



Desenvolvimento de cultivares de soja após inoculação de estirpes de *Bacillus subtilis*

Letícia Carolina COSTA^{1*}, Renan Francisco Rimoldi TAVANTI²,
Tauan Rimoldi TAVANTI³, Cassiano Spaziani PEREIRA¹

¹Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais, Universidade Federal de Mato Grosso, Sinop, MT, Brasil.

²Departamento de Fitossanidade, Engenharia Rural e Solos, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, SP, Brasil.

³Departamento de Fitotecnia, Engenharia de Alimentos e Sócio economia, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, SP, Brasil.

*E-mail: leticiaaccosta@hotmail.com.br

Recebido em fevereiro/2018; Aceito em janeiro/2019.

RESUMO: O uso de bactérias diazotróficas na agricultura pode promover incrementos de produtividade das culturas. Este estudo teve por objetivo avaliar o efeito de diferentes concentrações de inoculantes a base de rizobactérias *Bacillus subtilis* no desenvolvimento inicial da cultura soja. Foram conduzidos dois experimentos com variedades comerciais de soja, M8210 e TMG132, avaliadas aos 15, 30 e 45 dias após semeadura (DAS). Em cada experimento, aplicou-se dois produtos no tratamento de sementes, um contendo a bactéria *Bacillus subtilis* estirpe pant001 nas concentrações de 0, 2, 4, 6 e 8 mL kg⁻¹, e o tratamento adicional com um fungicida protetor comercial, que também possui *Bacillus subtilis* estirpe QST713 na sua formulação, na dose recomendada de 2 mL kg⁻¹. Avaliou-se o índice Spad de clorofila de folhas do terço superior, médio e inferior do dossel aos 15, 30 e 45 DAS, a altura de plantas, fitomassa fresca e seca da parte aérea das plantas, fitomassa fresca e seca de raízes e volume de raízes aos 30 e 45 DAS. Os resultados indicaram aumento do índice Spad de clorofila das folhas de ambas as variedades com aumento das doses de *Bacillus subtilis* pant001, porém a inoculação não surtiu efeito sobre os atributos da parte aérea das plantas. Na variedade TMG132, houve incrementos na massa fresca de parte aérea após os 30 DAS e volume de raízes aos 45 DAS.

Palavras-chave: *Glycine max* L., rizobactérias, tratamento de sementes.

Development of soybean cultivars after inoculation with strains of *Bacillus subtilis*

ABSTRACT: Diazotrophic bacteria in agriculture can promote increases in crop productivity. This study aimed to evaluate the effect of different concentrations of *Bacillus subtilis* rhizobacteria inoculants on the initial development of two soybean cultivars. Two experiments were conducted with commercial soybean varieties, M8210 and TMG132, evaluated at 15, 30 and 45 days after sowing (DAS). In each experiment, two products were applied in the treatment of seeds, a *Bacillus subtilis* strain pant001 at concentrations of 0, 2, 4, 6 and 8 mL kg⁻¹, and the additional treatment with a commercial protective fungicide, which also has *Bacillus subtilis* strain QST713 in its formulation at the recommended dose of 2 mL kg⁻¹. The leaf chlorophyll content index of the upper, middle and lower canopy was evaluated at 15, 30 and 45 DAS, height of plants, fresh and dry mass of the aerial part of the plants, fresh and dry root mass and volume roots at 30 and 45 DAS. The results indicated an increase in the Spad index of leaf chlorophyll of both varieties with increasing doses of *Bacillus subtilis* pant001, but the inoculation had no effect on the attributes of the aerial part of the plants. In the TMG132 variety, there was an increase in fresh shoot mass after 30 DAS and root volume at 45 DAS.

Keywords: *Glycine max* L., rhizobacteria, seed treatment.

1. INTRODUÇÃO

Com o aumento da demanda mundial por alimentos, alternativas que venham a contribuir com o incremento da produtividade das culturas, são consideradas ações fundamentais na proteção do meio ambiente. Neste sentido, pesquisadores sugerem que a “solução chave” para tais problemas seja a intensificação da produção agrícola em áreas já antropizadas (LAL, 2009).

Nos últimos anos tem se observado o emprego de novas tecnologias de manejo como, sistemas conservacionistas (sistema plantio direto, cultivo mínimo, integração lavoura-pecuária-floresta, agricultura sintrópica, rotação de culturas, etc.), melhoramento genético de plantas, bioestimulantes, agricultura de precisão, produção de sementes com qualidade e utilização de microrganismos endofíticos benéficos (probióticos) para controle de pragas e doenças.

A aplicação de microrganismos na agricultura tem como principal objetivo promover aumento na produtividade das culturas (PROVENZA; VILLALBA, 2010). Dentre os microrganismos utilizados, os do gênero *Bacillus spp.* são classificados como rizobactérias, comumente utilizados no controle biológico de plantas (KUHN; PASCHOLATI, 2010), são habitantes naturais do solo e podem favorecer a produção de antibióticos (ARAÚJO; MARCHESI, 2009). A maioria dos trabalhos já publicados sobre o tema relataram que, a influência das rizobactérias no crescimento das plantas, é um fenômeno ao efeito protetor contra fitopatógenos secundários do solo (PAVAN et al., 2011).

Outros estudos atribuem tal promoção de crescimento à melhoria na absorção de nutrientes pelas raízes, resultando em aumento da concentração de nutrientes translocados para as folhas (ARAÚJO; MARCHESI, 2008). Araújo; Hungria

(1999), em um estudo realizado na Embrapa Soja, Londrina-PR, observaram em campo que após inoculação de sementes de soja com *Bacillus subtilis*, houve aumento do número de nódulos.

Tem-se verificado que as rizobactérias possuem potencial para substituir produtos químicos e favorecer a preservação do agroecossistema (JARDIN, 2015), contudo, existe ausência de dados que descrevem o comportamento das rizobactérias em regiões de Cerrado e do Centro-Oeste brasileiro. Acredita-se que a inoculação de rizobactérias, por ocasião do tratamento de sementes, possa favorecer o desenvolvimento inicial da soja, tornando-a mais vigorosa.

Diante do exposto, este estudo teve por objetivo avaliar o efeito de diferentes concentrações de inoculantes a base de rizobactérias *Bacillus subtilis* no desenvolvimento inicial da cultura da soja.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Local do estudo

O experimento foi conduzido em casa de vegetação na Universidade Federal de Mato Grosso, localizada no município de Sinop, Mato Grosso, nas coordenadas 11° 50' 53" S e 55° 38' 57" O, com 380 m de altitude. Na casa de vegetação, a temperatura foi regulada para permanecer a 30°C e a umidade relativa a 70%.

Foram utilizados vasos de 8 litros, preenchidos com solo classificado como Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico, com características granulométricas e fertilidade na camada de 0-0,20 m descritas na Tabela 1.

Após o preenchimento dos vasos, realizou-se a aplicação de calcário dolomítico na dose de 2,26 Mg ha⁻¹, para elevar a saturação por bases à 70%.

Tabela 1. Análise granulométrica e fertilidade do Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico na camada de 0-0,20 m de profundidade.

Table 1. Análise granulométrica e fertilidade do Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico na camada de 0-0,20 m de profundidade.

Profundidade	pH	P*	K*	Ca	Mg	H+Al	T	V	MO	Areia	Silte	Argila
---- cm ----	- CaCl ₂ -	---- mg dm ⁻³ ----	----- cmolc dm ⁻³ -----	-----	-----	-----	-----	%	-----	----- g kg ⁻¹ -----	-----	-----
0,00-0,20	4,47	1,09	10	0,39	0,07	2,80	3,28	14,89	21,84	510	179	311

* P e K determinados por extrator Melich¹; granulometria pelo método da pipeta (Embrapa, 2011).

Foram utilizadas duas variedades de soja (*Glycine max* L.), uma de ciclo precoce (TMG132 RR > 115 dias) e uma super-precoce (M8210 IPRO < 115 dias). As sementes foram devidamente tratadas com um produto a base de Fipronil (25 g L⁻¹), Piraclostrobina (225 g L⁻¹) e Metil Tiofanato (225 g L⁻¹), na dose de 2 ml kg⁻¹, para prevenção de ataque de pragas e fungos de sementes no período inicial de desenvolvimento. Posteriormente realizou-se a inoculação com *Bradyrhizobium japonicum*, na dose de 2 mL kg⁻¹ com concentração de 6,0×10⁹ UFC g⁻¹ e Turfa na dose de 8 g kg⁻¹. Na adubação de base utilizou-se 300 kg ha⁻¹ do fertilizante 00-18-18, e em cobertura 60 kg ha⁻¹ de KCl, aos 30 dias após semeadura (DAS).

2.2. Delineamento experimental, tratamentos e variáveis analisadas

O experimento foi conduzido no delineamento de blocos casualizados (DBC) com 4 repetições, sendo 6 tratamentos constituídos por doses de um produto a base de *Bacillus subtilis* (estirpe pant001): 0, 2, 4, 6, 8 mL kg⁻¹, mais um fungicida protetor Serenade®, que também possui *Bacillus subtilis* (estirpe QST713) na sua formulação, na dose recomendada de 2 mL kg⁻¹. A unidade experimental foi composta por um vaso contendo uma planta.

Avaliou-se o índice de clorofilas Spad de 3 folhas do terço inferior (CLFI), médio (CLFM) e superior (CLFS) do dossel, aos 15, 30 e 45 DAS, com o auxílio de um clorofilômetro clorofiLOG CFL1030 Falker®.

Coletaram-se as plantas dos vasos de 30 DAS e avaliou-se a altura de plantas (ALT) e fitomassa fresca da parte aérea (FF). Logo após, as amostras foram secas em estufa de circulação forçada de ar à temperatura média de 65 °C até atingir a massa constante, obtendo-se a fitomassa seca da parte aérea (FS) com os valores em g planta⁻¹.

As raízes das plantas foram retiradas dos vasos juntamente com o solo e através de um processo de lavagem em água corrente foram separadas com o auxílio de uma peneira de 2 mm. Posteriormente, foram secas ao ar e obteve-se a fitomassa fresca de raiz (FFR) e volume de raízes (VR). O VR foi determinado por meio do método de Arquimedes, na qual faz-

se a imersão das raízes em um recipiente volumétrico contendo água. O volume de água deslocado corresponde ao VR em cm³ (BOUMA et al., 2000). Posteriormente, as raízes foram secas em estufa de circulação forçada de ar à temperatura média de 65 °C até atingir massa constante. Após, a secagem, foi determinada a fitomassa seca de raiz (FSR), com os valores expressos em g planta⁻¹.

Repetiram-se as determinações dos atributos morfofisiológicos das plantas aos 45 DAS. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk (1965) à 0,05 de probabilidade e, caso constatadas presenças de outliers, foram removidos aqueles com valores 2.5 vezes maiores que o intervalo interquartil, respeitando-se o limite de 10% do total de observações de cada tratamento.

Posteriormente, os dados normais foram submetidos a análise de variância pelo teste F (p<0,05) e, quando significativos, realizou-se análise de regressão polinomial para os tratamentos contendo a estirpe pant001, adotando-se como critérios de seleção de modelos o maior coeficiente de determinação (R²), menor soma de quadrados dos resíduos e a significância dos parâmetros da equação (p < 0,05). Comparou-se também as médias entre os tratamentos 2 e 6, que correspondem as doses de 2 mL kg⁻¹ das estirpes pant001 e QSR713, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (p < 0,05). Por fim, procedeu-se a análise de correlação de Pearson (p < 0,05), para verificar as variáveis que se correlacionaram diretamente frente aos tratamentos propostos.

3. RESULTADOS

3.1. Índice de clorofila nas folhas

Houve efeito significativo das concentrações do produto a base de *Bacillus subtilis* pant001 sobre os índices Spad de clorofila nas folhas do terço superior (CLFS), médio (CLFM) e inferior (CLFI) do dossel de ambas cultivares testadas, aos 15, 30 e 45 DAS (Figura 1). O índice Spad de CLFS aumentou conforme aplicação das doses do produto, seguindo comportamento linear aos 15 e 30 DAS. Aos 45 DAS não houve diferença significativa para a cultivar TMG132 (Figura 1).

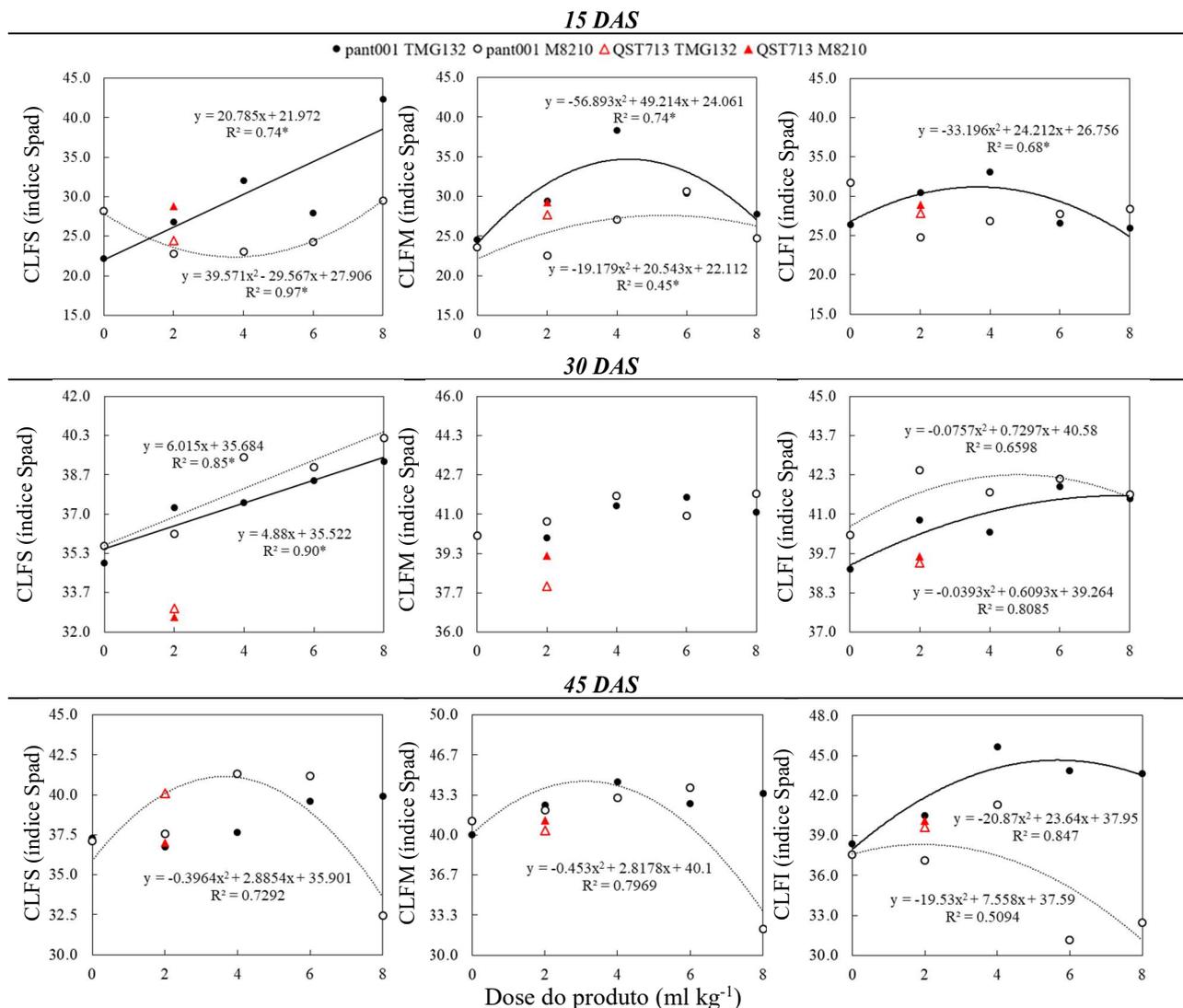


Figura 1. Índices Spad de clorofila nas folhas do terço superior (CLFS), médio (CLFM) e inferior (CLFI) do dossel da soja aos 15, 30 e 45 DAS em função das concentrações de *Bacillus subtilis* pant001 e QST713.

Figure 1. Spad indexes of chlorophyll in the leaves of the upper third (CLFS), medium (CLFM) and lower (CLFI) of the soybean canopy at 15, 30 and 45 DAS as a function of the concentrations of *Bacillus subtilis* pant001 and QST713.

Para a cultivar M8210, as maiores dosagens testadas, 6 e 8 mL kg⁻¹, proporcionaram aumento do índice Spad de CLFS na ordem de valores de 25 a 30, aos 15 DAS. Todavia, aos 45 DAS estas dosagens não indicam ser as melhores, em virtude dos resultados obtidos para dosagem de 4 mL kg⁻¹ (índice Spad ~41 a 42).

Quanto ao índice Spad de CLFM, observou-se a maior resposta da cultivar TMG132 quando foi submetida ao tratamento de sementes com inoculação de 4 mL kg⁻¹ do produto. Aos 30 DAS, não houve diferença significativa entre as dosagens testadas em ambas cultivares. Já aos 45 DAS, a cultivar M8210 apresentou comportamento quadrático do índice Spad indicando queda das leituras com dosagens acima de 3 mL kg⁻¹.

Observou-se também comportamento quadrático nas leituras do índice Spad de CLFI em todas as épocas avaliadas de ambas cultivares testadas. Aos 15 DAS a cultivar TMG132 responde melhor à dosagem de 4 mL kg⁻¹, enquanto que aos 30 e 45 DAS, período de pleno desenvolvimento vegetativo da soja, as dosagens de 6 e 8 kg⁻¹ mostraram-se mais promissoras

com leituras Spad entre 41 e 54. A cultivar M8210, apresentou a maior leitura do índice Spad CLFI nas dosagens de 6 e 2 mL kg⁻¹ aos 30 e 45 DAS, respectivamente, com amplitude de valores entre 37,5 e 42,0.

Na Tabela 2, estão apresentados os resultados obtidos no teste de médias de CLFS, CLFM e CLFI conforme as estirpes de *Bacillus subtilis* testadas (pant001 e QST713) nas doses únicas de 2 mL kg⁻¹. Os resultados mostram que houve diferença significativa do índice de clorofila em todas as épocas avaliadas (Tabela 2). O produto a base de *Bacillus subtilis* estirpe pant001 na dosagem de 2 mL kg⁻¹ mostrou-se a melhor opção frente as leituras do índice Spad de CLFS, CLFM e CLFI da cultivar TMG132 aos 15 e 30 DAS, enquanto que aos 45 DAS, não se observou diferença significativa.

Quanto a cultivar M8210 a estirpe QST713 de *Bacillus subtilis* do produto comercial na dose recomendada de 2 mL kg⁻¹ mostrou-se a melhor opção frente as leituras do índice Spad de CLFS, CLFM e CLFI aos 15 e 45 DAS. Aos 30 DAS as estirpes testadas apresentam o mesmo comportamento

frente as leituras de CLFM, na ordem de valores de 40,69 e 39,24.

Tabela 2. Valores médios de índice Spad de CLFS, CLFM e CLFI após aplicação de produtos a base de *Bacillus subtilis* na dose de 2 mL kg⁻¹.

Table 2. Mean values of Spad index of CLFS, CLFM and CLFI after application of products based on *Bacillus subtilis* at the dose of 2 mL kg⁻¹.

Variáveis*	<i>Bacillus subtilis</i>	Dias após semeadura		
		15	30	45
TMG132				
CLFS	pant001	26,84a	37,28a	36,76a
	QST713	24,42b	33,00b	37,04a
CLFM	pant001	29,42a	39,99a	42,48a
	QST713	27,68a	37,96b	40,38a
CLFI	pant001	30,44a	40,80a	40,48a
	QST713	27,81b	39,35b	39,60a
M8210				
CLFS	pant001	22,83b	36,15a	37,55b
	QST713	28,85a	32,64b	40,10a
CLFM	pant001	22,53b	40,69a	42,07a
	QST713	29,25a	39,24a	41,22a
CLFI	pant001	24,79b	42,50a	37,13b
	QST713	28,93a	39,57a	40,10a

* médias seguidas de mesma letra na coluna entre produtos não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.2. Avaliações da parte aérea das plantas

Quanto aos atributos da parte aérea das plantas, a fitomassa fresca não apresentou diferença significativa entre as dosagens testadas para as cultivares M8210 aos 30 DAS e TMG132 aos 45 DAS (Figura 2). Ainda aos 45 DAS, a cultivar TMG132 não responde as dosagens quanto a fitomassa seca e altura de plantas. A cultivar M8210 aos 30 DAS apresentou máxima fitomassa seca de parte aérea (2,85 g) e altura de plantas (50,37 cm) nas dosagens de 0,6 e 0,8 mL kg⁻¹, respectivamente. Já para TMG132, a melhor dosagem foi de 0,4 mL kg⁻¹ que proporcionou incrementos de 4,7 g na fitomassa fresca e 2 g na fitomassa seca da parte aérea das plantas em relação a testemunha.

A máxima altura de plantas obtida para esta mesma cultivar (TMG132) na mesma época de avaliação (30 DAS) de 50,7 cm na dosagem de 0,8 mL kg⁻¹ do produto.

Aos 45 DAS, a cultivar M8210 apresenta máximo acúmulo de fitomassa fresca e altura de plantas com as respectivas dosagens de 0,2 e 0,8 mL kg⁻¹. Quanto aos resultados obtidos no teste de médias, observou-se que a estirpe pant001 proporcionou incrementos na fitomassa fresca da soja cultivar TMG132 aos 30 e 45 DAS. A fitomassa seca e a altura de plantas não apresentaram diferença significativa (Tabela 3).

Na cultivar M8210 a estirpe QST713 proporciona maior acúmulo de fitomassa fresca e altura de plantas aos 45 DAS, quando comparada a estirpe pant001. Contudo, estas não diferem quanto ao acúmulo de fitomassa seca.

3.3. Avaliações das raízes das plantas

Quanto aos atributos da parte aérea das plantas, a fitomassa fresca não apresentou diferença significativa entre as dosagens testadas para as cultivares M8210 aos 30 DAS e TMG132 aos 45 DAS (Figura 2). Ainda aos 45 DAS, a cultivar TMG132 não responde as dosagens quanto a fitomassa seca e altura de plantas.

Tabela 3. Valores médios de fitomassa fresca e seca da parte aérea e altura de plantas após aplicação de produtos a base de *Bacillus subtilis* na dose de 2 mL kg⁻¹.

Table 3. Mean values of fresh and dry phytomass of shoot and height of plants after application of products based on *Bacillus subtilis* at the dose of 2 mL kg⁻¹.

Variáveis*	<i>Bacillus subtilis</i>	Dias após semeadura	
		30	45
TMG132			
Fitomassa fresca	pant001	13,89a	26,83a
	QST713	12,52b	23,43b
Fitomassa seca	pant001	2,85a	6,28a
	QST713	2,48a	6,38a
Altura de plantas	pant001	44,75a	88,50a
	QST713	44,75a	91,50a
M8210			
Fitomassa fresca	pant001	14,73a	21,38b
	QST713	14,18a	24,63a
Fitomassa seca	pant001	2,65a	6,07a
	QST713	2,64a	6,14a
Altura de plantas	pant001	46,37a	71,00b
	QST713	43,12b	92,12a

* médias seguidas de mesma letra na coluna entre produtos não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para a cultivar M8210, a maior dose testada, 8 mL kg⁻¹, proporcionou incremento no volume de raízes na ordem de 12,3 a 15,0 cm³, aos 30 e 45 DAS. Observou-se o mesmo comportamento no volume de raízes da cultivar TMG132 aos 30 DAS, sendo a dose de 6 mL kg⁻¹ a mais indicada, na qual a soja apresenta aproximadamente 11 cm³.

Não houve diferença significativa entre estirpes de *Bacillus subtilis* testadas para as variáveis fitomassa seca e volume de raízes aos 30 e 45 DAS da cultivar TMG132 (Tabela 4). Contudo, a fitomassa fresca das raízes aos 30 DAS foi favorecida pela inoculação da estirpe pant001, sendo superior em 4,19 g quando comparada as plantas inoculadas com a estirpe QST713. Aos 45 DAS a fitomassa fresca não diferiu quanto as estirpes testadas para esta cultivar.

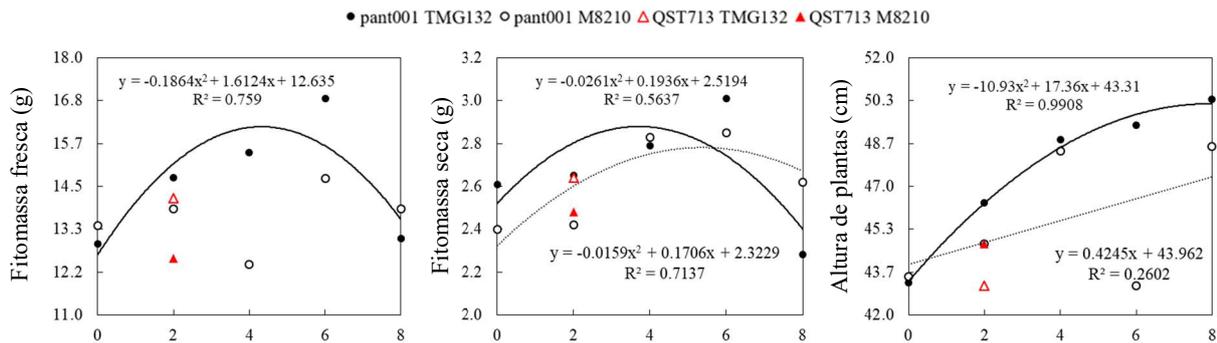
Tabela 4. Valores médios de fitomassa fresca e seca e volume de raízes após aplicação de produtos a base de *Bacillus subtilis* na dose de 2 mL kg⁻¹.

Table 4. Mean values of fresh and dry phytomass and root volume after application of *Bacillus subtilis* products at the dose of 2 mL kg⁻¹.

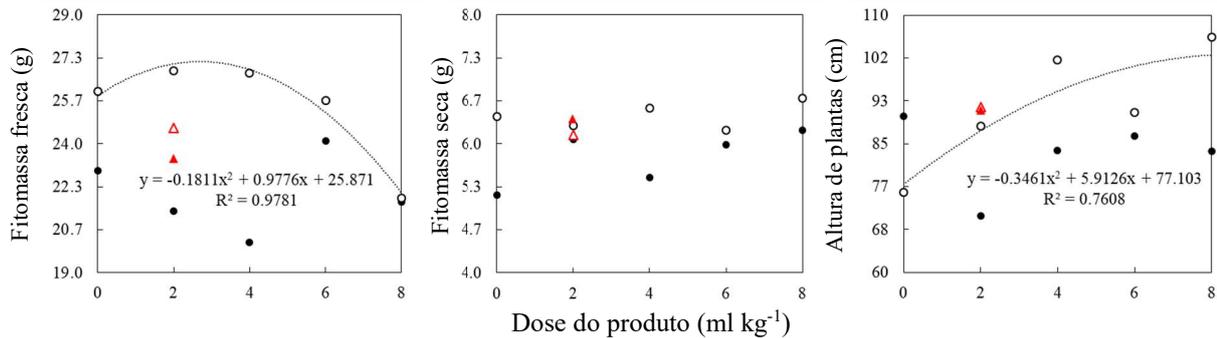
Variáveis*	<i>Bacillus subtilis</i>	Dias após semeadura	
		30	45
TMG132			
Fitomassa fresca de raízes	pant001	8,75a	7,12a
	QST713	4,56b	7,18a
Fitomassa seca de raízes	pant001	0,99a	5,46a
	QST713	1,52a	5,52a
Volume de raízes	pant001	11,25a	12,75a
	QST713	10,50a	13,20a
M8210			
Fitomassa fresca de raízes	pant001	4,78b	4,19b
	QST713	6,12a	9,02a
Fitomassa seca de raízes	pant001	1,04a	2,83b
	QST713	1,08a	5,79a
Volume de raízes	pant001	11,00a	15,50a
	QST713	9,75a	14,25a

* médias seguidas de mesma letra na coluna entre produtos não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

30 DAS



45 DAS



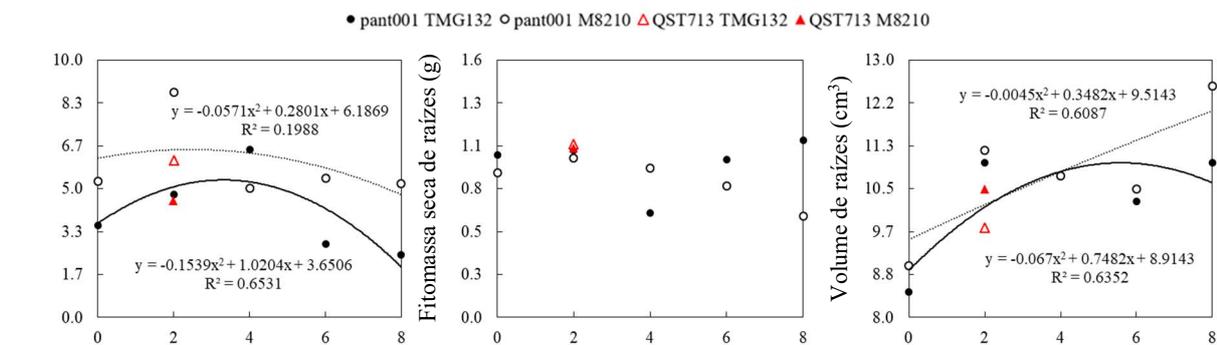
Dose do produto (ml kg⁻¹)

Figura 2. Fitomassa fresca, fitomassa seca e altura de plantas de soja aos 30 e 45 dias após semeadura (DAS) em função das concentrações de *Bacillus subtilis* pant001 e QST713.

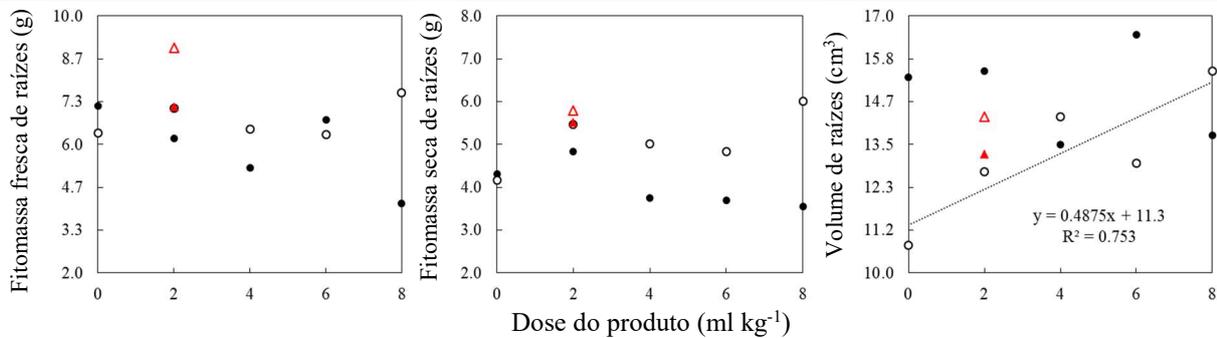
Figure 2. Fresh phytomass, dry phytomass and height of soybean plants at 30 and 45 days after sowing (DAS) as a function of the concentrations of *Bacillus subtilis* pant001 and QST713.

130

30 DAS



45 DAS



Dose do produto (ml kg⁻¹)

Figura 3. Fitomassa fresca, fitomassa seca e volume de raízes de soja aos 30 e 45 dias após semeadura (DAS) em função das concentrações de *Bacillus subtilis* pant001 e QST713.

Figure 3. Fresh phytomass, dry phytomass and soybean root volume at 30 and 45 days after sowing (DAS) as a function of *Bacillus subtilis* pant001 and QST713 concentrations.

Já para a cultivar M8210, observou-se comportamento contrário, a estirpe QST713 proporcionou maior acúmulo de fitomassa fresca, sendo 4,82 g maior em relação as plantas inoculadas com a estirpe pant001 (Tabela 4).

A fitomassa seca e o volume de raízes da cultivar M8210 não difere estatisticamente, aos 30 e 45 DAS, quanto ao tipo de estirpe inoculada.

3.4. Análise de correlação

Observa-se aos 30 DAS, forte correlação entre as variáveis FF vs. FS, CLFS vs. CLFM e CLFM vs. CLFI, com coeficientes de Pearson de 0,82, 0,70 e 0,80, respectivamente (Tabela 7).

Os atributos CLFS, CLFM e CLFI apresentaram moderada correlação positiva com a FSR (Tabela 7). Observa-se forte correlação positiva aos 45 DAS, entre as variáveis FFR vs. FSR e FS vs. FF, e moderada entre FSR vs. VR, FF (Tabela 7). Estes resultados indicam que o incremento de fitomassa nas raízes gera maior volume, contribuindo para o acúmulo de fitomassa na parte aérea das plantas.

A ALT correlacionou-se de forma moderada e positiva com os atributos FF, FS, CLFM e CLFI, com respectivos coeficientes de 0,57, 0,52, 0,65 e 0,65 (Tabela 7).

Tabela 7. Coeficientes de correlação de Pearson entre os atributos morfofisiológicos da soja, cultivares TMG132 e M8210 aos 30 e 45 dias após a semeadura.

Table 7. Pearson correlation coefficients among the morphophysiological attributes of soybean, variety TMG-132 at 30 and 45 days after sowing.

Atributo	FFR	FRS	VR	FF	FS	CLFS	CLFM	CLFI
<i>30 DAS</i>								
FSR	0.60**	-	-	-	-	-	-	-
FS	-	-	-	0.82**	-	-	-	-
CLFS	-	0.53**	-	-	-	-	-	-
CLFM	0.48*	0.60**	-	-	-	0.70**	-	-
CLFI	0.51*	0.54**	-	-	-	0.60**	0.80**	-
ALT	-	-	-	0.57**	0.52**	-	0.65**	0.65**
<i>45 DAS</i>								
FSR	0.79**	-	-	-	-	-	-	-
VR	0.53**	0.78**	-	-	-	-	-	-
FF	-	0.49*	-	-	-	-	-	-
FS	-	-	-	0.55**	-	-	-	-
CLFM	-	0.59*	-	-	-	-	-	-
CLFI	-	0.68**	0.60*	-	-	-	0.57**	-

(1) FFR: fitomassa fresca de raiz; FRS: fitomassa seca de raiz; VR: volume de raízes; FF: fitomassa fresca da parte aérea; FS: fitomassa seca da parte aérea; CLFS: índice de clorofila nas folhas do terço superior da planta, CLFM: índice de clorofila nas folhas do terço médio da planta, e CLFI: índice de clorofila nas folhas do terço inferior da planta; * significativo a 0,05 de probabilidade e ** significativo a 0,01 de probabilidade.

A CLFM e CLFI apresentaram média a forte correlação positiva entre si, significativas nas avaliações de 30 e 45 DAS, respectivamente. Semelhante aos resultados obtidos nos 30 DAS, a FSR apresentou moderada correlação positiva com o CLFM e CLFI, com coeficientes de Pearson de 0,59 e 0,68, respectivamente.

4. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos estão de acordo com Juan; Chou (2010), na qual a inoculação de *Bacillus subtilis* em soja foi capaz de estimular o desenvolvimento das plantas. A clorofila, sendo um indicador de adaptabilidade e crescimento das

plantas em diversos ambientes, mostrou resposta positiva frente ao aumento das doses do produto a base de *B. subtilis* pant001 quando comparada ao tratamento controle, tanto no estágio inicial de desenvolvimento, aos 15 DAS, quanto aos 45 DAS, considerando-se as duas cultivares testadas.

Segundo Schefer et al. (2016), o teor de clorofila na folha é utilizado para prever o nível nutricional de nitrogênio (N) nas plantas, devido ao fato da quantidade deste pigmento correlacionar-se positivamente com teor foliar de N. Com isso, os resultados indicam que a inoculação de *B. subtilis* pode ter proporcionado mudanças na condição nutricional da soja nos primeiros 15 dias de desenvolvimento. É importante ressaltar que a soja, ao ser submetida a algum tipo de estresse, nos primeiros 30 dias de desenvolvimento, têm uma grande redução nos seus teores de clorofila, sendo que somente são restabelecidos aos teores normais após os 45 dias, momento em que a planta já se encontra em período reprodutivo.

Thomas (2004) observou que a redução nos teores de clorofila em soja compromete seu desenvolvimento nos estágios finais, influenciando diretamente na sua produtividade. Pela análise de correlação, constatou-se que elevados teores de clorofila nas folhas dos terços médio e inferior tendem a proporcionar plantas mais altas. Com isso, plantas que apresentaram maior acúmulo de fitomassa seca nas raízes obtiveram elevados teores clorofila nas folhas de seu terço médio e superior.

Quanto aos resultados biométricos obtidos, observou-se que a inoculação de *B. subtilis* estirpe pant001 proporcionou respostas quadráticas, indicando que a aplicação de doses elevadas prejudicou o desenvolvimento da soja. Tal comportamento pode ser justificado pela supressão de microrganismos no tratamento de sementes, na qual a utilização de 8 mL kg⁻¹ corresponde a uma dose de 400 mL sc⁻¹ de semente. Todavia, as dosagens mais baixas testadas, 2 e 4 mL kg⁻¹ proporcionaram incrementos em parâmetros biométricos de parte aérea e raízes da soja (Figura 2 e 3). Tal comportamento já foi investigado por Khedher et al. (2015), na qual observaram que a inoculação de *B. subtilis* em plantas de batata ocasionou promoção do crescimento de hastes, folhas e tubérculos. Os autores atribuíram tal fenômeno a produção de metabolitos de defesa contra fitopatógenos, como por exemplo proteases e quitinases, na qual podem ser absorvidos pelas plantas. Observaram ainda a diminuição da incidência de *Rhizoctonia solani* nos tubérculos, patógeno causador da pinta preta das batatas.

Em um estudo realizado por Jaizme-Veja et al. (2004), os autores observaram que cultivares de banana após serem inoculadas com bactérias do gênero *Bacillus spp.*, apresentaram aumento significativo na massa total de plantas e comprimento de raízes, o que resultou em melhorias no estágio inicial de desenvolvimento da cultura, aumentando a viabilidade das plantas. Oliveira et al. (2016), avaliando o crescimento inicial do feijoeiro em função do vigor de sementes após inoculação com *Bacillus subtilis*, constataram aumento no comprimento de plântulas e comprimento de raízes primárias de plântulas. Os autores atribuíram tal resultado ao aumento na produção de fitohormônios pelas plantas.

Em relação as diferentes estirpes testadas, observou-se que a inoculação de pant001 foi melhor aproveitada pela cultivar TMG132, enquanto que a estirpe QST713 pela M8210. Essa familiaridade pode ocorrer devido a produção de alguns

metabólitos, na qual beneficiam, de forma mais eficaz, genótipos específicos de plantas, que demandam para cumprir funções essenciais de seus ciclos, ou até mesmo utilizando-os como moléculas fito-protetoras.

Frente aos resultados obtidos no presente estudo, sugere-se que as formulações propostas contendo *Bacillus subtilis*, podem ser recomendadas para realização de ensaios de campo, visando com isso, a confirmação dos resultados obtidos em casa de vegetação.

Tendo-se em vista que o uso de inoculantes a base de *Bacillus subtilis* promove uma gama de benefícios para a soja, as bactérias promotoras de crescimento vegetal podem tornar-se um recurso tecnológico essencial para melhorar o rendimento agrícola produtivo e ainda contribuir para a manutenção da sustentabilidade dos sistemas de cultivo a longo prazo, aliando produtividade a proteção ambiental.

5. CONCLUSÕES

A inoculação de *Bacillus subtilis* proporciona incrementos no índice de clorofila das folhas de ambas as cultivares testadas, desde os 15 dias após a semeadura.

Não houve efeito das doses testadas sobre os atributos da parte aérea e raízes da soja, cultivar TMG132, aos 45 dias após semeadura.

A estirpe pant001 na dose 2 mL kg⁻¹, proporciona melhor resposta em cultivares de soja TMG132, gerando incrementos nos parâmetros biométricos de parte aérea e de raízes aos 30 dias após semeadura. Enquanto que a estirpe QSR713, na dose 2 mL kg⁻¹, proporciona melhor resposta em cultivares de soja M8210, gerando incrementos nos parâmetros biométricos de parte aérea e de raízes aos 45 dias após semeadura.

As dosagens dos produtos a base de *B. subtilis*, de 2 e 4 mL kg⁻¹, contendo a mesma concentração descrita no estudo, podem ser recomendadas para cultura da soja.

6. REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, F. F.; MARCHESI, G. V. P. Uso de *Bacillus subtilis* no controle da meloidoginose e na promoção do crescimento do tomateiro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 5, p. 1558-1561, jul./ago. 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782009000500039>
- ARAÚJO, F. F. D.; MARCHESI, G. V. P. Uso de *Bacillus subtilis* no controle da meloidoginose e na promoção do crescimento do tomateiro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 5, p. 1558-1561, ago. 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782009000500039>
- ARAÚJO, F. F.; HUNGRIA, M. A. Nodulação e rendimento de soja co-infectada com *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum* / *Bradyrhizobium elkanii*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 9, p. 1633-1643, 1999. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X1999000900014>
- BOUMA, T. J.; NIELSEN, K. L.; KOUTSTAAL, B. A. S. Sample preparation and scanning protocol for computerised analysis of root length and diameter. **Plant and Soil**, v. 218, n. 1-2, p.185-196. 2000. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1014905104017>
- JAIZME-VEJA, M. D. C.; RODRÍGUEZ- ROMERO, A. S.; GUERRA, M. S. P. Potential use of rhizobacteria from the *Bacillus* genus to stimulate the plant growth of micropropagated bananas. **Fruits**, San Cristóbal de La Laguna, v.5 9, p. 83-90, mar. 2004. DOI: <https://dx.doi.org/10.1051/fruits:2004008>

- JARDIN, P. Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 196, p. 3-14, 2015. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021>
- JUAN, M.; CHOU, C. C. Enhancement of aglycone, vitamin K2 and superoxide dismutase activity of black soybean through fermentation with *Bacillus subtilis* BCRC 14715 at different temperatures. **Food Microbiology**, London, v. 27, n. 5, p. 586-591, 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2009.11.002>
- KHEDHER, S. B.; KILANI-FEKI, O.; DAMMAK, M.; JABNOUN-KHIAREDDINE, H.; DAAMI-REMADI, M.; TOUNSI, S. Efficacy of *Bacillus subtilis* V26 as a biological control agent against *Rhizoctonia solani* on potato. **Comptes rendus biologiques**, Paris, v. 338, n. 12, p. 784-792, dec. 2015. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.crvi.2015.09.005>
- KUHN, O. J.; PASCHOLATI, S. F. Custo adaptativo da indução de resistência em feijoeiro mediada pela rizobactéria *Bacillus cereus* ou acibenzolar-S-metil: atividade de enzimas, síntese de fenóis e lignina e biomassa. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 36, n. 2, p.107-114. 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-54052010000200001>
- LAL, R. Sequestering carbon in soils of arid ecosystems. **Land Degradation & Development**, Medford, v. 20, n. 4, p. 441-454, jun./jul. 2009. DOI: <https://dx.doi.org/10.1002/ldr.934>
- OLIVEIRA, G. R. F.; SILVA, M. S.; MARCIANO, T. Y. F.; PROENÇA, S. L.; SÁ, M. E. Crescimento inicial do feijoeiro em função do vigor de sementes e inoculação com *Bacillus subtilis*. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, Tupã, v. 10, n. 4, p. 439-448, out. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.18011/bioeng2016v10n4p439-448>
- PAVAN, M. E.; PETTINARI, M. J.; CAIRÓ, F.; PAVAN, E. E.; CATALDI, A. A. *Bacillus anthracis*: una mirada molecular a un patógeno célebre. **Revista argentina de microbiología**, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, v. 43, n. 4, p. 294-310, 2011.
- PROVENZA, F. D.; VILLALBA, J. J. The role of natural plant products in modulating the immune system: an adaptable approach for combating disease in grazing animals. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 89, n. 2-3, p.131-139, abr. 2010. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2009.12.035>
- SCHEFER, A.; CIPRIANI, K.; CERICATO, A.; SORDI, A.; RESCHKE LAJÚS, C. Eficiência técnica e econômica da cultura da soja submetida à aplicação de fertilizantes nitrogenados em semeadura e cobertura. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 17, n. 2, p. 14-20, abr./mai. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/rsa.v17i2.45413>
- SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, v. 52, n. 3-4, p. 591-611. dez. 1965.
- THOMAS, A. L. **Modificações morfológicas e assimilação de nitrogênio em plantas de soja (*Glycine max.*) com sistemas radiculares sob deficiência de O₂**. 2004. 87f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.