

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**JEAN ROBERTO RUARO**

**EFEITO DE *Bacillus aryabhattai*  
SOBRE O COMPORTAMENTO FISIOLÓGICO DE SEMENTES E PLANTAS DE  
SOJA EM CONDIÇÕES DE ESTRESSE HÍDRICO**

**DOIS VIZINHOS**

**2023**

**JEAN ROBERTO RUARO**

**EFEITO DE *Bacillus aryabhatai*  
SOBRE O COMPORTAMENTO FISIOLÓGICO DE SEMENTES E PLANTAS DE  
SOJA EM CONDIÇÕES DE ESTRESSE HÍDRICO**

***EFFECT OF Bacillus aryabhatai  
ON THE PHYSIOLOGICAL BEHAVIOR OF SOYBEAN SEEDS AND PLANTS  
UNDER WATER STRESS CONDITIONS***

Trabalho de conclusão de curso de graduação  
apresentado como requisito para obtenção do título de  
Bacharel em Nome do Agronomia da Universidade  
Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador(a): Sérgio Miguel Mazaro

**DOIS VIZINHOS**

**2023**



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es). Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

**JEAN ROBERTO RUARO**

**EFEITO DE *Bacillus aryabhattai*  
SOBRE O COMPORTAMENTO FISIOLÓGICO DE SEMENTES E PLANTAS DE  
SOJA EM CONDIÇÕES DE ESTRESSE HÍDRICO**

Trabalho de conclusão de curso de graduação  
apresentado como requisito para obtenção do título de  
Bacharel em Nome do Agronomia da Universidade  
Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Data da aprovação: 04/12/2023

---

Lucas Da Silva Domingues  
Doutor em Agronomia  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR

---

Maira Cristina Schuster Russiano  
Mestre em Produção Vegetal  
Universidade Tecnológica Federal Do Paraná - UTFPR

---

Sérgio Miguel Mazaro  
Professor Dr. em Produção Vegetal  
Universidade Tecnológica Federal Do Paraná - UTFPR

**DOIS VIZINHOS**

**2023**

Dedico este trabalho à minha família,  
também para a pesquisa e a ciência.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a todos os envolvidos nessa trajetória acadêmica, aos que de alguma forma me auxiliaram no mundo acadêmico

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Sérgio Miguel Mazaro, pela orientação compreensão e didática que se somou muito para a realização do trabalho.

Agradeço a todos os professores, colegas e servidores, que fizeram parte da minha trajetória durante a graduação.

Agradeço a minha família por me dar força e auxílio necessário.

“Não é o conhecimento, mas o ato de aprender,  
não a posse mas o ato de chegar lá, que concede  
a maior satisfação. “

(Carl Friedrich Gauss).

## RESUMO

A cultura da soja possui uma enorme importância social e econômica para o Brasil. Um dos fatores primordiais para alta produtividade é uma boa distribuição hídrica no ciclo da cultura, no entanto, nos últimos anos tem ocorrido déficit hídricos em diversas regiões do Brasil, sendo necessário a implementação de novas tecnologia que mitiguem esse problema. Uma das alternativas que podem contribuir é o uso de Rizobactérias Promotoras de Crescimento (RBPC's), destacando o uso de *Bacillus aryabhatai*. Deste modo foi desenvolvido dois experimentos na UTFPR, Dois Vizinhos com o objetivo de avaliar o potencial de *Bacillus aryabhatai* no tratamento de sementes de soja sobre os parâmetros fisiológicos das sementes e em plantas sob condições de estresse hídrico. No Primeiro experimento foi testado o potencial do *Bacillus aryabhatai* em condições de estresse hídrico. Foram avaliados dois fatores, sementes tratadas *Bacillus aryabhatai* (com e sem) e estresse hídrico (com e sem). O experimento foi realizado no Laboratório de Controle Biológico II, em vasos plásticos de 5 L, contendo Latossolo vermelho distrófico como substrato. O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, e cinco repetições, a unidade experimental foi constituído por um vaso. Foram mantidas duas plantas por vaso, durante um período de 77 dias, após 46 dias foi iniciado o tratamento de restrição hídrica, durando 23 dias. Avaliou-se comprimento, massa verde e massa seca da parte aérea e sistema radicular. O segundo experimento foi realizado no laboratório de análises sementes da UTFPR – *Campus* Dois Vizinhos, onde as sementes foram inoculadas com *B. aryabhatai*, e determinados os parâmetros fisiológicos. Foram utilizados dois tratamentos com 4 repetição, totalizando 8 unidades experimentais, sendo o T1= tratamento inoculado e T2= tratamento não inoculado, cada repetição teve 50 sementes, gerando um total de 400 sementes para cada tratamento. Foram conduzidas em rolos de papel germintest e levados até o germinador com temperatura de 25°C, por um período de 8 dias, onde avaliou-se os parâmetros de germinação, massa verde e massa seca da parte aérea e sistema radicular. Segundo o teste de TUKEY a 5% de probabilidade, constatou diferença significativa com uso de inoculação com *B. aryabhatai*. Comprovou-se aumento de parte aérea, sistema radicular, acúmulo de massa verde e seca, em comparação ao tratamento não inoculado, constatando-se que a inoculação da bactéria auxiliou o desenvolvimento de plantas de soja em condições de déficit hídrico. Também pode-se observar que a interação simbiótica promove benefícios já na fase de germinação.

**Palavras-chave:** *Bacillus aryabhatai*, Déficit Hídrico, *Glycine max*, Interação Simbiótica

## ABSTRACT

The soybean crop is of enormous social and economic importance to Brazil. One of the key factors for high productivity is good water distribution throughout the crop. However, in recent years there has been a water deficit in various regions of Brazil, which has necessitated the implementation of new technologies to mitigate this problem. One of the alternatives that can contribute is the use of growth-promoting rhizobacteria (GPRBs), especially *Bacillus aryabhatai*. Two experiments were therefore carried out at UTFPR, Dois Vizinhos with the aim of assessing the potential of *Bacillus aryabhatai* in the treatment of soybean seeds on the physiological parameters of the seeds and under conditions of water stress. The first experiment tested the potential of *Bacillus aryabhatai* under conditions of water stress. Two factors were evaluated: seeds treated with *Bacillus aryabhatai* (with and without) and water stress (with and without). The experiment was carried out in the Biological Control Laboratory II, in 5 L plastic pots containing red latosol as a substrate. The design was entirely randomized, with four treatments and five replications, the experimental unit being the pot. Two plants were kept per pot for a period of 77 days. After 46 days, the water restriction treatment began, lasting 28 days, and the length, green mass and dry mass of the aerial part and root system were assessed. The second experiment was carried out in the seed analysis laboratory at UTFPR - Campus Dois Vizinhos, where the seeds were inoculated with *B. aryabhatai* and the physiological parameters were determined. Two treatments were used with 4 replicates, totaling 8 experimental units, T1 = inoculated treatment and T2 = non-inoculated treatment, each replicate had 50 seeds, generating a total of 400 seeds for each treatment. Germintest paper rolls were made and taken to the germinator at a temperature of 25°C, for a period of 8 days, where the germination parameters, green mass and dry mass of the aerial part and root system were then evaluated. According to the TUKEY test at 5% probability, a significant difference was found when using inoculation with *B. aryabhatai*. There was a greater increase in the aerial part, root system, accumulation of green and dry mass, compared to the non-inoculated treatment, noting that the inoculation of the bacteria helped the development of soybean plants in conditions of water deficit. It was also found that the symbiotic interaction promotes benefits already in the germination phase.

**Keywords:** *Bacillus aryabhatai*, Water-deficiency, Soybean, Symbiotic Interaction



## SUMÁRIO

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO .....</b>   | <b>13</b> |
| <b>2. OBJETIVOS.....</b>  | <b>14</b> |
| <b>2.1 Objetivo geral: .....</b>                                      | <b>14</b> |
| <b>2.2 Objetivos específicos: .....</b>                               | <b>14</b> |
| <b>3. REVISÃO DE LITERATURA .....</b>                                 | <b>14</b> |
| <b>3.1 Cultura da soja .....</b>                                      | <b>15</b> |
| <b>3.2 Bactérias endofíticas .....</b>                                | <b>16</b> |
| <b>3.3 Inoculação da semente com <i>Bacillus aryabhattai</i>.....</b> | <b>18</b> |
| <b>4.0 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>                                  | <b>20</b> |
| <b>4.1 Local e Material experimental .....</b>                        | <b>20</b> |
| <b>4.2 Procedimento .....</b>   | <b>21</b> |
| <b>4.2.1 Teste em vaso.....</b>                                       | <b>21</b> |
| <b>4.2.2 Teste de Germinação.....</b>                                 | <b>27</b> |
| <b>5.RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>                                | <b>30</b> |
| <b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>                                  | <b>33</b> |
| <b>REFERÊNCIAS.....</b>   | <b>35</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

A cultura da soja [*Glycine max* (L.) Merrill] está entre os oleaginosas cultivadas mais importantes no mundo, formando base de inúmeros produtos de alimentação humana e animal, sua maior utilização é como grão processado, para produção de óleo e farelo de soja, o principal atrativo da commodity é o elevado o teor de proteína com média de 40% e o teor de óleo 20% (SEDIYAMA, 2014). O principal produto gerado com o processo de esmagamento é o farelo de soja, que em conjunto com o milho são a matéria-prima base para a fabricação de rações, a principal demanda de soja grão o mercado de carnes e de leite (HIRAKURI; LAZZAROTTO, 2014).

Em contexto mundial e nacional a soja está inserida economicamente como um dos principais produtos agrícolas, no Brasil, ela é a principal cultura em extensão de área e volume de produção (CONAB, 2017).

Atualmente a produção de soja no mundo é de 362,947 milhões de toneladas, com área planta de 127,842 milhões de hectares, o Brasil está como o maior produtor de soja mundial com produção de 135,409 milhões de toneladas e a área total cultivada é de 38,502 milhões de hectares, em segundo maior produtor vem os Estados Unidos com produção de 112,548 milhões de toneladas em um total de área plantada de 33,313 milhões de hectares (EMBRAPA SOJA, 2021), se estima uma produção de 150,36 milhões de toneladas para a safra 2022/23 e a área total cultivada podendo chegar à 42,4 milhões de hectares (CONAB, 2022).

Com eventos de estiagem cada vez mais frequentes no país, se procura encontrar tecnologias que auxiliam o desenvolvimento vegetal nessas condições adversas. Nesse sentido, o uso de bactérias endofíticas podem auxiliar, pois possuem interação com raízes das plantas, permitindo maior desenvolvimento radicular, atingindo com isso maior área de absorção de água e nutrientes.

Em extração de solo da região rizosférica de plantas cactáceas do bioma Caatinga, foram encontradas bactérias do gênero *Bacillus sp.*, efetuados trabalhos de inoculação em milho, e induzido a estresse hídrico, sendo observado um crescimento de 28,2% em plantas inoculadas com *Bacillus sp.*, em relação as não inoculadas (KAVAMURA, 2013).

Por meio de varredura eletrônica comprovou-se a simbiose de *Bacillus aryabhattai* com plantas de soja, interferindo diretamente na expressão de genes relacionados a produção e estabilidade de fitohormônio vegetais, e demonstra o

potencial de crescimento e desenvolvimento de soja sendo influenciado por *B. aryabhatai*. (PARK et. al., 2017).

Nesse sentido, produtos comerciais à base de *B. aryabhatai*, com a CEPA CMAA 1363 (HOBBER *Aris* – Ballagro), tem como intuito de auxiliar o desenvolvimento e maximizar a produção em períodos com déficit hídrico para a cultura do milho. Tais produtos sugerem, que o *B. aryabhatai* pode atuar otimizando o uso de água pela planta, reduzindo efeitos danosos por estresses hídricos, fortalecendo o crescimento de ramos e caule e protegendo o potencial produtivo.

Diante do que foi exposto, tais produtos possuem registro para a cultura do milho, e consideramos importante entender se esse potencial já observado no milho pode ser estendido para a cultura da soja.

## **2. OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivo geral:**

Verificar o potencial de *Bacillus aryabhatai* no tratamento de sementes e plantas de soja sobre os parâmetros fisiológicos de sementes e em plantas sob condições de estresse hídrico.

### **2.2 Objetivos específicos:**

- a) Avaliar parâmetros agronômicos relacionados ao crescimento e desenvolvimento das plantas de soja sob estresse hídrico: acúmulo de água no tecido vegetal, massa verde, massa seca, comprimento parte aérea e radicular.
- b) Avaliar o efeito do *B. aryabhatai* sobre os parâmetros fisiológicos relacionados a germinação de sementes, sendo a germinação, plantas normais, plantas anormais, massa seca e massa verde.

## **3. REVISÃO DE LITERATURA**

## 5.1 Cultura da soja

A soja é uma planta pertencente ao reino *Plantae*, divisão *Magnoliophyta*, classe *Magnoliopsida*, Ordem *Fabales* (leguminosae), subfamília *Faboideae* (*Papilionoideae*), gênero *Glycine*, espécie *Glycine max* e a forma cultivada *Glycine max* (L) Merrill. (SEDIYAMA, 2009). A soja é originária do centro de origem Chinês, o maior e mais antigo centro de origem (VERNETTI; GASTAL, 1979).

Segundo Sedyama (2009), a soja é uma das plantas mais importantes atualmente no mundo, seu grão é rico em proteínas sendo em torno de 40% e com teor de óleo de 20%, a planta é utilizada como adubo verde, forragem, silagem, feno e pastagem. O grão pode fornecer o óleo para alimentação humana, produção de biodiesel, desinfetantes, lubrificantes e sabões. E o farelo é destinado para alimentação humana e animal, e também na composição de muitos produtos processados e semiprocessados. A soja é utilizada para a produção de proteína animal e seu uso tem sido crescente na alimentação humana, consolidando uma cadeia agroindustrial, sendo também uma alternativa para utilização na fabricação de biocombustíveis (CONAB, 2017).

Para Hirakuril e Lazzarotto (2014), A produção de soja está entre as atividades econômicas que, nas últimas décadas, apresentaram crescimentos mais expressivos, isso pode ser atribuído a diversos fatores como desenvolvimento e estruturação de um sólido mercado internacional relacionado com o comércio de produtos do complexo agroindustrial da soja, a consolidação da oleaginosa como importante fonte de proteína vegetal, especialmente para atender demandas crescentes dos setores ligados à produção de produtos de origem animal, geração e oferta de tecnologias, que viabilizaram a expansão da exploração sojícola para diversas regiões do mundo.

A maior porcentagem da produção de grãos de soja é utilizada dentro de um processo de esmagamento, que irá gerar farelo e óleo de soja, dentre outros derivados (PICCOLI, 2018).

Se estima uma produção de 150,36 milhões de toneladas para a próxima safra (2022/23), os preços do grão irão continuar atrativos, pois a oferta e a demanda mundial da oleaginosa seguem ajustadas, houve um aumento de 3,54% da área de cultivo, podendo chegar a 42,4 milhões de hectares (CONAB, 2022). A safra 2022/23

deve apresentar recuperação em relação à safra 2021/22, em relação as consequências causadas pelas condições climáticas que afetaram a Região Sul e parte do Mato Grosso, com a melhora esperada na produtividade, se estimam que a maior disponibilidade do grão deve propiciar exportações na ordem de 92 milhões de toneladas, aumento de 22,2% em relação à safra 2021/22, um recorde para a cultura (CONAB, 2022).

Segundo MAPA (2021), a produção de soja em 2030/31 está projetada em 175,4 milhões de toneladas, sendo um acréscimo de 29,5% em relação à produção de 2020/21, a área de grãos deve expandir-se dos atuais 68,7 milhões de hectares para 80,8 milhões de hectares em 2030/31, onde 10,3 milhões de há serão novas área plantadas com a soja para a safra 2030/31, e o consumo deverá atingir 59,1 milhões de toneladas em 2030/31.

### 3.2 Bactérias endofíticas

Microrganismos endofíticos vivem e se proliferam intra e/ou intercelularmente em plantas hospedeiras, sem causar danos aparentes e são de grande importância biotecnológica para a indústria, agricultura e medicina (CONTI, 2007).

O microrganismo endofítico tem um fator essencial pois, além de promover o crescimento vegetal por fornecer compostos promotores de crescimento, são responsáveis pela liberação de metabólitos antimicrobianos, que podem suprimir patógenos (MIGUEL, 2021).

Segundo Cruz (2021), bactérias do gênero *Bacillus sp.* Pertencem ao grupo das rizobactérias promotoras de crescimento (RPCP's), essas rizobactérias podem dispor de um ou vários mecanismos de ação sendo diretos ou indiretos; os mecanismos diretos estão relacionados com a produção de fitohormônios, como auxina, giberelina e citocininas, fixação de nitrogênio atua do também na solubilização de fósforo, com ação indireta; se inclui produção de de 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) desaminase, antibióticos, enzimas de degradação da parede celular, cianeto de hidrogênio, indução de resistência sistêmica.

As bactérias promotoras de crescimento têm capacidade de produzir o ácido indol-3-acético (AIA), que é um fitohormônio do grupo das auxinas que desempenha um papel central na divisão celular, alongamento desenvolvimento dos frutos e senescência. (DUCA Et. al., 2014)

Quanto o fator água considera-se limitante para uma cultura, em quantidades favoráveis se tem um bom desenvolvimento associado com boa nutrição, porém em condições de carência, se tem alternativas com o uso de microorganismos xerotolerantes associados a cultura, esses microorganismos podem ser encontrados em ambientes onde estão constantemente sendo submetidos ao estresse hídrico (KAVAMURA et al., 2013)

Essa relação ocasiona várias vantagens, como proteção a patógenos por indução dos mecanismos de defesa da planta, maior rendimento em colheitas, fixação do nitrogênio atmosférico além da solubilização e assimilação de fosfato, promovendo o crescimento da planta (MIGUEL, 2021). A inoculação de *Bacillus sp.* Em semente de milho apresentou aumentos significativos na área sob estresse hídrico (KAVAMURA, 2013).

A bactéria *Bacillus aryabhatai* foi isolada pela primeira vez em crio tubos usados para coletar amostras de ar da estratosfera da Terra com uma altura entre 27 e 41km em 2009 (SHIVAJI et al., 2009). Sendo uma bactéria gram positiva, de formato bastonete, formação de endósporos, e com colônias de 5 a 8 mm de diâmetro (NDOUNG et.al., 2019)

May et. al (2019), testou duas cultivares de cana-de-açúcar, com inoculação de *B. aryabhatai*, onde seus resultados demonstram que as mudas foram expostas a períodos diferentes de irrigação, onde as mudas que se encontravam em períodos com menor frequência de irrigação, demonstraram comportamentos diferentes, ou seja, maior número de perfilho por planta e maior tamanho de sistema radicular com relação as mudas sem inoculação, comprovando a influência de *B. aryabhatai* no desenvolvimento do sistema radicular em condições de estresse hídrico severo em plantas de cana-de-açúcar.

Kavamura et al. (2013) encontraram diversas bactérias do gênero *Bacillus spp.* em plantas cactáceas do bioma Caatinga, onde observaram em testes com plantas de milho o potencial de crescerem em condições de déficit hídrico, com a inoculação da bactéria endofítica proporcionou um aumento de 28,2%em comparação com plantas que não foram inoculadas.

### 3.3 Inoculação da semente com *Bacillus aryabhatai*

A inoculação da semente de soja com *B. aryabhatai*, visa estabelecer uma simbiose entre raiz e bactéria melhorando o sistema radicular da planta e também auxiliar no crescimento e desenvolvimento da espécie em períodos com déficit hídrico. A produção de ácido indol acético pelas RPCP, por exemplo, pode levar à alongação das raízes primárias ou à formação de raízes secundárias e pelos radiculares, dependendo da concentração dessa substância (VELOSO, 2022).

Segundo Park et. al., (2017), a inoculação de *B. aryabhatai* cepa SRB02, promoveu significativamente o crescimento de soja e arroz, onde a microscopia eletrônica de varredura revelou que SRB02, colonizou com sucesso as raízes de plantas de soja dentro de 2 dias após a inoculação, as plantas inoculadas obtiveram um desempenho maior em relação as não inoculadas, como comprimento da parte aérea, tamanho de folha e número de nós significativamente de em maiores de soja, indicando que *B. aryabhatai* é uma bactéria promotora de crescimento vegetal. Em plantas de soja observou-se um maior crescimento em plantas cultivadas com condições ótimas e de altas temperaturas, indicando a relação da bactéria com o estresse hídrico.

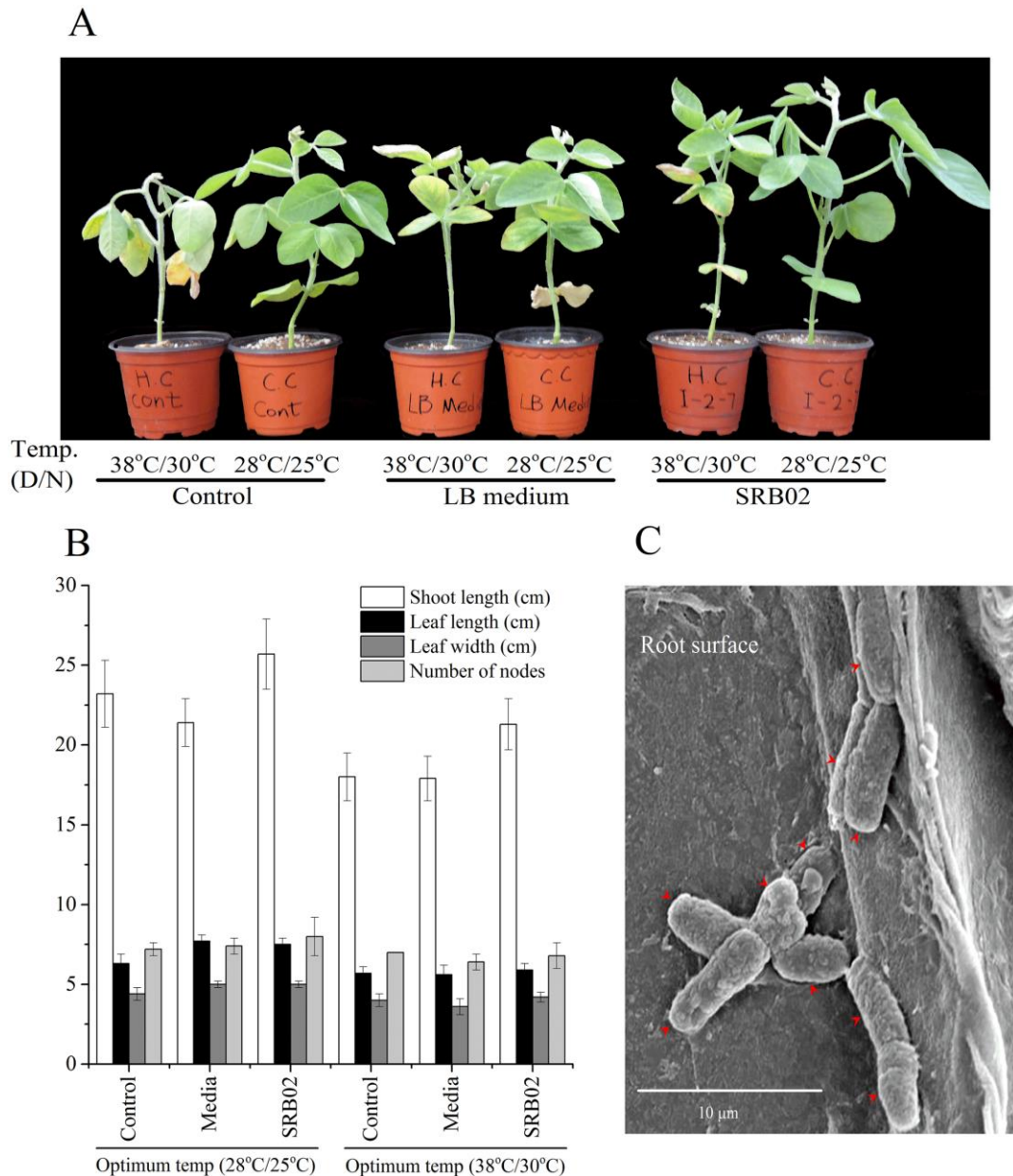


Figura 1: Plantas de soja cultivadas no solo em estágio vegetativo V3, foram inoculadas (por encharcamento do solo) com cultura bacteriana cultivada em LB ( $1 \times 10^8$  ufc/ml), ou com caldo LB esterilizado ou com água bidestilada por 3 dias e mantidas a 38°C/30°C (dia/noite) para o tratamento de estresse térmico, após um período de aclimação de 3 dias (A). O SRB02 promoveu o crescimento das plantas de soja em todos os regimes de temperatura e aumentou significativamente o comprimento da parte aérea das plantas de soja, bem como o comprimento das folhas, a largura das folhas e o número de nós (B) após a colonização bem-sucedida das raízes em 2 dias após a inoculação (C) (PARK et al., 2017)

O trabalho de Park et. al., 2017, por meio da varredura eletrônica comprovou, a simbiose da bactéria com as plantas de soja, interferindo diretamente na expressão de genes relacionados a produção e estabilidade de hormônios vegetais, “plantas tratadas com *B. aryabhattai* SRB02 produziram níveis constantes de ABA sob condições normais de temperatura”, “Esses resultados são consistentes com o



acúmulo de transcrição muito semelhante dos genes relacionados ao ABA (Ácido Abscisíco) : *GmZEP* (Glyma01g39310), *GmNCED* (Glyma05g27250) e gene responsivo a ABA *GmRD20A* (Glyma03g41030)", a Bactéria em questão produz auxina e modula sinalização em sementes de soja, "plantas de soja tratadas com SRB02 acumularam menor quantidade de AIA (Ácido Indol Ácético) em condições ótimas, e de estresse térmico, as apresentaram expressão significativamente maior dos genes repressores da transcrição Aux/IAA *IAA9* e *IAA16*". No mesmo trabalho Park et. al., 2017, descobriu a regulação e a produção de GAs (Ácido Giberélico) em soja, em condições normais de temperatura não houve diferença significativa no acúmulo do hormônio, mas em condições de alta temperatura foram registradas quantidades maiores de GA4, GA7 e GA12; em relação ao hormônio citocinina as plantas inoculadas em condições normais ocorreu uma redução rápida e significativa dos níveis do hormônio após 12 horas, sendo potencializado pelo acúmulo de transcrito maior dos genes de citocinina-desidrogenase *GmCKX04* e *GmCKX07*, em condições de estresse térmico também se teve uma diminuição nos níveis de citocinina relacionado a um aumento na expressão de *GmCKX04* (B2) e *GmCKX07*(B3) genes.

Entende-se que a bactéria *B. aryabhatai*, com sua interação simbiótica com as raízes das plantas tem um grande potencial na regulação hormonal e fisiológica da soja toda em si não apenas na região da rizosfera, sendo precursora e reguladora dos principais hormônios vegetais e também e compostos secundários.

## **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 Local e Material experimental**

A pesquisa foi desenvolvida na Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), campus Dois Vizinhos, região Sudoeste do estado do Paraná, latitude: 25°44' 5" Sul, longitude: 53° 3' 31" Oeste, altitude de 520 m sobre o nível do mar.

Foram desenvolvidos dois experimentos com o objetivo de avaliar o potencial de *Bacillus aryabhatai* no tratamento de sementes de soja sobre os parâmetros fisiológicos das sementes sobre condições de estresse hídrico. As sementes utilizadas

nos experimentos foram da cultivar BRASMAX ZEUS IPRO, sem o uso de tratamento químico.

Para os dois experimentos a inoculação das sementes com *B. aryabhatai* foi feita na proporção de 4 mL/kg de semente. Utilizando o inoculante líquido da Ballagro HOBER *Aris*, com CEPA CMAA 1363.

## 4.2 Procedimento

### 4.2.1 Teste em vaso

No experimento em vaso foi testado o potencial do *Bacillus aryabhatai* em condições de estresse hídrico. Sendo avaliado dois fatores, sementes tratadas *Bacillus aryabhatai* (com e sem) e estresse hídrico (com e sem). O experimento foi realizado no Laboratório de Controle Biológico II, em vasos de 5 L, o solo utilizado foi o solo predominante da fazenda do campus, sendo Latossolo Vermelho Distrófico e uma camada de 1,0 cm de substrato comercial.

O experimento se iniciou no dia 14 de março de 2023, assim foi separado 40 sementes de BRASMAX ZEUS IPRO para a inoculação, com peso de 8,46g, a quantidade de produto a base de *B. aryabhatai* foi de 1,0 mL. Após a inoculação as sementes ficaram em sombra por cerca de 5 minutos, em seguida foi se efetuado a semeadura. Os vasos foram acondicionados em ambiente aberto, protegidos da chuva, no laboratório de controle biológico II.

Figura 2: soja em estágio VC, A) vaso com 4 plantas; B) vasos com 2 plantas

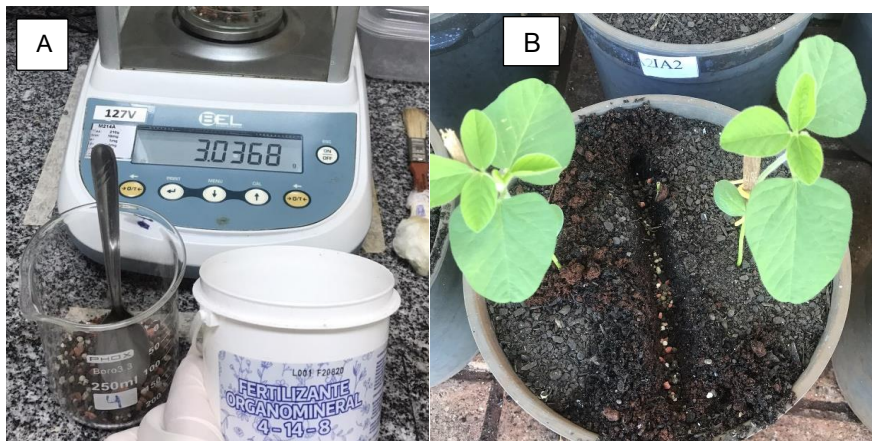


Fonte: autor, 2023

Após uma semana observou-se que todas as sementes haviam emergido, cada vaso continha (4 plantas imagem A), onde foram retiradas 2 plantas, mantendo apenas 2 plantas em cada vaso (imagem B).

Após 13 dias (27/03), avaliou-se altura e largura do dossel. Com auxílio de uma régua, para a altura foi medido desde a região do colo do caule até a região apical, e para o dossel foi medida das extremidades das folhas maduras. Avaliou-se um padrão de desenvolvimento para todos os vasos, para a altura uma média geral dos vasos foi de 15 cm, para o dossel teve uma média de 12,5cm de largura (ponta de uma folha até a outra ponta da folha). Também foi aplicado 3g de fertilizante por vaso com formulação 4-14-8, colocado entre plantas com aproximadamente 3 cm de profundidade.

**Figura 3: Adubação com NPK; A) Peso de 3g; B) sulco com 3 cm profundidade**



Fonte: autor, 2023

As plantas receberam rega conforme a necessidade, porém era feito a adição de água pelo menos uma vez na semana.

17 dias (31/03) foi aplicado Approach Power,<sup>®</sup> sobre os vasos, para controlar Olho de Rã (*Cercospora sojina*), uma doença foliar. Mas em questão da baixa umidade ocorreu fitotoxidade nas plantas, atrasando assim o desenvolvimento das plantas por alguns dias. A fitotoxidade foi geral, atingindo todas as unidades experimentais (imagem 5).

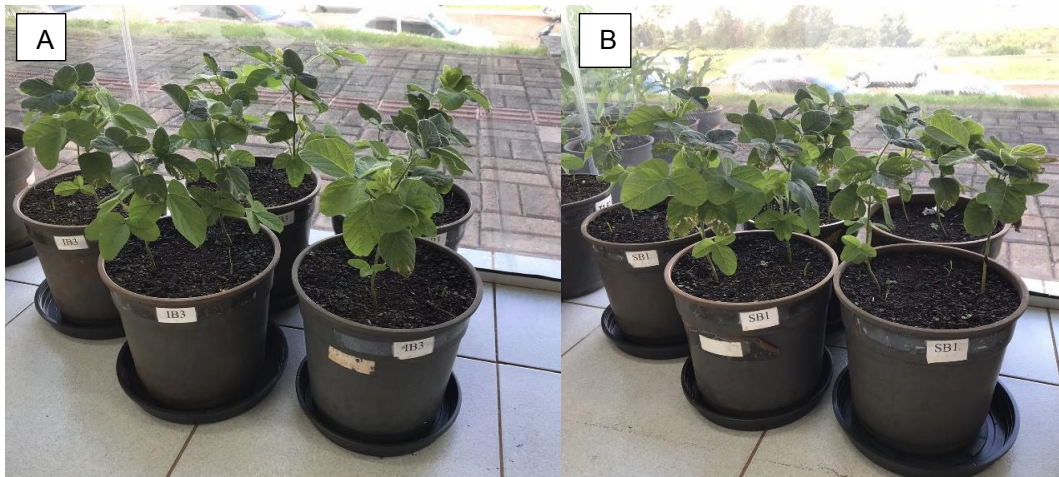
**Figura 5: Fitotoxidade nas Folhas,**



Fonte: autor, 2023

44 dias (27/04) após a semeadura os vasos foram colocados dentro do laboratório, pois estava ocorrendo dias chuvosos e com baixas temperaturas (Figura 6).

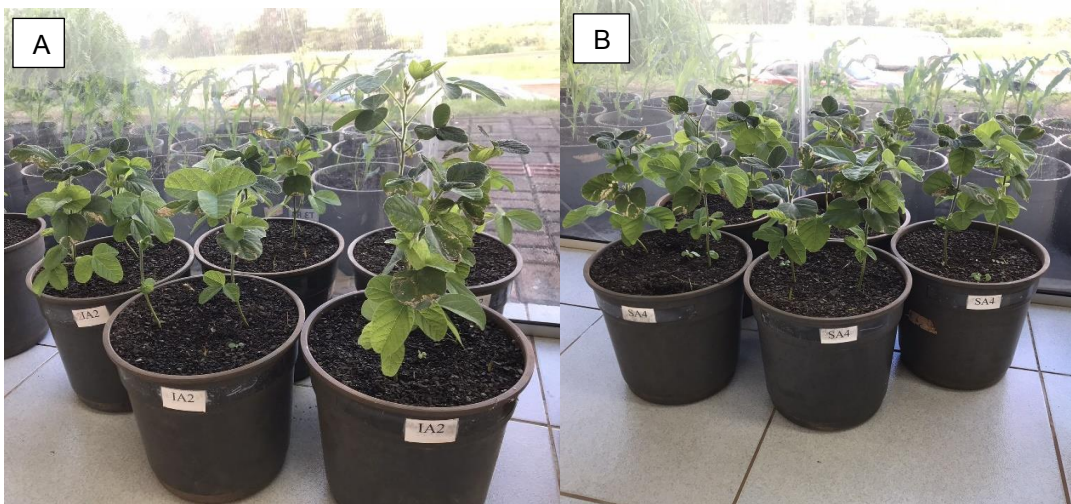
**Figura 6: Lab. Controle Biológico II; A) Tratamento IB; B) Tratamento SB**



Fonte: autor,2023



**Figura 7: Lab. Controle Biológico II; A) Tratamento IA; B) Tratamento SA**



Fonte: autor,2023

46 dias (29/04) após a semeadura, se efetuou uma rega em todos os vasos, simulando uma chuva. E também iniciando o déficit hídrico nos tratamentos IA e SA. O tratamento testemunha (SB) e o IB receberam rega uma a duas vezes na semana conforme era a necessidade. Na região Sudoeste do Paraná a soja é plantada dos meses setembro a dezembro, porém o plantio se concentra nos meses de outubro a novembro. No mês de dezembro geralmente ocorre pouca chuva para a soja que está no campo, por esse motivo o fator limitante de água iniciou 46 dias após a semeadura (cerca de 1 mês e meio).

11 dias (10/05), após o início do tratamento com ausência de rega, as plantas estavam em ótimas condições, nenhum sintoma de murcha (Figura 8 e 9).

**Figura 8: Lab. Controle Biológico II; A) Tratamento IB; B) Tratamento SB**



Fonte: autor,2023

**Figura 9: Lab. Controle Biológico II; A) Tratamento IA; B) Tratamento SA**



Fonte: autor,2023

Após 16 dias (15/05), de ausência de rega, o tratamento SA (sem inoculação, com déficit hídrico), começou a apresentar sintoma de murcha (figura 10). Ocorreu um ataque de lagarta do cartucho (*S. cosmíoides*), em algumas plantas, assim ocasionou a morte da parte apical de algumas plantas. Assim foi decidido deixar apenas 1 planta por vaso. Para questão de avaliação, pois assim ficaram apenas plantas não atacadas para serem avaliadas.

**Figura 10: Lab. Controle Biológico II; A) Tratamento IA; B) Tratamento SA**



Fonte: autor,2023



As plantas por estarem em local coberto sofreram ataque de Oídio (*Microsphaera diffusa*), porém não causou diferença no desenvolvimento das plantas, não necessitando de controle.

23 dias (22/05) com o fator déficit hídrico, realizou-se uma rega geral em todos os tratamentos, simulando uma chuva para os tratamentos com déficit hídrico. O fim do experimento foi no dia 30 de maio, com auxílio de uma régua se fez medida de comprimento da parte aérea e radicular.

A terra dos vasos foi cuidadosamente tirada do balde, com um sistema de girar o balde inclinado mais ou menos 10° para que não houvesse perda de raízes na retirada do solo. Posteriormente o sistema radicular foi lavado com auxílio de uma mangueira.

**Figura 11: sistema radicular depois de lavado; A) Trat. IB; B) Trat. IA**



Fonte: autor, 2023

**Figura 12: sistema radicular depois de lavado; A) Trat. SA; B) Trat. SB**



Fonte: autor, 2023

Em seguida o material foi acondicionado em papel kraft® e levados até uma estufa de ventilação forçada com temperatura de 65°C durante 3 dias. Ao encontrar a massa constante as amostras foram retiradas da estufa e determinada a massa seca.

O delineamento experimental empregado foi o inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 4 x 5 (tratamento x repetições), totalizando 20 unidades experimentais. Os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade e, foi realizada análise de variância (ANOVA), com significância dos fatores e suas interações testadas pelo teste F ( $P < 0,05$ ). Se significativos, foram realizados teste de médias através de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

#### 4.2.2 Teste de Germinação

O experimento foi realizado no laboratório de análises sementes da UTFPR – Campus Dois Vizinhos, aonde cerca de 500g de sementes foram inoculadas com 1 mL *B. aryabhatai* e logo em seguida, semeadas em papel Germitest® umedecido com água destilada equivalente 2,5 vezes a sua massa, cinquenta sementes dispostas sobre camada dupla de germitest e mais uma folha acima, em seguida foi confeccionado rolos e envoltos em saco plástico com dimensões de 40 x 20 cm tendo 24 micras, para que não percam a umidade. Posteriormente foram levados para uma câmara germinadora do modelo Mangelsdorf® (figura 13), previamente regulada a 25°C com fotoperíodo de 12 horas.

Num esquema fatorial de 2x4, os tratamentos são Inoculados e não inoculados, contendo 4 repetições, totalizando 8 unidades experimentais.

**Figura 13: Germinador Modelo Mangelsdorf**



Fonte: autor, 2023



**Figura 14: Rolinhos de Papel Germitest**



**Fonte: autor, 2023**

**Imagem 15: Rolinhos no germinador**



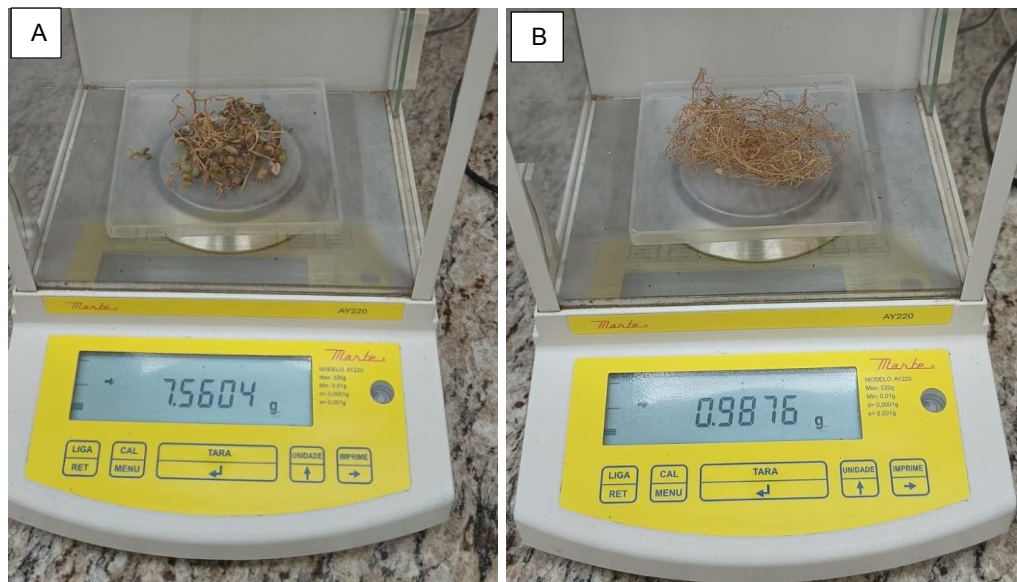
**Fonte: autor, 2023**

Os rolos (figura 14) ficaram durante 8 dias no germinador (figura 15), não houve reidratação durante o período. Após os 8 dias, foram retirados os rolinhos do germinador e efetuado a contagem de plântulas normais, plântulas anormais e sementes duras.

Não houve reidratação dos rolinhos, para simular uma maior dificuldade de arranque inicial para as plântulas recém emergidas, e testar o potencial de *B. aryabhatai*, sobre efeito de germinação.

Foram separados parte aérea da parte radicular, em seguida determinado a massa verde. Após a pesagem foram acondicionados em papel Kraft® e levados até uma estufa de ventilação forçada com temperatura de 65°C, permaneceram até atingir a massa constante, durou cerca de 3 dias, foram retiradas da estufa e determinado os valores de massa seca.

**Figura 16: Pesagem massa seca; A) Parte Aérea; B) Sistema Radicular**



Fonte: autor, 2023

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC), com 8 repetições, sendo a unidade experimental um rolo de papel germitest, em esquema fatorial 2 x 4 (tratamento x repetições), totalizando 8 unidades experimentais. Os dados obtidos foram interpretados pelo Software estatístico Rstudio®, sendo submetidos ao teste de normalidade e análise de variância (ANOVA), com significância dos fatores e suas interações testadas pelo teste F ( $P < 0,05$ ). Se significativos, foram realizados teste de médias através de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Segundo a análise da variância e o pode-se verificar que houve interação significativa entre os fatores analisados, o teste de Tukey a 5%, indicou um incremento de tecido na parte aérea, e melhor desenvolvimento de sistema radicular nos tratamentos inoculados, mostrando um grande potencial de simbiose de *B. aryabhatai*. Podemos observar os resultados das médias de incremento de tecido da parte aérea para cada tratamento, na tabela 1.

**Tabela 1: Resultado das médias da Parte Aérea, valores referentes á parte aérea das plantas sendo que a avaliação conta do colo até a região apical**

| Tratamento                       | Comprimento (cm) | Massa verde (g) | Massa seca (g) |
|----------------------------------|------------------|-----------------|----------------|
| IB- Inoculado e sem estresse     | 55,32 a          | 16,6 a          | 2,982 a        |
| SB- testemunha                   | 43,1 ab          | 15,48 ab        | 2,378 ab       |
| IA- inoculado e com estresse     | 37,1 b           | 13,84 b         | 1,964 b        |
| SA- não inoculado e com estresse | 33,4 b           | 11,54 c         | 1,702 b        |
| Média                            | 42,23            | 14,36           | 2,257          |
| CV %                             | 17,09            | 6,71            | 16,61          |

Fonte: autor, 2023

Pode-se observar na (tabela 1) acima, que o melhor tratamento foi o inoculado em sem estresse hídrico (IB), sendo que que foi o melhor tratamento nos 3 fatores. Acumulando mais água, mais tecido e tendo maior crescimento. O Tratamento IA = que é o tratamento inoculado com estresse hídrico, se saiu melhor comparativamente que o tratamento sem inoculação e com estresse - SA, provando assim uma simbiose positiva ao desenvolvimento de plantas de soja em período de carência de água.

Conforme os dados demonstrados acima, afirma de fato que os tratamentos no quais foram inoculados *Bacillus aryabhatai*, obtiveram melhores resultados em desenvolvimento da parte aérea de plantas de soja em comparação aos tratamentos onde não houve inoculação. O Tratamento IB obteve 21,8% a mais de crescimento que o tratamento SB, e o tratamento IA teve 10% a mais de crescimento da parte aérea.

NDOUG, 2019 comprovou o aumento de diâmetro de caule e altura de parte aérea em plantas de milho inoculadas com *Bacillus aryabhatai*, e sobre condições de estresse hídrico. Em condições de carência de água a bactéria nota o estresse por parte da planta e inicia a produção de fitohormônios como AIA, Ácido Abscisíco e Giberelina, que auxiliam no desenvolvimento das plantas. Essa bactéria tem a habilidade de promover a maior expressão de genes relacionados a síntese de fitohormônios de crescimento e regulação estomática (PARK et. al., 2017).

Observa-se na figura 10, sintoma de murcha para o tratamento SA(testemunha), sendo único tratamento que indicou presença de murcha. Desse modo podemos ressaltar que além dos valores estatísticos demonstrados acima, também temos aspectos visuais de comportamento fisiológico, demonstrando uma menor resistência a falta de água nas plantas não inoculadas.

A tabela 2, informa os valores das médias para a avaliação do sistema radicular.

**Tabela 2: Valores expressos referente ao sistema radicular, valores revelados pelo teste de Tukey 5%.**

| Tratamento                       | Comprimento (cm) | Massa verde (g) | Massa seca (g) |
|----------------------------------|------------------|-----------------|----------------|
| IB- Inoculado e sem estresse     | 86,8 a           | 7,46 a          | 0,634 a        |
| IA- inoculado e com estresse     | 84,2 a           | 7,2 a           | 0,566 ab       |
| SB- testemunha                   | 64,4 ab          | 5,48 ab         | 0,462 bc       |
| SA- não inoculado e com estresse | 55,4 b           | 4,48 b          | 0,392 c        |
| Média                            | 72,7             | 6,16            | 0,514          |
| CV%                              | 17,88            | 22,29           | 15,53          |

**Fonte: autor, 2023**

Podemos observar que o desempenho dos tratamentos para o sistema radicular, diferiu em relação a parte aérea. Segundo o resultado das médias, os tratamentos onde se teve inoculação (IB e IA), foram os que apresentaram melhor eficiência em crescimento e acúmulo de tecido.

O tratamento IB, foi inoculado, mas sem receber o efeito déficit hídrico, assim conforme a necessidade ele recebia água abundante, sendo o tratamento que teve o melhor desempenho perante os demais.

O tratamento IA (com inoculação e com estresse), nos mostrou uma resposta impressionante, alcançando o segundo melhor tratamento baseado na análise estatística, provando um grande potencial de *B. aryabhatai* em mitigar os efeitos de falta de água no desenvolvimento vegetal das plantas de soja. Mesmo passando por um período de 23 dias sem receber água, teve um melhor desempenho radicular que o tratamento SB, que recebeu água perante todo o período. O tratamento IB no quesito comprimento radicular teve 25,6% a mais que no tratamento SB. O tratamento IA demonstrou um percentual de 34,2% a mais que o tratamento SA.

No trabalho de Park et. al., 2017 comprovou que o uso de *B. aryabhatai* em plantas de arroz e de soja, aumentava significativamente o número de folhas e nós da parte aérea, bem como uma melhor eficiência no desenvolvimento radicular das plantas, sob o efeito de deficiência hídrica.

Foram inoculadas diferentes cepas de *B. aryabhatai* em *Xanthium italicum*, e foi observado um crescimento de 121,1% no comprimento das raízes, essa capacidade da rizobactérias em promover o crescimento vegetal, pode ser utilizada como um meio ecologicamente correto para revegetar terras áridas (LEE; KA; SONG, 2012).

No teste de germinação no tratamento T1 (com inoculação, apresentou germinação de 99,9% das sementes, pois apresentou apenas 1 semente que não germinou, o T2 = tratamento sem inoculação, obteve germinação de 100%. O número de plantas anormais no tratamento T1 = 14 plântulas representando um total de 7%. O tratamento T2= teve 9 plântulas anormais representando um total de 4,5%.

O trabalho testou a capacidade das sementes em se transformar em uma plântula viável, pois não foram reidratadas durante o período de germinação.

Foi realizado a massa verde e massa seca da parte aérea e radicular.

**Tabela 3: Dados sobre a Parte Aérea das plântulas, valores de representados pelo teste de Tukey 5%.**

| Parte Aérea   | Massa verde (g) | Massa seca (g) |
|---------------|-----------------|----------------|
| Inoculado     | 33,68 a         | 7,585 a        |
| Não Inoculado | 29,97 b         | 7,187 b        |
| Média         | 31,825          | 7,386          |
| CV%           | 4,25            | 4,67           |

Fonte: autor, 2023

Segundo a tabela 3, o tratamento com a presença de *B. aryabhatai* foi o melhor tratamento, maior crescimento e acúmulo de tecido da parte aérea, logo nas fases iniciais do desenvolvimento vegetal. O acúmulo de tecido foi cerca de 10% maior no tratamento inoculado.

**Tabela 4: Massa verde e seca (g) do sistema a radicular.**

| Sistema Radicular | Massa verde | Massa seca |
|-------------------|-------------|------------|
| Inoculado         | 9,9625      | 1,0475     |
| Não Inoculado     | 9,5475      | 1,095      |
| Média             | 9,755       | 1,0712     |
| CV%               | 9,19        | 4,63       |

Fonte: autor, 2023

A tabela 4, nos mostra que o tratamento inoculado teve maior acúmulo de água durante o período no germinador. Porém o tratamento não inoculado acumulou maior porcentagem de matéria seca. o maior percentual de matéria seca foi do tratamento não inoculado acumulando cerca de 0,01% a mais que o tratamento inoculado.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por muito tempo era desconhecido o potencial microbiano, que convive diariamente conosco.

Com a execução teste trabalho observamos que nos tratamentos inoculados com a bactéria *Bacillus aryabhattai* CEPA 1363 em plantas de soja, auxiliaram o desenvolvimento vegetal, fornecendo maior tolerância em casos de deficiência hídrica.

Sobre déficit hídrico a bactéria teve maior efeito comparada ao tratamento não inoculado. Os resultados foram positivos nos testes com e sem déficit hídrico. Os fatores acúmulo de água, maior crescimento e maior acúmulo de matéria seca, contribuem para melhor resiliência da planta sobre os estresses causados pelo clima.

Assim como os resultados acima, afirma-se que o produto Hober Aris CEPA 1363, que é indicado para a cultura do milho, também tem efetividade em plantas de soja.

## REFERÊNCIAS

- CONTI, Raphael. **Diversidade e atividade antimicrobiana de microrganismos endofíticos da planta medicinal *Borreria verticillata* (L.) GFW Meyer**. 2007. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.
- CRUZ, Thiago Angelo da. **O papel da via do indol-3-piruvato na produção de ácido indol-3-acético e promoção do crescimento vegetal pela linhagem *Bacillus* sp. RZ2MS9**. 2021. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- CRISTIANO VELOSO. **Blog Verde Agro**. Entenda os mecanismos do microrganismo *Bacillus aryabhattai* envolvidos na promoção de crescimento de plantas. [S.l.]. Blog Verde Agro, 2022. Disponível em: <https://blog.verde.ag/nutricao-de-plantas/entenda-os-mecanismos-do-microrganismo-bacillus-aryabhattai-envolvidos-na-promocao-de-crescimento-de-plantas/>. Acesso em: 29 out. 2022.
- DUCA, Daiana et al. Indole-3-acetic acid in plant–microbe interactions. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 106, n. 1, p. 85-125, 2014.
- HIRAKURI, Marcelo Hiroshi; LAZZAROTTO, Joelsio José. **O agronegócio da soja nos contextos mundial e brasileiro**. 2014.
- KAVAMURA, V. N. et al. Screening of Brazilian cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought. **Microbiological Research**, v. 168, n. 4, p. 183–191, 2013.
- LEE, S.; KA, J. O.; SONG, H. G. Growth promotion of *Xanthium italicum* by application of rhizobacterial isolates of *Bacillus aryabhattai* in microcosm soil. **Journal of Microbiology**, v. 50, n. 1, p. 45–49, 2012.
- MIGUEL, Paulo Sérgio Balbino et al. Bactérias endofíticas: Colonização, benefícios e identificação. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 8777-8791, 2021.
- MÜLLER, Indianara et al. **Indução de resistência e tratamento de sementes de soja com fosfitos de potássio**. 2015. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
- NDOUNG, Ornelle Christiane Ngo et al. **Potencial de *Bacillus aryabhattai* para o controle de *Meloidogyne incognita* na cultura do milho**. 2019.
- PARK, Y. G. et al. *Bacillus aryabhattai* SRB02 tolerates oxidative and nitrosative stress and promotes the growth of soybean by modulating the production of phytohormones. **PLoS ONE**, v. 12, n. 3, p. 1–28, 2017.
- SHIVAJI, S. et al. *Janibacter hoylei* sp. nov., *Bacillus isronensis* sp. nov. and *Bacillus aryabhattai* sp. nov., isolated from cryotubes used for collecting air from the upper atmosphere. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 59, n. 12, p. 2977–2986, 2009.
- PICCOLI, EVERTON. **A IMPORTÂNCIA DA SOJA PARA O AGRONEGÓCIO: Uma análise sob o enfoque do aumento da produção de agricultores no Município de Santa Cecília do Sul**. Orientador: Cassiano Tiago Lumi. 2018. 46 f. TCC



(Graduação) - Curso de Administração, FAT – FACULDADE E ESCOLA, TAPEJARA/RS, 2018.

SCHOFFEL, André et al. Produção de fitomassa em plantas de cobertura. **SEMINÁRIO INTERINSTITUCIONAL DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO**, v. 14, 2011.

SEDIYAMA, Tuneo. **Tecnologias de produção e usos da soja**. Londrina, PR: Mecenias, 2009.

VERNETTI, F. J.; GASTAL, M. F. C. **Descrição botânica da soja**. Pelotas: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária: Unidade de Execução de Pesquisa de Âmbito Estadual de Pelotas, 1979.