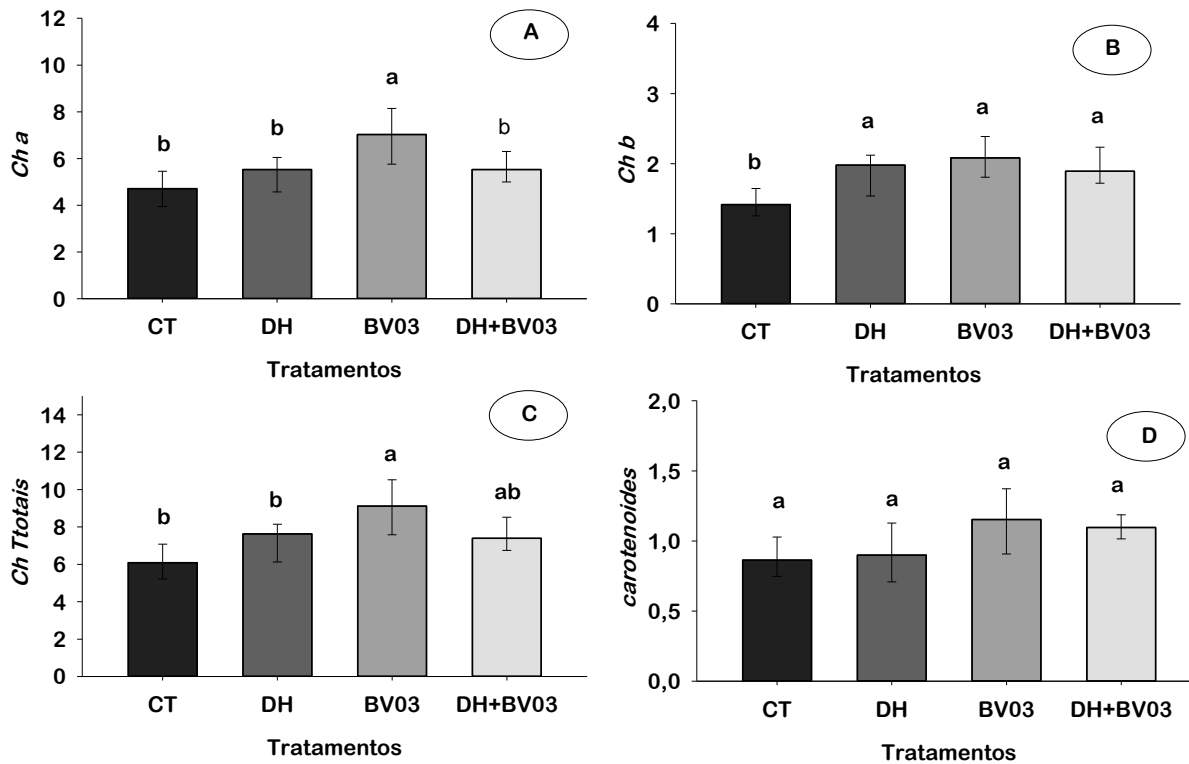


Figura 7 - Determinação de clorofila a (A), clorofila b (B), clorofila totais (C) e carotenoides (D) em plantas *Glycine max* submetidas à seca, tratadas e não tratadas com *Bacillus amyloliquefaciens* BV03. CT - controle (plantas irrigadas continuamente); DH - déficit hídrico (30% de água disponível no solo); BV03 - controle + inoculação BV03 (plantas irrigadas e inoculadas com a bactéria *B. amyloliquefaciens* BV03); DH - déficit hídrico + inoculação BV03 (plantas submetidas à seca e inoculadas com BV03). 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.

4.5 Extravasamento de Eletrólitos

Em relação aos danos de membrana, de acordo com o parâmetro de extravasamento de eletrólitos, a exposição à seca afetou a integridade das membranas das plantas do tratamento DH, entretanto, no tratamento DH+BV03, manteve a integridade de membrana, sugerindo que o microorganismo mitigou o estresse oxidativo ocasionado pela restrição hídrica (Figura 8).

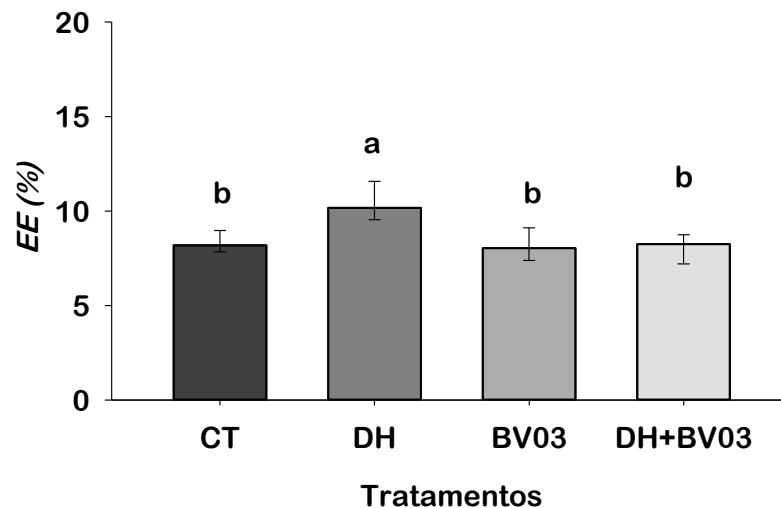


Figura 7 – Extravasamento de Eletrólitos em plantas *Glycine max* submetidas à seca, tratadas e não tratadas com *Bacillus amyloliquefaciens* BV03. CT - Controle (plantas irrigadas continuamente); DH - déficit hídrico (30% de água disponível no solo); BV03 - controle + inoculação BV03 (plantas irrigadas e inoculadas com a bactéria *B. amyloliquefaciens* BV03); DH – déficit hídrico + inoculação BV03 (plantas submetidas à seca e inoculadas com BV03). 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.

5 DISCUSSÃO

O gênero *Bacillus* inclui vários microrganismos promotores de crescimento em plantas, os quais conseguem atenuar vários danos ocasionados por estresses abióticos e bióticos (GAGNÉ-BOURQUE et al. 2015; RYU et al. 2003). *Bacillus amyloliquefaciens* já foi identificada como uma promotora de crescimento (RYU et al. 2003) e este estudo buscou elucidar o potencial deste microrganismo na atenuação dos efeitos danosos da seca em plantas de soja, evidenciando o papel da bactéria na manutenção do grau de hidratação dos tecidos da planta e também na manutenção do processo fotossintético.

Um dos maiores danos desencadeados pela seca consiste na redução do potencial hídrico das folhas abaixo dos limiares necessários para a manutenção dos processos fisiológicos vegetais (FLEXAS et al. 2000). Embora a exposição à restrição hídrica tenha afetado consideravelmente o grau de hidratação das plantas de soja, sobretudo ao meio dia, o tratamento com *B. amyloliquefaciens* BV03 foi capaz de atenuar esse dano, mantendo maior grau de hidratação e evitando a desidratação dos tecidos vegetais. Uma vez que não foram observadas alterações nos parâmetros envolvidos com a perda de água pela planta (condutância estomática e transpiração),

é provável BV03 tenha contribuído para que a soja absorvesse mais água, o que poderia ocorrer, por exemplo, a partir do ajustamento osmótico, uma resposta comum das rizobactérias promotoras de crescimento em plantas. De fato, estudos já evidenciaram que algumas rizobactérias são capazes secretar solutos/osmólitos para as plantas quando em estresse para evitar a dessecação dos seus tecidos (VURUKONDA et al., 2016). Além disso, algumas espécies de *Bacillus* possuem potencial para promoção de crescimento e biomassa do sistema radicular, permitindo desta forma, sugerir que pode ter havido o crescimento desta região, aumentando a capacidade de obtenção de água disponível no solo (ALBUQUERQUE, 2017; MARTINS et al., 2018; GAMEZ et al., 2019). De acordo com o trabalho de De Lima e colaboradores (2019), o qual eles trabalharam com *B. subtilis*, eles observaram que o feijoeiro e o milho inoculado com esse microrganismo sob estresse hídrico apresentou um maior teor relativo de água, um parâmetro para avaliar a hidratação e retenção de água no organismo, em relação às plantas não inoculadas, assim sendo, exerceu nestas plantas uma maior eficiência do uso da água, isto foi possível pela correlação com a diminuição da condutância estomática, o que foi observado no presente estudo.

Uma resposta comum da maioria das plantas ao estresse hídrico é a diminuição no crescimento, embora em alguns trabalhos tenha sido observado que a inoculação com microrganismos do gênero *Bacillus* e algumas linhagens de *Bacillus amyloliquefaciens*, aumentaram o crescimento e biomassa das plantas com e sem estresse abiótico (DE LIMA et al. 2019; VURUKONDA et al., 2016; RYU et al. 2003; KIM et al., 2017). No presente estudo não foi observado e um resultado similar foi encontrado em cultivo de feijão submetidas à seca tratadas com *B. amyloliquefaciens* BV03 (GALVÃO et al., 2019). É possível que o estresse tenha sido mais intenso, limitando de forma significativa o crescimento vegetal. Cabe ressaltar, no entanto, que apesar do baixo crescimento, plantas do tratamento DH+BV03 apresentaram fotossíntese maior que as plantas do tratamento DH, indicando possível desvio de carbono para rotas de defesa e/ou reparo da maquinaria celular (BASU et al., 2016; ELSHIBLI, ELSHIBLI & KORPELAINEN, 2016.).

Nos parâmetros fisiológicos, este microrganismo atuou de forma interessante nos parâmetros de fluorescência, como já registrado na literatura (SAMANIEGO-GÁMEZ et al., 2016). Nas plantas de déficit hídrico inoculadas, elas apresentaram uma maior fluorescência mínima e máxima. Neste sentido, sugere que o aumento de fluorescência mínima neste tratamento foi uma estratégia induzida para diminuir as

espécies reativas de oxigênio disposta no fotossistema, consequência do estresse submetido (FU, LI & WU, 2012; HAZRATI et al., 2016; MENG et al., 2016). Porém, ao contrário de outros trabalhos sobre estresse abiótico, as plantas em déficit hídrico em conjunto com BV03 tiveram uma maior fluorescência máxima, sugerindo desta forma, que não ocorreu uma degradação drástica das proteínas e um aumento nas reações fotoquímicas, em relação aos demais tratamentos (GUO et al., 2016; HAZRATI et al., 2016; MENG et al., 2016). Entretanto, só foi observado este acréscimo no tratamento DH+BV03, sugerindo que essa resposta esteja relacionada com as propriedades mitigadoras e indutoras fornecidas pelo microrganismo (Kim et. al., 2017; SAMANIEGO-GÁMEZ et al., 2016).

Contudo, no parâmetro F_0/F_m nos indica o quanto que as plantas do tratamento DH e DH+BV03 estavam estressadas, assim como no parâmetro F_v/F_m , pois as plantas controles apresentaram um maior rendimento máximo do fotossistema II em relação aos tratamentos submetidos à seca, compreendendo desta forma, que houve danos no fotossistema II, principalmente na integridade da atividade da plastoquinona (Q_A), justificando este acréscimo, em comparação com o controle inoculado, na dissipação de energia não-fotoquímica nas plantas do tratamento DH+BV03 (SAMANIEGO-GÁMEZ et al., 2016). Porém, a relação entre o transporte de elétrons para fixação de carbono (Φ_{PSII}/Φ_{CO_2}) não foi afetada nas plantas DH+BV03, somente nas plantas em déficit hídrico não inoculadas, sugerindo assim um alto consumo de elétrons em processos diferentes da fixação de CO_2 nas plantas expostas à seca isoladamente, tal como fotorrespiração e a redução do oxigênio molecular, com consequente geração de espécies reativas de oxigênio (SINGH et al., 2019; TAIZ et al., 2017).

No trabalho de Martins e colaboradores (2018) foi observado que as cepas *B. thuringiensis* e *B. cereus* sustentaram a eficiência quântica máxima do fotossistema II quando em estresse hídrico, o que não foi observado neste trabalho. Em outro trabalho, demonstra a eficiência que os microrganismos deste gênero promove uma melhoria na eficiência do fotossistema II e fotossíntese, o que foi observada nas plantas controles inoculadas, porém, neste mesmo trabalho foi observado uma maior taxa de transporte de elétrons (ETR) mas no presente estudo não foi observado diferenças entre os tratamentos (SAMANIEGO-GÁMEZ et al., 2016). Neste mesmo trabalho, eles observaram um aumento na dissipação não fotoquímica (NPQ) nas plantas inoculadas em condições normais, o que foi encontrado também neste

presente estudo, só que nas plantas submetidas ao déficit hídrico inoculadas, sugerindo desta forma uma estratégia para ampliar a dissipação e consumo da energia concentrada no PSII.

Nos parâmetros de trocas gasosas, as plantas submetidas ao déficit hídrico tanto a inoculada e não inoculada, apresentaram decréscimo na assimilação carbônica, condutância estomática e transpiração. Esta resposta é conhecida na literatura em plantas submetidas à seca, sendo o fechamento estomático uma resposta crucial para a sobrevivência do organismo, já que limita a perda de água para atmosfera e com isso, também limita a absorção de CO₂, o que, por sua vez, diminui as taxas fotossintéticas (OSAKABE et al., 2014). É interessante observar, no entanto, que apesar de apresentarem a mesma condutância estomática, plantas no tratamento DH+BV03 apresentaram maior capacidade de fixação de carbono do que as plantas expostas à seca isoladamente, o que provavelmente se deve a um incremento das funcionalidades do aparato fotossintético provocado pelo microrganismo, como evidenciado pela maior eficiência de carboxilação na Rubisco (DE LIMA et al., 2019; TAIZ et al., 2017; BASU et al., 2016). Já as plantas em déficit hídrico não inoculada apresentaram uma maior taxa fotorrespiratória. Quando a taxa fotorrespiratória aumenta e a taxa de assimilação carbônica diminui, resultado observado neste presente estudo, ocorre balanço negativo de carbono, pois a Rubisco diminuiu a carboxilação e passou a empregar mais a oxigenação em decorrência do fechamento estomático (FARNESE et al., 2017). Um resultado similar foi encontrado em plantas de soja submetidas à seca (SOUSA et al., 2019).

Cabe ressaltar, que ao avaliar a hidratação das plantas submetidas à seca, as plantas do tratamento DH+BV03 apresentaram uma maior eficiência do uso da água, como observado pelo parâmetro de A/g_s . No trabalho de Martins e colaboradores (2018), os quais trabalharam com três microrganismos do gênero *Bacillus*, eles selecionaram os que possuíam capacidade de crescer em locais com pouca água disponível, o objetivo deles era avaliar o potencial destes microrganismos inoculados em sementes de soja para aumentar o uso eficiente da água e conseguisse mitigar os efeitos do estresse, logo, foi observado que estes microrganismos conseguiram atenuar os efeitos da restrição hídrica e melhoraram a eficiência do uso da água, assim como observamos neste presente estudo, pois a BV03 conseguiu mitigar o efeito estressante nas plantas submetidas à seca e fomentou uma melhor eficiência do uso da água.

Em questão das clorofilas, se observou um grande teor nas plantas inoculadas irrigadas, uma resposta já descrita na literatura (ZHANG et al., 2008; KIM et al., 2017). Entretanto, as plantas submetidas ao déficit hídrico + BV03 não diferiram do tratamento controle ou até mesmo do tratamento DH. No trabalho de Kim e colaboradores (2017), trabalhando com *B. amyloliquefaciens* H-2-5 em plantas de soja submetidas à salinidade, nos seus tratamentos inoculados eles observaram um aumento no teor de clorofila, o que se reflete no bom funcionamento e manutenção do aparelho fotossintético. Além disso, essa alta concentração de clorofila encontrada sugere mais centros de reação, conseqüentemente uma maior captação de luz, logo, a Q_A é altamente oxidada e assim seguirá o fluxo de transporte de elétrons e uma maior produção de ATP obtidos na respiração, promovendo o crescimento das plantas (SAMANIEGO-GÁMEZ et al., 2016).

A diminuição no potencial hídrico em plantas sujeitas à restrição hídrica frequentemente resulta na ocorrência de danos celulares, sobretudo nas membranas celulares (CHOWDHURY et al., 2017). A análise de extravasamento de eletrólitos é utilizada para identificar se houve danos de membrana e observamos que no tratamento DH+BV03, as plantas se mantiveram semelhantes as plantas controles, sendo assim, sendo possível sugerir que o *B. amyloliquefaciens* BV03 auxiliou na manutenção da integridade da membrana quando em estresse, pois as plantas do tratamento DH, apresentaram um incremento de eletrólitos dispersos, sendo assim, a submissão à seca afetou negativamente na integridade da membrana. Em outros trabalhos, foi observado que a inoculação de microrganismo promotores de crescimento auxilia na manutenção da integridade da membrana quando as plantas se encontram em estresse (VURUKONDA et al, 2016; SILVA et al, 2019).

Logo, de acordo com o que foi apresentado neste presente estudo, conclui-se que foi possível atingir o objetivo proposto neste trabalho de caracterização e descrição fisiológica e bioquímica das plantas de soja inoculadas com *B. amyloliquefaciens* BV03 submetidas à estresse. Em relação a hipótese de que este microrganismo pode auxiliar as plantas de soja adquirir tolerância ao déficit hídrico, de acordo com os dados apresentados, a *B. amyloliquefaciens* BV03 é capaz de atenuar os danos ocasionados pelo déficit hídrico, evitando uma demasiada desidratação dos tecidos e uma queda drástica do potencial fotossintético da plantas, além de prover a mantendo a integridade das membranas, apresentando, portanto, grande potencial para utilização em programas agrícolas sustentáveis.

6 CONCLUSÃO

De síntese, o *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 conseguiu mitigar o efeito da restrição hídrica nas plantas de soja.

7 REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, C. A. C. de. **Potencial de Bacillus spp. no controle de estresses biótico e abiótico e na promoção de crescimento de tomateiro.** 2018.
- BAI, J. et al. Photoprotective function of photorespiration in *Reaumuria soongorica* during different levels of drought stress in natural high irradiance. **Photosynthetica**, v. 46, n. 2, p. 232, 2008.
- BASU, S. et al. Plant adaptation to drought stress. **F1000Research**, v. 5, 2016.
- CHANDRA, D. et al. Drought-tolerant *Pseudomonas spp.* improve the growth performance of finger millet (*Eleusine coracana* (L.) Gaertn.) under non-stressed and drought-stressed conditions. **Pedosphere**, v. 28, n. 2, p. 227-240, 2018.
- CHANGE, IPCC Climate. The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. 2013. **There is no corresponding record for this reference. [Google Scholar]**, p. 33-118, 2013.
- CHAVARRIA, G. et al. Restrição fotossintética de plantas de soja sob variação de disponibilidade hídrica. **Ciência Rural**, v. 45, n. 8, p. 1387-1393, 2015.
- CHOWDHURY, J. A. et al. Effect of drought stress on bio-chemical change and cell membrane stability of soybean genotypes. **Bangladesh Journal of Agricultural Research**, v. 42, n. 3, p. 475-485, 2017.
- Conab.** ACOMPANHAMENTO DA SAFRA BRASILEIRA DE GRÃOS, v. 6 - Safra 2018/19, n.7 - Sétimo levantamento, abril 2019.
- DA COSTA FERREIRA¹, M. G. et al. Glyceolin and phaseolin induction in soybean and beans as a function of biocontrol agents application. **Multidisciplinary Journal**, v.6, n.1, p. 113 – 118, 2019.
- DE LIMA, B. C. et al. *Bacillus subtilis* ameliorates water stress tolerance in maize and common bean. **Journal of Plant Interactions**, v. 14, n. 1, p. 432-439, 2019.

- DE SOUSA, L. F. et al. Improving water-use efficiency by changing hydraulic and stomatal characteristics in soybean exposed to drought: the involvement of nitric oxide. **Physiologia plantarum**, 2019.
- ELSHIBLI, S.; ELSHIBLI, M.; KORPELAINEN, H. Growth and photosynthetic CO₂ responses of date palm plants to water availability. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, p. 58-65, 2016.
- FARNESE, F. S. et al. The involvement of nitric oxide in integration of plant physiological and ultrastructural adjustments in response to arsenic. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 516, 2017.
- FERREIRA, D. dos S. A. **Eficiência do *Bacillus amyloliquefaciens* na promoção de crescimento e produtividade no milho**. 2018. 35f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Universidade Federal de Mato Grosso, Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais, Sinop, 2018.
- FERREIRA, R. J. et al. Espécies de *bacillus* no controle dos nematoides das galhas e no desenvolvimento de cana-de-açúcar. **Nematropica**, v. 47, n. 2, p. 106-113, 2018.
- FU, W.; LI, P.; WU, Y. Effects of different light intensities on chlorophyll fluorescence characteristics and yield in lettuce. **Scientia Horticulturae**, v. 135, p. 45-51, 2012.
- 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. e0130456, 2015.
- GALVÃO, Í. M. et al. Biostimulants action in common bean crop submitted to water deficit. **Agricultural Water Management**, v. 225, p. 105762, 2019.
- GAMEZ, R. et al. Screening, plant growth promotion and root colonization pattern of two rhizobacteria (*Pseudomonas fluorescens* Ps006 and *Bacillus amyloliquefaciens* Bs006) on banana cv. Williams (*Musa acuminata* Colla). **Microbiological research**, v. 220, p. 12-20, 2019.
- GUO, Y.-Y. et al. Effects of drought stress on growth and chlorophyll fluorescence of *Lycium ruthenicum* Murr. seedlings. **Photosynthetica**, v. 54, n. 4, p. 524-531, 2016.
- HAZRATI, S. et al. Effects of water stress and light intensity on chlorophyll fluorescence parameters and pigments of *Aloe vera* L. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 106, p. 141-148, 2016.
- 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.

- KUMAR, M.-L. et al. Synergistic effect of *Pseudomonas putida* and *Bacillus amyloliquefaciens* ameliorates drought stress in chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Plant signaling & behavior**, v. 11, n. 1, p. e1071004, 2016.
- LENG, G.; HALL, J. Crop yield sensitivity of global major agricultural countries to droughts and the projected changes in the future. **Science of the Total Environment**, v. 654, p. 811-821, 2019.
- MARIANO, R. L. R. et al. Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, v. 1, p. 89-111, 2013.
- MARTINS, S. J. et al. Plant-associated bacteria mitigate drought stress in soybean. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 14, p. 13676-13686, 2018.
- MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N. Chlorophyll fluorescence—a practical guide. **Journal of experimental botany**, v. 51, n. 345, p. 659-668, 2000.
- MENG, L.-L. et al. Effects of drought stress on fluorescence characteristics of photosystem II in leaves of *Plectranthus scutellarioides*. **Photosynthetica**, v. 54, n. 3, p. 414-421, 2016.
- MUSA, U. T.; USMAN, T. H. Leaf area determination for maize (*Zea mays* L.), okra (*Abelmoschus esculentus* L.) and cowpea (*Vigna unguiculata* L.) crops using linear measurements. **Journal of Biology, Agriculture and Healthcare**, v. 6, n. 4, p. 103-111, 2016.
- NGUYEN, H. et al. Biochemical and Physiological Characteristics of Photosynthesis in Plants of Two *Calathea* Species. **Intern. Jour. of Mol. Sci.**, v. 19, n. 3, p. 704, 2018.
- OSAKABE, Y. et al. Response of plants to water stress. **Frontiers in plant science**, v. 5, p. 86, 2014.
- PIMENTEL, D.; PATZEK, T. Ethanol production using corn, switchgrass and wood; biodiesel production using soybean. In: **Biofuels, solar and wind as renewable energy systems**. Springer, Dordrecht, p. 373-394, 2008.
- RODRIGUES, S. *Bacillus spp.* como promotores e no controle de *Sclerotium cepivorum* in vitro. 2019. 44p. TCC (graduação)- Universidade Federal de Santa Catarina. Campus Curitibanos. Agronomia. 2019.
- RYU, C.-M. et al. Bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 100, n. 8, p. 4927-4932, 2003.

- SACK, L.; SCOFFONI, C. Measurement of leaf hydraulic conductance and stomatal conductance and their responses to irradiance and dehydration using the Evaporative Flux Method (EFM). **JoVE (Journal of Visualized Experiments)**, n. 70, p. 4179, 2012.
- 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.
- DA SILVA, C. A. **ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E MORFOANATÔMICAS INDUZIDAS PELO DEFICIT HÍDRICO EM DUAS CULTIVARES DE SOJA.** 2017. 44p. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa. 2017.
- SILVA, E. R. et al. Can co-inoculation of *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* alleviate adverse effects of drought stress on soybean (*Glycine max* L. Merrill.)?. **Archives of microbiology**, v. 201, n. 3, p. 325-335, 2019.
- SILVA, L.; BELTRÃO, N. E. de; AMORIM NETO, M. S. **Análises de crescimento de comunidades vegetais.** Campina Grande: Embrapa algodão, 18p (Embrapa Algodão. Circular técnica, 34) 2000.
- SILVA, P. E.M. et al. The functional divergence of biomass partitioning, carbon gain and water use in *Coffea canephora* in response to the water supply: implications for breeding aimed at improving drought tolerance. **Environmental and experimental botany**, v. 87, p. 49-57, 2013.
- 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, A.-Y. et al. Synergistic effects of *Bacillus amyloliquefaciens* (GB03) and water retaining agent on drought tolerance of perennial ryegrass. **International journal of molecular sciences**, v. 18, n. 12, p. 2651, 2017.
- TAIZ, L. et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal.** Artmed Editora, 2017.
- VURUKONDA, S. S. K. P. et al. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. **Microbiological research**, v. 184, p. 13-24, 2016.
- WANG, T. L. et al. Can we improve the nutritional quality of legume seeds?. **Plant Physiology**, v. 131, n. 3, p. 886-891, 2003.

WELLBURN, A. R. 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**, v. 144, n. 3, p. 307-313, 1994.

ZHANG, H. et al. Soil bacteria augment *Arabidopsis* photosynthesis by decreasing glucose sensing and abscisic acid levels in planta. **The Plant Journal**, v. 56, n. 2, p. 264-273, 2008.

HENDGES, Flávia Bordignon et al. Avaliação enzimática e fisiológica de plântulas de milho submetidas à seca. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 4, n. 2, p. 52-63, 2015.