

## **Inoculação de *Bacillus* spp. em plantas de sorgo promovem tolerância a seca**

Guynemer Schelini Neto<sup>1</sup>; Ana Cláudia Pereira da Silva<sup>2</sup>; Guilherme Lopes da Silva<sup>3</sup>, Renan Ramos da Rosa<sup>4</sup>, Juliana Silva Rodrigues Cabral<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Graduando em Agronomia, Faculdade de Agronomia, Universidade de Rio Verde, Iniciação Científica – PIVIC.

<sup>2</sup>Graduada em Agronomia, Faculdade de Agronomia, Universidade de Rio Verde.

<sup>3</sup>Graduado em Agronomia, Faculdade de Agronomia, Universidade de Rio Verde.

<sup>4</sup>Mestrando em Produção Vegetal, Universidade de Rio Verde.

<sup>5</sup>Professora Doutora, Faculdade de Agronomia, Universidade de Rio Verde, juliana.cabral@unirv.edu.br

### **Reitor:**

Prof. Dr. Alberto Barella Netto

### **Pró-Reitor de Pesquisa e Inovação:**

Prof. Dr. Carlos César E. de Menezes

### **Editor Geral:**

Prof. Dra. Andrea Sayuri Silveira Dias Terada

### **Editores de Seção:**

Profa. Dra. Ana Paula Fontana

Prof. Dr. Hidelberto Matos Silva

Prof. Dr. Fábio Henrique Baia

Profa. Dra. Muriel Amaral Jacob

Prof. Dr. Matheus de Freitas Souza

Prof. Dr. Warley Augusto Pereira

### **Fomento:**

Programa PIBIC/PIVIC UniRV/CNPq 2023-2024

**Resumo:** O sorgo (*Sorghum bicolor* [L.] Moench) mesmo sendo tolerante à falta de água, pode ocorrer danos fisiológicos e bioquímicos na cultura que acarreta na redução da sua produtividade. Uma alternativa para esses danos é a utilização de bactérias do gênero *Bacillus* que proporcionam retenção de água, ajudando as plantas a manterem a homeostase das raízes na seca. Diante do exposto, objetivou-se avaliar a inoculação de *Bacillus* spp. em plantas de sorgo para promover a tolerância a seca. Sementes de híbrido de sorgo foram semeadas em vasos de 8 litros contendo solo e inoculados com espécies de *Bacillus* spp. As plantas foram mantidas em casa de vegetação e irrigadas com 60% de teor de água da capacidade de campo (CC) da germinação até o V3, onde foram submetidas ao déficit hídrico, adicionando-se, aos vasos, 20% da CC por 10 dias e sendo realizadas as análises. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, em arranjo fatorial 2 x 2 (com e sem inoculação de *Bacillus* spp. x regime hídrico), com sete repetições, sendo cada uma constituída por um vaso contendo três plantas. Os dados numéricos obtidos foram submetidos à análise de variância e às médias comparadas pelo teste Tukey (5% de probabilidade), utilizando o software SISVAR. A inoculação de *Bacillus* spp. em sorgo atribui proteção às células vegetais das plantas e maior conteúdo de água nos tecidos em períodos de seca e recuperação. A utilização de *Bacillus* spp. mitiga os efeitos de seca, no período de 10 dias em plantas de sorgo.

**Palavras-Chave:** *Sorghum bicolor*. restrição hídrica. bioprotetivo.

### ***Bacillus* spp. inoculation into sorghum plants promotes drought tolerance**

**Abstract:** Although sorghum (*Sorghum bicolor* [L.] Moench) is tolerant to water shortages, physiological and biochemical damage can occur in the crop, resulting in reduced productivity. An alternative to this damage is the use of bacteria of the *Bacillus* genus, which provide water retention, helping plants maintain root homeostasis during drought. Given the above, the aim of this study was to evaluate the inoculation of *Bacillus* spp. in sorghum plants to promote drought tolerance. Hybrid sorghum seeds were sown in 8-liter pots containing soil and inoculated with *Bacillus* spp. The plants were kept in a greenhouse and irrigated with 60% of the water content of the field capacity (FC) from germination to V3, where they were subjected to water deficit, adding 20% of the FC to the pots for 10 days and the analyses were performed. The experimental design was completely randomized, in a 2 x 2 factorial arrangement (with and without inoculation of *Bacillus* spp. x water regime), with seven replicates, each consisting of a pot containing three plants. The numerical data obtained were subjected to analysis of variance and the means compared by the Tukey test (5% probability), using the SISVAR software. The inoculation of *Bacillus* spp. in sorghum provides protection to the plant cells of the plants and greater water content in the tissues during periods of drought and recovery. The use of *Bacillus* spp. mitigates the effects of drought, in the period of 10 days in sorghum plants.

**Keywords:** *Sorghum bicolor*. Water restriction. Bioprotective.

#### **Introdução**

A cultura do sorgo (*Sorghum bicolor*) destaca-se na região Centro-Oeste do Brasil devido às suas características de se adaptar a períodos de escassez de água, a crescente demanda na produção de ração animal, produção de etanol, alimentos para consumo humano - como farinha e pipoca - e produção de adubo verde, silagem, sorgo de corte e forragem para pastejo (ABDELHALIM et al., 2019).

Porém, mesmo a cultura se mostrando ideal para enfrentar as adversidades climáticas, em razão da sua alta tolerância à seca, ela sofre alguns efeitos, como a indução a senescência prematura das folhas, o que resulta em menor produtividade devido ao desbalanço entre C/N nas folhas maduras, induzindo sua senescência (CHEN et al., 2015), além de ocorrer variações na área foliar, em sua massa seca da parte aérea, tamanho de suas panículas, massa de grãos e reduzir a produtividade e acúmulo de reservas em seus caules (OGBAGA et al., 2016; NXELE et al., 2017; MASASI et al., 2019).

Bactérias promotoras do crescimento vegetal podem diminuir os efeitos do déficit hídrico na cultura do sorgo (VIEIRA et al., 2021; MAY et al., 2019). Cepas bacterianas do gênero *Bacillus* geram biofilmes polissacarídeos na rizosfera, que retêm água e nutrientes na rizosfera para sustentar o crescimento das raízes e evitar perdas, ajudando as plantas a manterem a homeostase das raízes durante os períodos de seca (TIMMUSK et al., 2013; BRUIJN, 2015).

Outra característica importante dessas bactérias encontradas em associação com o sorgo e outras gramíneas é a produção de diversas substâncias que são responsáveis pela promoção do crescimento vegetal, principalmente fitohormônios, tais como: auxinas, giberelinas e citocininas (RUPAEDAH et al., 2014; SRINIVASAN et al., 2011).

Diante do exposto, objetivou-se avaliar a inoculação de *Bacillus* spp. em plantas de sorgo para promover a tolerância a seca.

#### **Material e Métodos**

Foi realizado o experimento na casa de vegetação da Universidade de Rio Verde – Campus Rio Verde utilizando sementes de sorgo (BRS 332) foram semeadas em vasos de 8 litros contendo solo e tendo sido crescidas sob condições naturais de luz, umidade relativa média de 54,0 % ± 2 % e temperatura média de 27,0 °C ± 2 °C, durante o experimento.

O solo foi coletado em área da Universidade de Rio Verde, solo agrícola, onde uma amostra foi retirada para análise química. Posteriormente, foi adicionado calcário Filler (100 % PRNT) no solo, que reagiu por 20 dias até elevar a saturação por base recomendada para a cultura (60%).

O inoculante foi constituído pelo produto comercial BioAsis® (*Bacillus aryabhattai*, *Bacillus circulans* e *Bacillus haynesii*), sendo realizada a aplicação em uma abertura no solo do vaso (150 mL

ha-1). Cada vaso foi pesado e teve, adicionada, a mesma quantidade de solo. O controle do conteúdo de água foi realizado através de sensores de irrigação, modelo 10 HS (METER Group, Inc. USA).

As plantas foram mantidas irrigadas com 60% de teor de água da capacidade de campo (CC) da germinação até o estágio V3, quando três folhas estavam completamente desenvolvidas. Em seguida, foram submetidas à restrição hídrica, adicionando-se aos vasos, 20% da capacidade de campo (CC) por 10 dias, sendo avaliado o potencial hídrico teor relativo de água e extravasamento de eletrólitos.

O potencial hídrico ( $\psi_m$ ) foi medido na antemã em bomba de Scholander. A determinação consistiu na coleta de folhas completamente expandidas que foram colocadas na câmara da bomba de pressão e, em seguida, foi aplicada pressão até ocorrer a exsudação pelo corte feito no pecíolo da folha, para a leitura da pressão aplicada (SCHOLANDER et al., 1965).

Para o extravasamento de eletrólitos, discos foliares foram coletados de folhas superiores completamente expandidas e lavados em água deionizada. Em seguida, foi medido o vazamento de eletrólitos através da medição da condutividade elétrica livre da solução do frasco. Após essa primeira medição, os frascos foram para estufa a 100 °C por 1 hora e, posteriormente, fez-se a segunda leitura referente à condutividade total.

O teor relativo de água (TRA) foi avaliado a partir da retirada de 15 discos da folha, com auxílio de perfurador de metal de cada repetição. Em seguida, os discos foram pesados para determinação da massa fresca (MF). Posteriormente, foram colocados em placas de petri, com 10 mL de água destilada e cobertos com papel filtro. Depois de 8 horas, os discos foram pesados para determinação da massa túrgida (MT) e, em seguida, secos em estufa à temperatura de 65 °C, até que atingissem massa constante para obtenção da massa da matéria seca (MS). O TRA foi obtido com o emprego da equação citada por Weatherley (1950):  $\phi = ((MF - MS) / (MT - MS)) * 100$ .

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, em arranjo fatorial 2 x 2 (com e sem inoculação de *Bacillus* spp. x regime hídrico), com sete repetições. Cada repetição foi constituída por um vaso contendo três plantas. Os dados numéricos obtidos foram submetidos à análise de variância e às médias comparadas pelo teste Tukey (5% de probabilidade), utilizando-se o software SISVAR (FERREIRA, 2019).

### Resultados e Discussão

Um dos maiores danos desencadeados pela seca é o quadro de desidratação dos tecidos foliares (ZHANG et al., 2019). O potencial hídrico ( $\psi_m$ ) foi avaliado durante o período de déficit hídrico, de plantas de sorgo, sob déficit hídrico, inoculadas com *Bacillus* spp. foi de - 0,03 Mpa. Enquanto isso, em plantas sem inoculação, no mesmo regime hídrico, o  $\psi_m$  obtido foi de - 0,11 Mpa (Figura 1A), demonstrando que as bactérias proporcionam melhor regulação da quantidade de água das plantas durante períodos de seca. Plantas em regime hídrico irrigado não diferiram entre si com ou sem inoculação de *Bacillus* spp. (Figura 1A).

O potencial hídrico de uma planta é uma medida que inclui vários componentes; quando há uma maior concentração de solutos na água o potencial hídrico diminui, o que pode afetar a absorção de água e o equilíbrio osmótico das células da planta. Isso é importante para entender como as plantas regulam a entrada e a saída de água para manter a sua homeostase (RASHID et al., 2021).

Em relação ao teor relativo de água (%), as plantas de sorgo, com inoculação sob déficit hídrico, tiveram maiores valores (44,7%), quando comparadas ao sorgo sem inoculação da bactéria (29,69%). Quando as plantas estavam irrigadas, não foi obtida diferença no teor relativo de água com e sem inoculação de *Bacillus* spp. (Figura 1B).

Para o teor de extravasamento de eletrólitos (%), observa-se que as plantas de sorgo sob déficit hídrico sem inoculação de *Bacillus* spp. se sobressaíram das plantas com inoculação (27,6 e 20%, respectivamente). Quando as plantas estavam sob regime hídrico, não foi obtida diferença no teor de extravasamento de eletrólitos com e sem inoculação das bactérias (Figura 1C).

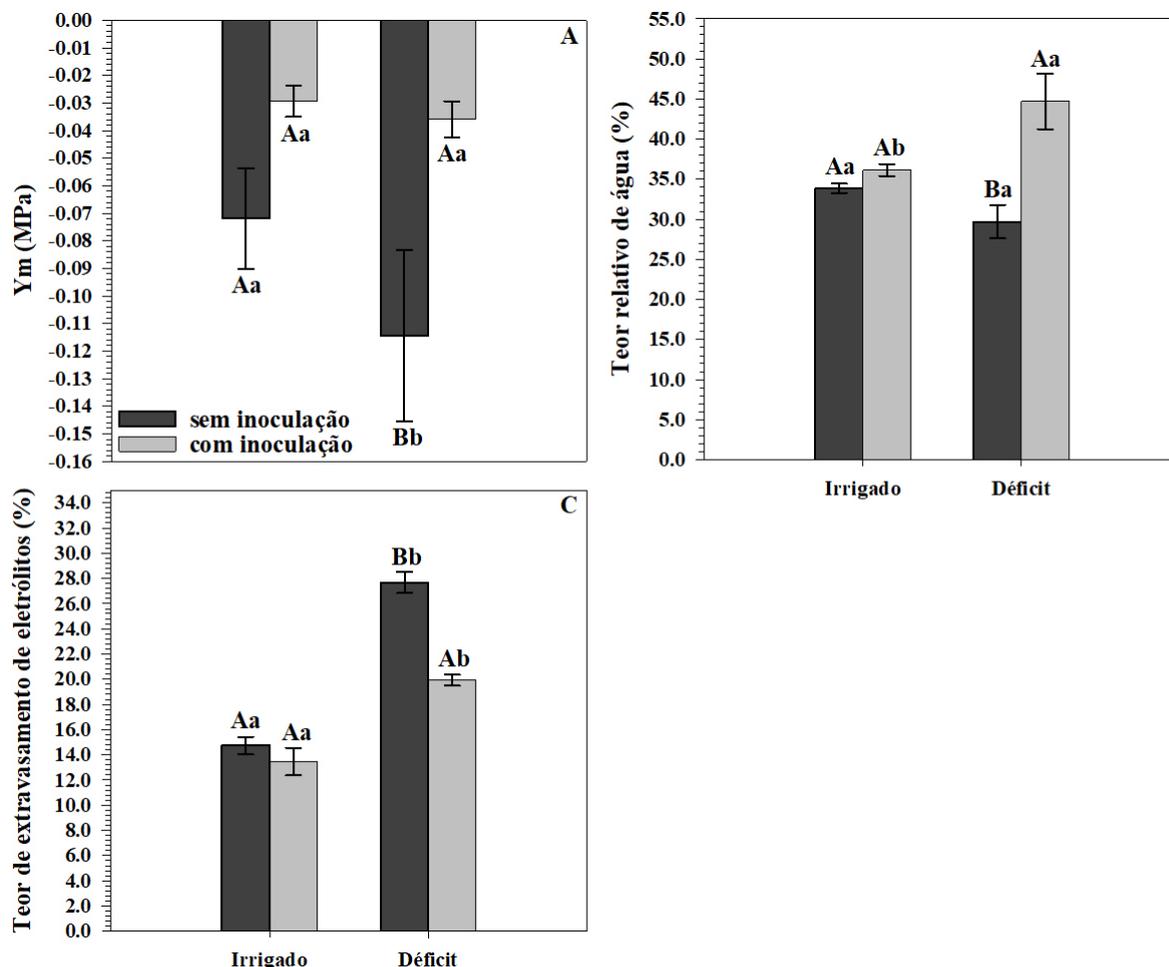


FIGURA 1 - Potencial hídrico (A), Teor relativo de água (B) e Teor de extravasamento de eletrólitos (C) de plantas de sorgo inoculadas com *Bacillus* spp. em déficit hídrico. ± Barra erro padrão da média. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, entre os tratamentos de inoculação, e minúscula entre os regimes hídricos, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Fonte: autoria própria

A inoculação com *Bacillus* spp. foi capaz de manter o grau de hidratação, mantendo um bom status hídrico dos tecidos das plantas de sorgo. Marques (2019) encontrou resultados similares no cultivo de milho. Arzanesh et al. (2011), por outro lado, obtiveram resultados diferentes em plantas de trigo sob as mesmas condições de seca.

As bactérias *Bacillus* spp. têm a capacidade de formar endósporos resistentes a vários estresses abióticos, como a seca. O crescimento radicular pode ser induzido através da síntese de auxina, giberelina e citocinina por esses microrganismos (BAÉZ et al., 2020).

Desta forma, podemos afirmar que o tratamento com microrganismos promoveu o crescimento radicular, o que aumentou a área de contato com o solo, aumentando sua capacidade de absorção de água. Estudos relatam que, durante o déficit hídrico, as plantas mantêm o  $\psi_m$  constante durante o entardecer e mantêm seu valor máximo até o período da manhã. Isso devido a variações diurnas (TSAVKELOVA et al., 2006), parâmetro observado no  $\psi_m$ , uma vez que as avaliações foram realizadas na antemãhã (Figura 1A)

O conceito de teor relativo da água, desenvolvido por Weatherley (1950-1951) em plantas, é uma medida que indica a quantidade de água presente nas células das plantas em relação à quantidade

máxima que as células podem armazenar. Isso é feito dividindo-se o peso da água presente nas células pelo peso máximo de água que as células podem conter.

Os resultados do presente trabalho são semelhantes aos encontrados por Oliveira (2017) que, ao estudar a inoculação de rizobactérias promotoras de crescimento em plantas de *Myracrodruon urundeuva* para indução à tolerância ao estresse hídrico, observou resposta positiva de *Bacillus* spp.

De acordo com Hall (2001), membranas celulares tendem a apresentar um vazamento de eletrólitos mais lento. Isso significa que as membranas mais benéficas têm menos probabilidade de permitir que íons e eletrólitos vazem através delas, o que é importante para manter a integridade e a função celular.

Entretanto Creissen et al. (1994) constataram que o elevado aumento da temperatura pode desnaturar proteínas da membrana, afetando, assim, a atividade dessas enzimas importantes nesse anteparo, conforme observado no presente trabalho.

A utilização de *Bacillus aryabhatai*, *B. haynessi* e *Bacillus circulans*, com seus diferentes mecanismos de ação em período de seca, promoveram proteção às células vegetais e maior conteúdo de água nos tecidos das plantas de sorgo, no período de dez dias de déficit hídrico, além de proporcionar melhor recuperação dos tecidos no período de reirrigação. No presente trabalho, demonstra-se que a associação desses microrganismos promotores de crescimento é uma alternativa sustentável para mitigar os efeitos da restrição hídrica nas culturas.

#### **Conclusão**

A inoculação de *Bacillus* spp. em plantas de sorgo atribui proteção às células vegetais das plantas e maior conteúdo de água nos tecidos em períodos de seca e recuperação.

Além disso, a utilização de *Bacillus* spp. proporciona a mitigação dos efeitos de seca, durante o período mínimo de 10 dias em plantas de sorgo.

#### **Agradecimentos**

Ao Programa de Iniciação Científica que chancelou a execução do projeto de pesquisa na modalidade PIVIC.

#### **Referências Bibliográficas**

- ABDELHALIM, T. S.; KAMAL, N. M.; HASSAN, A. B. Nutritional potential of wild sorghum: grain quality of Sudanese wild sorghum genotypes (*Sorghum bicolor* L. Moench). **Food Science & Nutrition**, v. 7, n. 4, p. 1529-1539, 2019.
- ARZANESH, M. H.; ALIKHANI, H. A.; KHAVAZI, K.; RAHIMIAN, H. A.; MIRANSARI, M. **Wheat (*Triticum aestivum* L.) growth enhancement by *Azospirillum* sp. under drought stress**. World Journal of Microbiology and Biotechnology, v. 27, n. 2, p. 197-205, 2011.
- BAÉZ, M. S. A.; PETRY, M. T.; CARLESSO, R.; BASSO, L. J.; ROCHA, M. R.; RODRIGUEZ, G. J. Balanço hídrico e produtividade da soja cultivada sob diferentes níveis de déficit hídrico no sul do Brasil. **Investigación Agraria**, v. 13, 2020.
- BRUIJN, F. J. D. **Biological Nitrogen Fixation**. Hoboken, New Jersey: Wiley-Blackwell, 2015.
- CHEN, D.; WANG, S.; XIONG, B.; CAO, B.; DENG, X. Carbon/nitrogen imbalance associated with drought-induced leaf senescence in *Sorghum bicolor*. **PLoS One**, v. 10, n. 8, 2015.
- CREISSEN, G. P.; BROADBENT, P.; KULAR, B.; REYNOLDS, H.; WELLBURN, A.R.; MULLINEAUX, P. M. Manipulation of glutathione-reductase in transgenic plants-implications for plants responses to environmental-stress. **Proceedings of the Royal Society of Edinburgh**. Section B – Biological Science, v. 102, p. 167-175, 1994.
- FERREIRA, D. F. SISVAR: A computer analysis system to fixed effects split plot type designs: Sisvar. **Brazilian Journal of Biometrics**, v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.
- HALL, A. E. **Heat Stress and its Impact**. 2001. Disponível em: [http://www.plantstress.com/Articles/heat\\_i/heat\\_i.htm](http://www.plantstress.com/Articles/heat_i/heat_i.htm). Acesso em: 23 out. 2023.
- MARQUES, D. M. **Déficit hídrico e doses de nitrogênio na morfofisiologia e produção de genótipos de milho inoculados por *Azospirillum brasilense***. 2019. 79 p. Tese (Doutorado em Botânica Aplicada) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2019.

- MASASI, B.; TAGHVAEIAN, S.; GOWDA, P. H.; WARREN, J.; MAREK, G. Simulating soil water content, evapotranspiration, and yield of variably irrigated grain sorghum using aquacrop. **Journal of the American Water Resources Association**, v. 55, n. 4, p. 976-993, 2019.
- MAY, A.; MOREIRA, B. R. A.; MASCARIN, G. M.; VIANA, R. S.; SANTOS, M. S.; SILVA, E. H. F. M.; RAMOS, N. P.; MELO, I. S. de. Induction of drought tolerance by inoculation of *Bacillus aryabhatai* on sugarcane seedlings. **Científica**, v. 47, n. 4, p. 400-410, 2019.
- NXELE, X.; KLEIN, A.; NDIMBA, B. K. Drought and salinity stress alters ROS accumulation, water retention, and osmolyte content in sorghum plants. **South African Journal of Botany**, v. 108, p. 261-266, 2017.
- OGBAGA, C. C.; STEPIEN, P.; DYSON, B. C.; RATTRAY, N. J. W.; ELLIS, D. I.; GOODACRE, R.; JOHNSON, G. N. Biochemical analyses of sorghum varieties differential responses to drought. **PLoS One**, v. 11, n. 5, e0154423, 2016.
- OLIVEIRA, D. M. **Inoculação com rizobactéria promotora de crescimento de plantas em *Myracrodruon urundeuva* (Allemao) confere maior tolerância ao estresse hídrico**. 2017. 89 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Serra Talhada.
- RASHID, U; YASMIN, H; HASSAN, M. N; NAZ, R; NOSHEEN, A; SAJJAD, M; ILYAS, N; KEYANI, R; JABEEN, Z; MUMTAZ, S; ALIEMENI, M; AHMAD, P. Drought-tolerant *Bacillus megaterium* isolated from semi-arid conditions induces systemic tolerance of wheat under drought conditions. **Plant Cell Reports**, v. 22, p.1-21, 2021.
- RUPAEDAH, B.; ANAS, I.; SANTOSA, D.A.; SUMARYONO, W.; BUDI, S.W. Screening and Characterization of Rhizobacteria for Enhancing Growth and Chlorophyll Content of Sweet Sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). **J Issaas**, v.20, p.86-97, 2014.
- SCHOLANDER, P. F.; BRADSTREET, E. D.; HEMMINGSEN, E. A.; HAMMEL, H. T. Sap Pressure in Vascular Plants: Negative hydrostatic pressure can be measured in plants. **Science**, v. 148, p. 339-46, 1965.
- SRINIVASAN, R.; ALAGAWADI, A.R.; YANDIGERI, M.S.; MEENA, K.K.; SAXENA, A.K. Characterization of phosphate-solubilizing microorganisms from salt-affected soils of India and their effect on growth of sorghum plants [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. **Annals of Microbiology**, v. 62, p. 93-105, 2011.
- TIMMUSK, S.; TIMMUSK, K.; BEHERS, L. Rhizobacterial Plant Drought Stress Tolerance Enhancement: Towards Sustainable Water Resource Management and Food Security. **Journal of Food Security**, v. 1, n. 1, p. 6-9, 2013.
- TSAVKELOVA, E. A; KLIMOVA, S. YU; CHERDYNTSEVA, T. A; NETRUSOV, A. I. Microbial Producers of Plant Growth Stimulators and Their Practical Use: A Review. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v.42, p.117-126. 2006.
- VIEIRA, M. L.; CUNHA, A. J.; SOUZA, D. S. Organomineral associado a *Bacillus aryabhatai* como atenuador do déficit hídrico em mudas de café. **Revista Educação, Saúde e Meio Ambiente**. v. 1, n. 9, p. 319-328, 2021.
- WEATHERLEY, P. E. Studies in the water relation of cotton plant. In: The field measurement of water deficit in leaves. **New Phytology**, v. 49, n. 1, 81-97, 1950.
- ZHANG, W. J; XIE, Z; ZHANG, X; LANG, D; ZHANG, X. Growth-promoting bacteria alleviates drought stress of *G. uralensis* through improving photosynthesis characteristics and water status. **Journal of Plant Interactions**, v.14, p.580-589, 2019.