

## EFEITO DA INOCULAÇÃO COM *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 SOBRE PROCESSOS FISIOLÓGICOS EM PLANTAS DE SOJA EXPOSTAS À SECA

Maria Clara de Andrade Pereira da Silva<sup>1</sup>

Alice Ellen Tasinafo Zago<sup>2</sup>

Igor Manoel Paulo Goulart Abreu<sup>3</sup>

Kamila Mendes Batista<sup>4</sup>

Lucas Loram Lourenço<sup>5</sup>

Eduardo de Souza Freire<sup>6</sup>

Paulo Eduardo de Menezes Silva<sup>7</sup>

Fernanda dos Santos Farnese<sup>8</sup>

### Ações antrópicas sobre o meio ambiente

### Resumo

Estudos de mudanças climáticas preveem eventos de seca cada vez mais rigorosos para os próximos anos, o que irá comprometer o cultivo das principais culturas brasileiras. Isso se reflete diretamente sobre a conservação ambiental, uma vez que resulta na demanda por mais recursos hídricos e novas áreas de plantio. No presente estudo, objetivou-se avaliar o efeito da inoculação com a bactéria *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 (BV03), p.c. NO-NEMA, registro MAPA: 34518, sobre os processos fisiológicos da soja (*Glycine max*) expostas ao déficit hídrico. Para isso, plantas de soja foram cultivadas até o estágio V3 e submetidas aos seguintes tratamentos, durante 16 dias: controle (plantas irrigadas continuamente); controle + inoculação BV03 (plantas irrigadas e inoculadas na dose de 2,0 mL p.c.kg semente<sup>-1</sup>); 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 na dose de 2,0 mL p.c. kg semente<sup>-1</sup>). Ao final de 16 dias, avaliou-se o potencial hídrico e parâmetros de trocas gasosas das plantas. Foi possível observar que a inoculação com *B. amyloliquefaciens* BV03 aumentou a tolerância da soja à seca, evitando desidratação intensa dos tecidos, além de aumentar a taxa fotossintética, o que tem impactos diretos sobre a produtividade vegetal. Dessa forma, a inoculação com esse microrganismo é uma estratégia interessante para o desenvolvimento de uma agricultura sustentável em um cenário de mudanças climáticas, contribuindo para o uso mais racional e a consequente conservação dos recursos hídricos.

**Palavras-chave:** *Glycine max*; BV03; Déficit hídrico; Tratamento;

<sup>1</sup> Aluna *Maria Clara de Andrade Pereira da Silva*, Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO – Graduada em Ciências Biológicas, [marias.lds@gmail.com](mailto:marias.lds@gmail.com).

<sup>2</sup> Aluna *Alice Ellen Tasinafo Zago*, Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO – Estudante de Bacharel em Agronomia, [alice.tasinafo@gmail.com](mailto:alice.tasinafo@gmail.com) ..

<sup>3</sup> Aluno *Igor Manoel Paulo Goulart Abreu*, Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO – Estudante de Bacharel em Ciências Biológicas, [igorabreubio@gmail.com](mailto:igorabreubio@gmail.com) .

<sup>4</sup> Aluna *Kamila Mendes Batista*, Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO – Estudante de Bacharel em Ciências Biológicas, [kamila.alencar@estudante.ifgoiano.edu.br](mailto:kamila.alencar@estudante.ifgoiano.edu.br) .

<sup>5</sup> Aluno *Lucas Loram Lourenço*, Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO – Doutorando em biotecnologia e biodiversidade na área de fisiologia vegetal hidráulicas, [lucas.loram@outlok.com](mailto:lucas.loram@outlok.com) .

<sup>6</sup> Professor *Eduardo Souza Freire*, Universidade de Rio Verde, Co-orientador, [efreire@unirv.edu.br](mailto:efreire@unirv.edu.br)

<sup>7</sup> Prof. Dr. *Paulo Eduardo de Menezes Silva*, Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO - Co-orientador, [paulo.menezes@ifgoiano.edu.br](mailto:paulo.menezes@ifgoiano.edu.br)

<sup>8</sup> Prof. Dr. *Fernanda dos Santos Farnese*, Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO – Orientadora, [fernanda.farnese@ifgoiano.edu.br](mailto:fernanda.farnese@ifgoiano.edu.br).

## INTRODUÇÃO

A produção agrícola mundial consome anualmente 2,7 trilhões de metros cúbicos de água, o que corresponde a 70% de toda a água consumida globalmente. Essa realidade pode se agravar no atual cenário de mudanças climáticas, o qual prevê, já para as próximas décadas, aumentos na frequência e na intensidade nos eventos de restrição hídrica. Segundo o First National Assessment Report (RAN1) apenas no Cerrado brasileiro, onde se concentram importantes culturas como a soja e o milho, a precipitação pode sofrer reduções entre 10 a 20% até 2040 e entre 20 a 35% até 2070, gerando uma escassez hídrica sem precedentes que irá afetar o crescimento e desenvolvimento de ecossistemas naturais e agrícolas (PBMC, 2013).

Segundo Assad e Pinto (2008), a intensificação da seca devido aos fenômenos de mudanças climáticas irá reduzir a produtividade de diversas culturas no Brasil, como arroz, feijão, girassol e milho. Para a soja, um dos principais produtos agrícolas brasileiros, estima-se que até o fim deste século a produtividade diminua entre 40 e 58% como consequência da redução na pluviosidade (PELLEGRINI et. al., 2007). Esse efeito danoso das mudanças climáticas e, particularmente, da seca, sobre a produtividade vegetal é consequência das alterações fisiológicas desencadeadas por esse estresse. Com efeito, a escassez hídrica é o principal fator ambiental a limitar o crescimento e a produtividade das culturas em todo o mundo, sendo que os danos desencadeados pelo déficit hídrico podem ser superiores aos danos oriundos de todos os outros fatores bióticos e abióticos em conjunto (FLEXAS et al., 2009). Nesse cenário, torna-se necessário o desenvolvimento de metodologias agrícolas que contribuam para uma agricultura sustentável, aumentando a tolerância das plantas à seca e diminuindo assim a demanda por recursos hídricos e por novas áreas de cultivo.

Bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) constituem um grupo de bactérias que colonizam diferentes órgãos vegetais e que, devido à produção de hormônios e outras moléculas, promove o crescimento das plantas (MARIANO et al., 2013). Tem sido relatado que a utilização de bactérias na formulação de inoculantes ou biofertilizantes pode reduzir os custos de produção, diminuir o impacto ambiental e aumentar a produtividade das culturas. Alguns estudos apontam, ainda, que a inoculação com bactérias é capaz de aumentar a tolerância das plantas a agentes estressores, mantendo o crescimento vegetal mesmo em condições desvantajosas, como o déficit hídrico (CHANDRA et al., 2018). Considerando esses fatos, o objetivo do presente trabalho foi analisar as respostas fisiológicas de plantas de soja expostas à restrição hídrica, bem como o impacto da inoculação com bactérias sobre esse processo. Os resultados obtidos têm importantes implicações para manutenção da produtividade em um ambiente em constante alteração, contribuindo, portanto, para o desenvolvimento agrônomico e para conservação de recursos hídricos no Brasil e no mundo.

## METODOLOGIA

O presente estudo foi realizado em casa de vegetação do Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetal no Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde. Foram usadas sementes de *Glycine max* da cultivar 7487 RR, fornecida pela empresa Cereal Ouro Agrícola – LTDA. Sementes de soja foram selecionadas e cultivadas em latossolo distrófico na proporção 2:1 (solo:areia), adubado segundo a recomendação para a cultivares de soja. O microrganismo utilizado foi a bactéria *Bacillus amyloliquefaciens* (BV03, para referência: NO-NEMA, registro MAPA: 34518), fornecida pela empresa Biovalens. As plantas de soja ao atingir o estágio de desenvolvimento V3 foram submetidas aos seguintes tratamentos: controle (plantas irrigadas continuamente); controle + inoculação BV03 (plantas irrigadas e inoculadas com BV03 (2 mL p.c. kg semente<sup>-1</sup>)); seca (suspensão da irrigação até que a água disponível no solo correspondesse 30% da água disponível no controle); seca + inoculação BV03 (plantas submetidas à seca e inoculadas com BV03 (2 mL p.c. kg semente<sup>-1</sup>)). As plantas permaneceram expostas aos tratamentos por 16 dias, sendo então utilizadas para as análises descritas nos próximos tópicos.

### Avaliação das relações hídricas

O potencial hídrico foliar foi determinado em folhas individuais completamente expandidas com o auxílio de bomba de pressão tipo Scholander, ao amanhecer (04:20h) ( $\Psi_{am}$ ) e ao meio-dia ( $\Psi_{md}$ ).

### Trocas gasosas

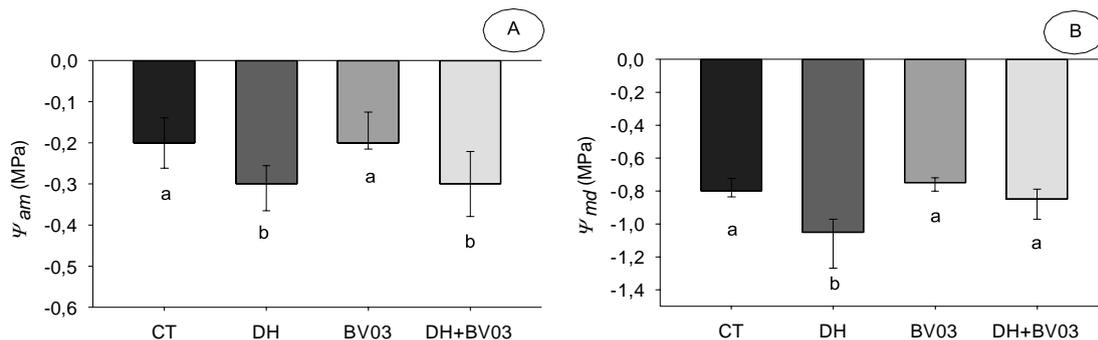
A taxa de assimilação líquida do carbono ( $A$ ), a condutância estomática ( $g_s$ ) e a taxa transpiratória ( $E$ ) foram determinadas em sistema aberto, sob luz saturante ( $1.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e pressão parcial de  $\text{CO}_2$  de 40 Pa. Foi utilizado um analisador de gases a infravermelho (LI-6400, Li-Cor Inc., Nebraska, EUA), equipado com uma fonte de luz azul/vermelho (modelo LI-6400-02B, LI-COR).

### 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.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

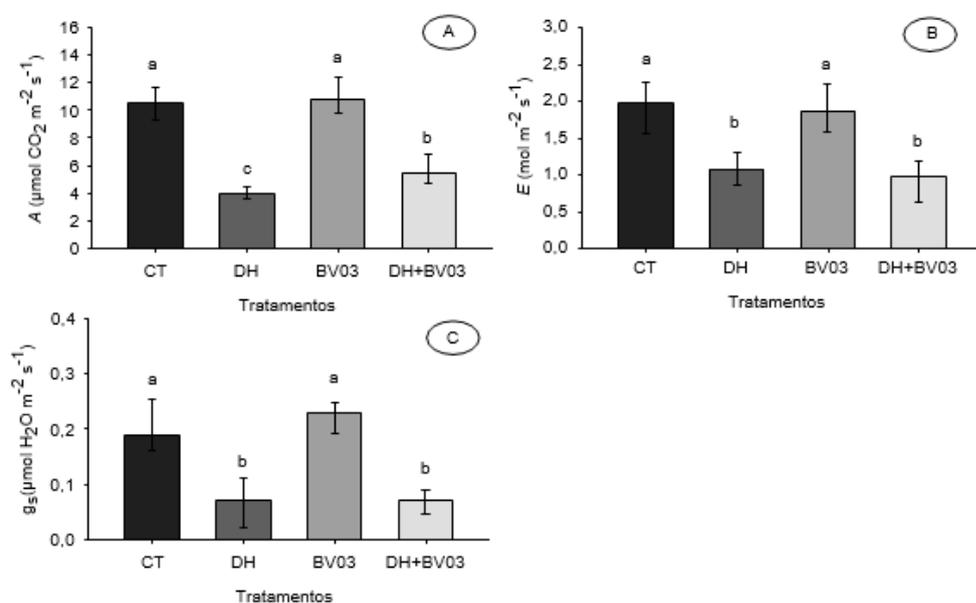
Plantas de soja expostas à seca apresentaram queda no potencial hídrico na antemanhã, indicando maior desidratação dos tecidos vegetais em relação as plantas irrigadas continuamente (Figura 1A). Cabe ressaltar, no entanto, que o potencial hídrico do meio dia foi mais negativo apenas nas plantas expostas ao déficit hídrico (DH) isoladamente, sendo que a inoculação com BV03 foi capaz de manter o potencial hídrico das plantas similar ao controle (Figura 1B).



**Figura 01** Potencial hídrico na antemanhã (A) e ao meio dia (B) em plantas de soja expostas ao déficit hídrico, inoculadas e não inoculadas com a bactéria *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 (BV03). Controle (CT) - (cultivares irrigadas ininterruptamente); Déficit hídrico (DH) - (30% de água disponível no solo); Controle + BV03 (BV03) - (cultivares irrigadas e inoculadas com BV03); Déficit hídrico (DH) + *B. amyloliquefaciens* BV03 (BV03) - (cultivares expostas 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 de erro. As barras estatísticas mostram o desvio padrão entre os experimentos.

Um dos maiores danos desencadeados pela seca consiste na redução do potencial hídrico abaixo dos limiares necessários para a manutenção dos processos fisiológicos vegetais (FLEXAS et al. 2009). 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, 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 do sistema radicular, o que aumenta a capacidade de obtenção de água no solo e também poderia explicar as diferenças observadas no potencial hídrico (ALBUQUERQUE, 2018).

A exposição das plantas ao déficit hídrico também afetou negativamente a assimilação líquida de carbono (A), embora a inoculação com BV03 tenha atenuado, ainda que parcialmente, esse efeito danoso da seca (Figura 2A). Observamos também que as plantas submetidas ao déficit hídrico, isoladamente ou em conjunto com BV03, apresentaram uma baixa transpiração (E) (Figura 2B), o que reflete o decréscimo na condutância estomática ( $g_s$ ) nesses tratamentos (Figura 2C). O fechamento estomático é uma resposta comumente observada em plantas expostas à seca, sendo importante porque limita a perda de água para atmosfera. Por outro lado, o fechamento estomático também limita a absorção de  $\text{CO}_2$ , 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 promovido pelo microrganismo, o que pode ser consequência, por exemplo, de aumentos na eficiência de carboxilação na Rubisco (DE LIMA et al., 2019).



**Figura 02** - Trocas gasosas em plantas de soja submetidas ao déficit hídrico, inoculadas ou não com *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 (BV03). Na figura são apresentados dados de assimilação líquida de carbono (A); transpiração (B); e condutância estomática (C). Controle (CT) - (cultivares irrigadas ininterruptamente); déficit hídrico (DH) - (30% de água disponível no solo); controle + BV03 (BV03) - (cultivares irrigadas e inoculadas com a bactéria *B. amyloliquefaciens* BV03); déficit hídrico (DH) + *B. amyloliquefaciens* BV03 (BV03) - (cultivares expostas 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 mostram o desvio padrão.

## CONCLUSÕES

Com base nos dados apresentados é possível concluir que *B. amyloliquefaciens* BV03 é capaz de atenuar os danos ocasionados pelo déficit hídrico em plantas de soja, evitando a demasiada desidratação dos tecidos foliares e a queda drástica do potencial fotossintético das plantas. O presente estudo apresenta, portanto, um vasto potencial para uso em programas agrícolas que visem mitigar os danos desencadeados pelas mudanças climáticas, contribuindo para melhor aproveitamento dos recursos hídricos e evitando a necessidade de desmatamento para busca de novas áreas de cultivo para aumento da produtividade.

## AGRADECIMENTOS

OS AUTORES AGRADECEM O IF GOIANO – CAMPUS RIO VERDE E O CNPQ PELO AUXÍLIO FINANCEIRO À PESQUISA E PELA CONCESSÃO DE BOLSA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA; E ÀS EMPRESAS CEREAL OURO AGRÍCOLA, PELO FORNECIMENTO DAS SEMENTES, E BIOVALENS PELO FORNECIMENTO DE BV03.

## 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. Dissertação de Mestrado (Pós-Graduação de Agronomia – Proteção de Plantas. Botucatu, São Paulo. 2018.

ASSAD, E.; PINTO, H. S. **Aquecimento Global e a nova Geografia da Produção agrícola no Brasil.** São Paulo - Agosto de 2008.

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.

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.

FLEXAS J. et al. **Photosynthesis limitations during water stress acclimation and recovery in the drought-adapted *Vitis* hybrid Richter-110.** *Journal of Experimental Botany* 60: 2361-2377,2009

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 Agrônômica*, v. 1, p. 89-111, 2013.

OSAKABE, Y. et al. **Response of plants to water stress.** *Frontiers in plant science*, v. 5, p. 86, 2014.

PBMC. **Base científica das mudanças climáticas. First national assessment report of the brazilian panel on climate change.** *Brazilian Panel on Climate Change*, Brasília, 30 p, 2013.

PELLEGRINI, G. Q.; ASSAD, E. D.; MARIN, F. R. **Mudanças Climáticas Globais e a Agricultura no Brasil.** *Revista Multiciência*, 8ªEd. Campinas, mai 2007.

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.