

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ – UNIOESTE
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS – CAMPUS CASCAVEL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA

BIANCA PIERINA CARRARO

EXSUDADO DO CULTIVO DA LEVEDURA *Rhodotorula glutinis* NO POTENCIAL
FISIOLÓGICO E ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE SOJA

CASCAVEL – PR

AGOSTO – 2022

BIANCA PIERINA CARRARO

**EXSUDADO DO CULTIVO DA LEVEDURA *Rhodotorula glutinis* NO POTENCIAL
FISIOLÓGICO E ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE SOJA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Doutora em Engenharia Agrícola, área de concentração em Sistemas Biológicos e Agroindustriais.

Orientadora: Dra. Silvia Renata Machado Coelho
Coorientadora: Dra. Clair Aparecida Viecelli
Coorientador: Dr. Adilson Ricken Schuelter

CASCADEL – PR

AGOSTO – 2022

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste¹.

Carraro, Bianca Pierina. Exsudado do cultivo da levedura *Rhodotorula glutinis* no potencial fisiológico e armazenamento de sementes de soja. / Bianca Pierina Carraro; orientadora Silvia Renata Machado Coelho; coorientadora Clair Aparecida Viecelli. -- Cascavel, 2022.

p.

Tese (Doutorado Campus de Cascavel) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, 2022.

1. Germinação e vigor de sementes de soja. 2. Levedura promotora do crescimento de plantas. 3. Fitormônios. 4. Armazenagem. I. Machado Coelho, Silvia Renata, orient. II. Viecelli, Clair Aparecida, coorient. III. Título.

¹ Revisor de Normas, Língua Inglesa e Língua Portuguesa: Prof. Dr. José Carlos da Costa.

BIANCA PIERINA CARRARO

EXSUDADO DO CULTIVO DA LEVEDURA *Rhodotorula glutinis* NO POTENCIAL FISIOLÓGICO E ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE SOJA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Doutora em Engenharia Agrícola, área de concentração Sistemas Biológicos e Agroindustriais, linha de pesquisa Tecnologias de Produção Vegetal e Pós-colheita, APROVADO(A) pela seguinte banca examinadora:



Orientador(a) - Silvia Renata Machado Coelho

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)



Jeferson Carlos Carvalho

Faculdade de Ensino Superior de Marechal Cândido Rondon (ISEPE RONDON)



Nayara Parisoto Boiago

Centro Universitário da Fundação Assis Gurgacz (FAG)



Maritane Prior

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)



Divair Christ

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)

Cascavel, 16 de agosto de 2022.

BIOGRAFIA

Bianca Pierina Carraro, filha de Ivo Marcos Carraro e Maria Eugenia Carraro, natural de Viçosa, Minas Gerais, nascida em 23 de maio de 1978, formou-se com grau de licenciada em Ciências Biológicas na Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), em dezembro de 1999.

Durante o curso de graduação realizou iniciação científica, em pesquisa na área de citogenética de insetos expostos a agrotóxicos, no Laboratório de Citogenética e evolução do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da UEPG.

No ano de 2002, obteve o título de Mestre em Agronomia pelo Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Maringá. Desenvolveu pesquisa na área de Fitopatologia trabalhando com virologia vegetal, na caracterização molecular de isolados do vírus da tristeza dos citros (CTV) em laranja no Norte do Paraná. Nesse período, estagiou no Centro de Citricultura Silvio Moreira em Cordeirópolis, São Paulo no desenvolvimento de sua pesquisa.

Nos meses de setembro a dezembro de 2002, atuou como bolsista FAGRO no Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR) em Londrina, onde trabalhou com melhoramento genético de café e biotecnologia em citros.

Durante o ano de 2003, atuou na área de análises clínicas no Laboratório Álvaro em Cascavel, Paraná, realizando exames moleculares para diagnose de doenças como HPV, HIV, HCV e HBV.

A partir do ano de 2004 até o presente, atua como docente no Centro Universitário Assis Gurgacz em Cascavel, ministrando aulas de Biologia Celular, Histologia e Morfologia Vegetal, Botânica sistemática e Biotecnologia vegetal, para o curso de Agronomia.

Em 2018, ingressou no curso de doutorado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, no Laboratório de Controle de Qualidade de Produtos Agrícolas, atuando em pesquisas de qualidade fisiológica de sementes de soja submetidas a um bioproduto de leveduras.

Ao meu amado pai, Ivo Marcos Carraro (*in memoriam*).
Exemplo de pessoa, cientista e pesquisador.
Meu maior incentivador na busca pelo conhecimento.
Deixou um legado de amor à vida e à ciência,

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Gratidão a Deus pelo dom da vida e da saúde, por me abençoar com mais uma oportunidade de aprendizado e crescimento pessoal e profissional.

A minha filha, Pietra, obrigada por tantas cartinhas dizendo: “Mamãe eu te amo do fundo do meu coração...” Foram muitas noites do soninho na casa da vó Maria enquanto a mãe estava trabalhando na Unioeste. Te amo filha!!!

Aos meus pais, Ivo Marcos e Maria Eugênia, pelo exemplo de fé, coragem, perseverança e determinação em alcançar um sonho.

Pai, iniciamos essa linda caminhada juntos, lado a lado, sempre com muito amor e esperança. A cada fase concluída comemoramos com alegria e entusiasmo! Quantos conselhos, chamadas de atenção, ensinamentos e verdadeiras aulas regadas a muito café na mesa da cozinha. Esteve comigo nos laboratórios, nas empresas, no campo! Mesmo em meio a tantas dores e sofrimento você continuou firme, sempre incentivando cada passo meu, até que a doença tomou conta de ti, e ainda assim você sorria quando eu chegava no hospital e me dizia: “E a tese? Vai ter festa?” Você adormeceu na paz de Deus, mas continua comigo para sempre. Te amo!!!

Mãe, obrigada pelo seu amor incondicional. Conselheira de todas as horas, sempre de braços abertos e palavras certas para me acalmar e encorajar a seguir em frente. Sem você não seria possível concluir a jornada.

Aos meus irmãos Cesar Felipe Carraro e Ana Carolina Carraro, e aos sobrinhos amados, Lara, Caio, Paola e Flávia por todos os sorrisos, abraços e palavras de incentivo. Nos momentos mais difíceis vocês me trouxeram paz, amor e esperança.

Aos meus cunhados Vanessa Shimada Carraro e Lucas Fernando Tolentino, por todo o carinho e incentivo.

Aos demais familiares que acompanharam essa caminhada gratidão, por todo o incentivo e carinho.

A minha orientadora Prof^ª. Dr^ª. Silvia Renata Machado Coelho pela orientação, ensinamentos e por suas palavras de incentivo, acolhimento e carinho sempre. Ao longo da jornada vivemos grandes momentos que me mostraram o quanto você é especial. Construímos uma amizade para a vida toda.

A minha coorientadora e amiga Dr^ª. Clair Aparecida Viecelli, por idealizar a pesquisa e proporcionar o encontro com a Prof^ª. Silvia. Você foi fundamental para o desenvolvimento da pesquisa. Obrigada pelo incentivo e entusiasmo sempre!

Ao Prof. Dr. Odair José Kuhn, por contribuir com o isolado da levedura *Rhodotorula glutinis* estudado na pesquisa.

À Prof^a. Me. Norma Schlickmann Lazaretti, por toda a ajuda, conhecimento e amizade. Obrigada por suas contribuições.

A todo o corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola da UNIOESTE, por compartilhar suas vivências e conhecimentos.

Aos colegas de jornada, por toda a ajuda, conselhos, incentivo e carinho. A caminhada ao lado de pessoas do bem é sempre mais leve e divertida.

Aos queridos alunos de TCC da FAG, que prontamente aceitaram encarar o desafio ao meu lado contribuindo grandemente para a pesquisa. Contem com a Prof^a. Bianca.

Ao Centro Universitário Assis Gurgacz (FAG) e a Prof^a. Dr^a. Ana Paula Morais Mourão Simonetti, por todo o apoio e incentivo ao longo do caminho. Orgulho de participar do time Agronomia FAG.

À Cooperativa Agroindustrial de Cascavel (COOPAVEL), representada pelos colegas da Unidade de Beneficiamento de Sementes, pela enorme contribuição com as sementes utilizadas na pesquisa.

À UNIOESTE, pelo suporte de estrutura, material e colaboradores, que auxiliaram nesta caminhada, que não seria possível sem estes.

A todos que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento desta pesquisa.

O meu MUITO OBRIGADO!

RESUMO

CARRARO, Bianca Pierina. **Exsudado do cultivo da levedura *Rhodotorula glutinis* no potencial fisiológico e armazenamento de sementes de soja**. Orientadora: Sílvia Renata Machado Coelho; Coorientadores: Clair Aparecida Viecelli; Adilson Ricken Schuelter. 2022. 62 f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel – Paraná, 2022.

Para uma agricultura sustentável, pesquisas de produtos biológicos à base de leveduras têm sido apresentadas como alternativas promissoras para a preservação dos recursos naturais, uma vez que esses microrganismos têm a capacidade de produzir fitormônios, promovendo o crescimento e o desenvolvimento das plantas, bem como sua conservação pós-colheita. Para tanto, a escolha de sementes de elevada qualidade permite o acesso aos avanços genéticos e tecnológicos adaptados a diversas regiões, assegurando maiores produtividades. Assim, o presente estudo avaliou os efeitos do exsudado da levedura *Rhodotorula glutinis* sobre o potencial fisiológico das sementes de soja e sua armazenabilidade. O isolado foi inoculado em caldo-YEPG para a produção do exsudado. Após 14 dias, o material foi centrifugado e coletada a parte sobrenadante. Seguiu-se com a liofilização e o armazenamento do exsudado. Para a detecção e quantificação dos fitormônios, amostras do exsudado liofilizado e líquido foram enviadas para análise por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa (LC/MS/MS). O efeito do exsudado da levedura foi avaliado no tratamento de sementes de alface (planta indicadora) nas concentrações de 12,5 mg mL⁻¹, 25,0 mg mL⁻¹, 37,5 mg mL⁻¹, 50,0 mg mL⁻¹ e uma testemunha em delineamento inteiramente casualizado com 4 repetições. Foram realizados testes de germinação e de vigor e analisadas as variáveis porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação, comprimento médio de parte aérea, comprimento médio de raiz e massa seca. A partir dos resultados em alface, verificou-se o efeito do exsudado da levedura no tratamento de sementes de soja nas concentrações de 25,0; 50,0; 75,0; 100,0; 125,0 e 150,0 mg mL⁻¹, sendo a testemunha constituída por água destilada. Testes de germinação e de vigor foram realizados observando-se a porcentagem de germinação, comprimento do hipocótilo e da raiz, índice de vigor e índice de crescimento das plântulas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com sete tratamentos e cinco repetições. Para avaliação do potencial fisiológico da soja tratada com o exsudado da levedura e armazenada, o experimento foi conduzido em delineamento de blocos casualizados (DBC) bifatorial 3x5, sendo o fator 1 armazenagem (0, 60 e 180 dias) e o fator 2 diferentes concentrações do exsudado da levedura (testemunha, 25, 50, 75 e 100%), com 4 repetições por tratamento. Os parâmetros avaliados foram a porcentagem de germinação, o comprimento médio da raiz, o comprimento médio da parte aérea, a massa seca, a condutividade elétrica, o índice de velocidade de emergência e a velocidade de emergência. No exsudado liofilizado da levedura *Rhodotorula glutinis* (AH 14-3) houve síntese de giberelina do tipo GA4 e no exsudado líquido foram detectadas as auxinas ácido 3-indolacético (AIA) e ácido 3-indolbutírico (AIB) que promoveram a germinação e o crescimento de plântulas de alface e soja. Em alface, o efeito do exsudado da levedura foi significativo em 50,0 mg mL⁻¹, aumentando 58% o comprimento da parte aérea e 74% o comprimento da raiz. Na soja, a concentração do exsudado da levedura de 25,0 mg mL⁻¹ estimulou o aumento de 55% do tamanho do hipocótilo, 164% do tamanho da radícula, 91% para o índice de vigor e 156% para o índice de crescimento. Durante o período de armazenagem das sementes de soja tratadas com o exsudado da levedura, as variáveis porcentagem de germinação, índice de velocidade de emergência e velocidade de emergência apresentaram redução significativa aos 180 dias, evidenciando um processo de deterioração. Quanto às variáveis comprimento de raiz, comprimento de parte aérea e massa seca verificou-se incremento de 88, 40 e 51%, respectivamente, aos 180 dias de armazenagem, indicando aumento do vigor das sementes. A condutividade elétrica apresentou redução em 35% ao longo do tempo, também sugerindo aumento do vigor. Na

interação entre os fatores armazenagem e concentrações do exsudado da levedura para o índice de velocidade de emergência, as concentrações de 50 e 75% mantiveram os resultados aos 180 dias de armazenamento, sendo iguais estatisticamente aos resultados obtidos aos 60 dias, o que indica a manutenção da qualidade das sementes. Diante de todos os bons resultados encontrados acredita-se que o exsudado da levedura *Rhodotorula glutinis* tenha ação promotora da germinação e crescimento de plantas em função dos fitormônios presentes. Nos seis meses de armazenagem, as sementes de soja apresentaram deterioração aos 60 dias. Porém, aos 180 dias a qualidade foi mantida. Outros estudos poderão elucidar os mecanismos de ação dos fitormônios e detectar a presença de outras moléculas promotoras de crescimento vegetal.

Palavra-chave: germinação, vigor, auxinas, giberelina, armazenagem.

ABSTRACT

CARRARO, Bianca Pierina. **Exudate from the cultivation of *Rhodotorula glutinis* yeast on the physiological potential and storage of soybean seeds.** Advisor: Silvia Renata Machado Coelho; Co-advisors: Clair Aparecida Viecelli; Adilson Ricken Schuelter. 2022. 62 p. Dissertation (PhD in Agricultural Engineering) – Western Paraná State University, Cascavel – Paraná, 2022.

For a more sustainable agriculture, research on biological products based on yeast has been presented as a promising alternative for the preservation of natural resources, since such microorganism has the ability to produce phytohormones, promoting the growth and development of plants, in addition to post-harvest conservation. Therefore, the selection of high-quality seeds allows access to genetic and technological advances adapted to different regions, ensuring greater productivity. Thus, this study evaluated the effects of the exudate from *Rhodotorula glutinis* yeast on the physiological potential of soybean seeds and their storability. The isolate was inoculated in YEPG-broth in order to produce the exudate. After 14 days, the material was centrifuged and the supernatant part was collected. This was followed by lyophilization and storage of the exudate. For the detection and quantification of phytohormones, samples of the lyophilized exudate and liquid were sent for analysis by liquid chromatography coupled to mass spectrometry (LC/MS/MS). The effect of the yeast exudate was initially evaluated in the treatment of lettuce seeds (indicator plant) at concentrations of 12.5 mg mL⁻¹, 25.0 mg mL⁻¹, 37.5 mg mL⁻¹, 50.0 mg mL⁻¹ and a control in a completely randomized design with 4 replications. Germination and vigor tests were carried out and variables such germination percentage, germination speed index, average shoot length, average root length and dry mass were analyzed. From the results on lettuce, the effect of the yeast exudate in the soybean seeds treatment was verified at concentrations of 25.0; 50.0; 75.0; 100.0; 125.0 and 150.0 mg mL⁻¹, with the control consisting of distilled water. Germination and vigor tests were performed observing the germination percentage, hypocotyl and root length, vigor index and seedling growth index. The experimental design was completely randomized with seven treatments and five replications. With the aim of evaluating the physiological potential of soybean treated with the yeast exudate and stored, the experiment was conducted in a 3x5 bifactorial randomized block design (RBD), with factor 1 being storage (0, 60 and 180 days) and factor 2 being different concentrations of the yeast exudate (control, 25, 50, 75 and 100%), with 4 replications per treatment. The parameters evaluated were germination percentage, average root length, average shoot length, dry mass, electrical conductivity, emergence speed index and emergence speed. In the lyophilized exudate of the *Rhodotorula glutinis* (AH 14-3) yeast, there was a synthesis of gibberellin type GA4 and, in the liquid exudate, the auxins indole-3-acetic acid (IAA) and indole-3-butyric acid (IBA) were detected, which promoted the germination and growth of lettuce and soybean seedlings. On lettuce, the effect of the yeast exudate was significant at 50.0 mg mL⁻¹, increasing shoot length by 58% and root length by 74%. On soybean, the yeast exudate concentration of 25.0 mg mL⁻¹ stimulated an increase of 55% in hypocotyl size, 164% in radicle size, 91% in vigor index and 156% in growth index. During the storage period of soybean seeds treated with the yeast exudate, the variables of germination percentage, emergence speed index and emergence speed showed a significant reduction when 180 days were reached, demonstrating a deterioration process. As for the variables of root length, shoot length and dry mass, an increase of 88, 40 and 51% was observed, respectively, at 180 days of storage, suggesting an increase in seed vigor. Electrical conductivity decreased by 35% over time, also indicating an increase in vigor. In the interaction between storage factors and yeast exudate concentrations for the emergence speed index, concentrations of 50 and 75% maintained the results at 180 days of storage, being statistically equal to the results obtained at 60 days, which indicates the maintenance of seed quality. Given all the good results that were found, it is believed that the exudate of the *Rhodotorula glutinis* yeast has an action that promotes

germination and plant growth due to the phytohormones present. In the six months of storage, the soybean seeds showed deterioration at 60 days. However, at 180 days the quality was maintained. Other studies may elucidate the mechanisms of action of phytohormones and detect the presence of other molecules that promote plant growth.

Keywords: germination, vigor, auxins, gibberellin, storage.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	xi
LISTA DE FIGURAS	xii
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS.....	3
2.1 Objetivo geral	3
2.2 Objetivos específicos.....	3
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1 Sementes de soja de alta qualidade.....	4
3.2 Microrganismos promotores de crescimento de plantas (MPCP).....	5
3.3 Efeitos fisiológicos dos hormônios em plantas.....	8
3.4 Qualidade fisiológica da semente na armazenagem.....	13
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	16
4.1 Levedura	17
4.1.1 Cultivo da levedura.....	17
4.1.2 Liofilização	18
4.1.3 Detecção e quantificação dos fitormônios presentes no exsudado de levedura	19
4.2 Procedimentos experimentais	20
4.2.1 Tratamento de sementes de alface com exsudado de levedura	20
4.2.2 Efeito do exsudado produzido por levedura e aplicado em sementes de soja sobre o potencial fisiológico	21
4.2.3 Potencial fisiológico da soja armazenada após o tratamento das sementes com o exsudado da levedura <i>Rhodotorula glutinis</i>	23
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
5.1 Detecção e quantificação de fitormônios	27
5.2 Tratamento de sementes de alface com exsudado liofilizado de levedura.....	29
5.3 Efeito do tratamento de sementes de soja com exsudado da levedura <i>Rhodotorula glutinis</i> sobre o potencial fisiológico.....	32
5.4 Potencial fisiológico da soja armazenada após o tratamento das sementes com exsudado de levedura	34
6 CONCLUSÕES	39
REFERÊNCIAS	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Concentrações do exsudado da levedura <i>Rhodotorula glutinis</i> para tratamento de sementes de soja	24
Tabela 2	Produção de fitormônios pela levedura <i>Rhodotorula glutinis</i> (AH 14-3)	27
Tabela 3	Resumo da análise descritiva e da análise de variância para as diferentes concentrações do exsudado de levedura em sementes de alface	30
Tabela 4	Valores médios obtidos para porcentagem de germinação (%G), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR) e massa seca (MS) em sementes de alface tratadas com diferentes concentrações do exsudado da levedura <i>Rhodotorula glutinis</i> ..	30
Tabela 5	Resumo da análise descritiva e da análise de variância para as diferentes concentrações do exsudado de levedura em sementes de soja	32
Tabela 6	Valores médios obtidos no teste de germinação para porcentagem de germinação (%G), comprimento do hipocótilo (CH), comprimento da raiz (CR), índice de vigor (IV) e índice de crescimento (IC) em sementes de soja tratadas com o exsudado da levedura <i>Rhodotorula glutinis</i>	33
Tabela 7	Análise de variância para porcentagem de germinação (G%), comprimento de raiz (CR), comprimento de parte aérea (CPA), massa seca (MS), condutividade elétrica (CE), índice de velocidade de emergência (IVE) e velocidade de emergência (VE) em sementes de soja tratadas com exsudado de levedura em função do tempo de armazenamento	34
Tabela 8	Valores médios para porcentagem de germinação (%G), comprimento da raiz (CR), comprimento da parte aérea (CPA), massa seca (MS), condutividade elétrica (CE), índice de velocidade de emergência (IVE) e velocidade de emergência (VE) em sementes de soja tratadas com o exsudado da levedura <i>Rhodotorula glutinis</i> e armazenadas por 180 dias	35
Tabela 9	Valores médios do índice de velocidade de emergência (IVE) na interação entre diferentes concentrações do exsudado da levedura em função do tempo de armazenamento em sementes de soja	38

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Formas bioativas de giberelina.	11
Figura 2	Biossíntese das giberelinas.	12
Figura 3	Fluxograma do isolamento, identificação, processamento da levedura, detecção e quantificação dos fitormônios e ensaios experimentais.	16
Figura 4	Isolado de <i>Rhodotorula glutinis</i> preservado.	17
Figura 5	Cultivo da levedura <i>Rhodotorula glutinis</i> e obtenção do exsudado.	18
Figura 6	Liofilizador de bancada Enterprise II Terroni e exsudado liofilizado.	19
Figura 7	Teste de germinação associado à análise de imagem.	23
Figura 8	Tratamento das sementes de soja com exsudado de levedura e armazenagem.	25
Figura 9	Curva de crescimento da levedura <i>Rhodotorula glutinis</i>	28
Figura 10	Análise de regressão do comprimento da parte aérea (CPA) e do comprimento de raiz (CR) de plântulas de alface tratadas com diferentes concentrações do exsudado da levedura <i>Rhodotorula glutinis</i>	31
Figura 11	Análise de regressão para condutividade elétrica (CE) e índice de velocidade de emergência (IVE) em sementes de soja tratadas com diferentes concentrações do exsudado da levedura <i>Rhodotorula glutinis</i> e armazenadas.	37

1 INTRODUÇÃO

A soja é uma leguminosa de expressiva utilização no segmento industrial brasileiro, pois está na composição de diversos produtos do cotidiano e é a base para produção de proteína animal. A produção da safra brasileira 2021/2022 foi de 124.268,0 milhões de toneladas em uma área cultivada de 40.988,5 milhões de hectares, resultando numa produtividade média de 3.032 kg ha⁻¹. O estado do Paraná é o terceiro maior produtor de soja do Brasil, com o estado de Goiás em segundo e o Mato Grosso em primeiro lugar (CONAB, 2022). Conforme a estimativa mais recente referente à safra 2022/2023, a área e a produção mundial de soja são, 135,29 milhões de hectares e 395,37 milhões de toneladas métricas de soja, respectivamente (USDA, 2022), o que comprova que a soja é um produto de grande importância para o Brasil e para o mundo, sendo o Brasil o maior produtor global.

A escolha de sementes de elevada qualidade reflete os números apresentados e permite o acesso aos avanços genéticos e tecnológicos adaptados a diversas regiões, assegurando maiores produtividades. A qualidade fisiológica das sementes tem sido caracterizada pela germinação e pelo vigor, que representa a soma de atributos que confere à semente o potencial para germinar, emergir e resultar rapidamente em plântulas normais, sob ampla diversidade de condições ambientais.

Apesar disso, a agricultura brasileira necessita de um olhar mais sustentável, buscando a preservação e a reconstituição dos solos e do meio ambiente. Nesse sentido, os produtos biológicos, ou seja, aqueles que contém microrganismos ou derivados microbianos como agentes ativos, com potencial benéfico e de ocorrência natural, vêm ganhando mais espaço e credibilidade entre os produtores. Produtos naturais como bioestimulantes e biofertilizantes que apresentam hormônios ou atividade reguladora, quando aplicados às plantas, têm sido bastante estudados na agricultura. Nesse âmbito está o uso de leveduras, grupo de microrganismos amplamente difundido em diversos ecossistemas com grande adaptação e biodiversidade.

Um progresso considerável é observado no desenvolvimento de pesquisas apontando que o crescimento das plantas pode ser induzido por leveduras e seus metabólitos. Alguns de seus efeitos positivos podem ocorrer devido à solubilização de nutrientes e à produção de diferentes hormônios e enzimas que contribuem diretamente para o crescimento das plantas, atuando como bioestimulantes.

Nesse contexto, os hormônios, principalmente as giberelinas, são fundamentais na promoção da germinação atuando na quebra do tecido de reserva da semente e no desenvolvimento da radícula. Aliado aos hormônios, tem-se o uso de bioestimulantes à base

de reguladores vegetais sintéticos associados, que apresentam melhora na produtividade, mas tem custo elevado para o produtor.

A redução do potencial de germinação e vigor da semente evidencia o processo de deterioração, que inicia quando ela atinge o ponto de maturidade fisiológica, ainda no campo, e se mantém durante o armazenamento por 6 a 8 meses, até a semeadura. Assim, a busca pela manutenção da qualidade fisiológica da semente é um desafio constante, pois esse processo é inevitável, progressivo e irreversível.

A giberelina é um hormônio com grande potencial a ser explorado na agricultura, com ação benéfica na germinação das sementes, além de participar do desenvolvimento vegetal e floração das plantas. A aplicação desse hormônio visa à produção de compostos utilizáveis para a agricultura com eficiência e baixos custos. Dessa forma, é necessária a busca por métodos de síntese de hormônios que sejam economicamente mais viáveis para exploração na agricultura.

Nesse sentido, a hipótese para esta pesquisa é de que o exsudado produzido pela levedura e aplicado às sementes de soja atue na melhora da qualidade fisiológica da semente e na sua conservação durante o armazenamento.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito do exsudado do cultivo de levedura sobre o potencial fisiológico de sementes de soja e sua armazenabilidade.

2.2 Objetivos específicos

- a) Detectar a produção de hormônios vegetais a partir do cultivo da levedura *Rhodotorula glutinis* proveniente de flores de roseira;
- b) Identificar e quantificar os hormônios vegetais produzidos pela levedura *Rhodotorula glutinis*;
- c) Definir concentrações adequadas do exsudado da levedura para o tratamento de sementes de soja;
- d) Avaliar o potencial fisiológico de sementes de alface e soja tratadas com diferentes concentrações do exsudado da levedura *Rhodotorula glutinis*, utilizando testes de germinação e vigor;
- e) Verificar se há preservação do potencial fisiológico de sementes de soja tratadas com o exsudado de levedura e armazenadas por seis meses.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Sementes de soja de alta qualidade

Os números expressivos referentes à produção de soja, 124.268 milhões de toneladas e produtividade média de 3.032 kg ha⁻¹ (CONAB, 2022) na safra 2021/22, são reflexo direto do uso de sementes de alta qualidade combinado a boas práticas durante todo o processo de produção dos campos de sementes. A escolha de sementes de elevada qualidade permite o acesso aos avanços genéticos e tecnológicos adaptados a diversas regiões, assegurando maiores produtividades (FRANÇA NETO *et al.*, 2016).

A qualidade de um lote de sementes é o resultado da interação de atributos genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários, determinando seu potencial de desempenho e, conseqüentemente, o valor para a semeadura. Portanto, o potencial fisiológico compreende o conjunto de aptidões que permite estimar a capacidade de um lote de sementes em manifestar adequadamente suas funções vitais após a semeadura (MARCOS FILHO, 2011). No entanto, vários fatores durante a produção no campo, na operação de colheita, na secagem, no beneficiamento, no armazenamento, no transporte e na semeadura podem influenciar a qualidade da semente (KRZYZANOWSKI; FRANÇA NETO; HENNING, 2018).

A germinação de sementes é um processo vital que culmina com a emergência do embrião através de suas coberturas protetoras. Sob a ótica da fisiologia vegetal, a germinação inicia com a absorção de água pela semente seca e termina com a emergência da radícula transpondo seus tecidos circundantes (TAIZ *et al.*, 2017). Para a tecnologia de sementes, a germinação compreende uma sequência ordenada de eventos metabólicos que resulta no reinício do desenvolvimento do embrião, originando uma plântula normal (MARCOS FILHO, 2015).

Segundo Bewley e Black (1994), o processo de germinação ocorre em três etapas: 1) a reativação, que compreende a embebição e a ativação da respiração e demais etapas do metabolismo; 2) a indução do crescimento através de processos bioquímicos; 3) o crescimento propriamente dito, que culmina com a protrusão da raiz primária.

A soma total desse processo e das propriedades da semente que determinam o nível do potencial de atividade e desempenho da semente ou do lote de semente, durante a germinação e emergência da plântula é conhecido como vigor (POPINIGIS, 1985).

Segundo Marcos Filho (2015), vigor é o reflexo de um conjunto de características ou propriedades que determinam o seu potencial fisiológico, ou seja, a capacidade das sementes de apresentarem desempenho adequado, quando expostas a diferentes condições ambientais.

A literatura apresenta uma gama de relatos que destacam a veracidade do uso de sementes de alta qualidade relacionado ao incremento da produtividade. Segundo Tavares *et al.* (2013), a utilização de sementes de alto vigor proporciona acréscimos superiores a 15% no rendimento, em relação ao uso das sementes de baixo vigor. A deficiência hídrica do 1º ao 10º dia após a emergência não interfere no rendimento e na qualidade fisiológica de sementes da geração F1, tanto daquelas de alto como as de baixo vigor.

Em avaliação do vigor de sementes e competição intraespecífica em soja, Kolchinski, Schuch e Peske (2005) relataram que as plantas provenientes das sementes de alto vigor apresentaram 56% de incremento no índice de área foliar e 77% na produção de matéria seca e rendimento de sementes, sendo 35% superior em relação às plantas provenientes das sementes de baixo vigor.

Em estudo sobre o desempenho produtivo de plantas de soja originadas de lotes de sementes com níveis crescentes de vigor, Bagateli *et al.* (2019) relataram que plantas desenvolvidas a partir de sementes com nível de vigor de 95% apresentaram um crescimento 23% maior do que plantas desenvolvidas a partir de sementes com 65% de vigor, independente do ano, genótipo e momento de avaliação. Cada ponto porcentual de aumento no nível de vigor dos lotes testados pode resultar num acréscimo de até 28 kg ha⁻¹ no rendimento de grãos.

3.2 Microrganismos promotores de crescimento de plantas (MPCP)

Há grande diversidade de microrganismos presentes na natureza, dentre eles os que possuem capacidade para produzir compostos promotores do crescimento de plantas como as bactérias, os fungos filamentosos e as leveduras. Esses microrganismos colonizam interna e externamente os órgãos das plantas e possuem a capacidade de estimular seu crescimento e aumentar sua produtividade, reduzindo os níveis de estresse causados por fatores bióticos e abióticos (GOMES *et al.*, 2016).

Os benefícios diretos favorecem o crescimento da planta, pela produção de hormônios que complementa a produção já realizada pela própria planta, aumentando sua velocidade de crescimento (EL-TARABILY, 2004; NASSAR; EL-TARABILY; SIVASITHAMPARAM, 2005; LIMTONG *et al.*, 2014), por solubilizar fosfato e outros nutrientes do solo, tornando-os mais disponíveis para a planta (NUTARATAT *et al.*, 2014), originando a formação de nódulos fixadores de nitrogênio nas raízes de plantas da família *Fabaceae*, além da potencialização da relação de simbiose que forma esses nódulos (SAHARAN; NEHRA, 2011). Outros microrganismos somente potencializam a simbiose já existente entre a planta e as bactérias

formadoras de nódulos e fixadoras de nitrogênio (SUBRAMANIAN; KRISHNAMOORTHY, 2015).

Os métodos indiretos diminuem ou previnem danos causados à planta, como o combate a patógenos por meio da produção de compostos antimicrobianos e/ou indução de crescimento (IGNATOVA *et al.*, 2015) e a diminuição dos níveis de etileno e o consequente estímulo ao alongamento da raiz pela produção de 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) desaminase (GLICK *et al.*, 2007), bem como o aumento da tolerância da planta frente a estresses abióticos (YANG; KLOEPPER; RYU, 2009; SAHARAN; NEHRA, 2011).

Dentre os microrganismos promotores do crescimento de plantas alguns são utilizados na composição de biofertilizantes e bioestimulantes. Estão entre eles as bactérias do gênero *Rhizobium* que formam nódulos nas raízes de plantas da família *Fabaceae*, onde fazem a fixação de nitrogênio (MASSON-BOIVIN *et al.*, 2009) e o *Bacillus cereus* que induz o aumento da área de superfície da raiz (VESSEY; BUSS, 2002).

Efeitos benéficos do fungo *Metarhizium* são a promoção do crescimento de plantas, incremento da produção primária dos sistemas agrícolas e proteção contra insetos e patógenos (BARELLI *et al.*, 2016). Um efeito comum é o desenvolvimento das raízes. Um aumento significativo de raízes laterais e formações de pelos radiculares foi identificado em plantas tratadas com fungos do gênero *Metarhizium*, quando comparadas a plantas não tratadas (SASAN; BIDOCKA, 2012). Fungos do gênero *Trichoderma* produzem hormônios de crescimento da planta, como as auxinas, ácido abscísico (RAGHAVENDRA *et al.*, 2010; SIMON; PETRASEK, 2011) e ácido 1-carboxílico-1-aminociclopropano (ACC) deaminase (MARTÍNEZ-MEDINA *et al.*, 2014). Essa enzima reduz a concentração de ACC, que é um precursor na metabolização do etileno (hormônio que ajuda as plantas a sobreviverem em condição de estresse) (HAN *et al.*, 2015).

As leveduras, fungos unicelulares pertencentes em sua maioria ao filo *Ascomycota*, com alguns representantes em *Basidiomycota* (BOTHÁ, 2011; MADIGAN; MARTINKO; PARKER, 2012), também produzem muitos compostos bioativos importantes para as plantas, tais como fitormônios, aminoácidos, enzimas e vitaminas (MUKHERJEE; SEN, 2015). Por esse motivo, algumas leveduras também são promotoras do crescimento de plantas e têm sido bastante estudadas para o uso no biocontrole de doenças pós-colheita em frutos e vegetais, e no combate a doenças foliares (LEE *et al.*, 2017).

Leveduras são abundantes no solo, na rizosfera e nas folhas de diversas plantas. São ótimas como agentes de biocontrole, pois são o principal componente da comunidade microbiana epifítica na superfície de folhas, frutas e vegetais, sendo fenotipicamente adaptadas a esses nichos, capazes de colonizá-los e competir efetivamente por nutrientes e espaço em sua superfície (EL-TARABILY, 2004). As leveduras também podem colonizar o solo e as raízes das plantas, como a *Candida tropicalis* HY que coloniza o solo e se mostrou

efetiva na promoção do crescimento de arroz (AMPRAYN *et al.*, 2012). Outro exemplo é o *Cryptococcus* sp. NSE1 que se mostrou tolerante a metais pesados, protegendo a planta *Sedum plumbizincicola* contra a toxicidade do cádmio (LIU *et al.*, 2016).

Botha (2011) concluiu que as leveduras não afetam somente o desenvolvimento microbiano no solo, mas atuam também na formação de agregados do solo e na sua manutenção. Do mesmo modo, podem solubilizar fosfatos insolúveis, deixando-os mais disponíveis para as plantas (NUTARATAT *et al.*, 2014). A espécie *Rhodotorula glutinis* se mostra com bom potencial na agricultura, pois sintetiza carotenoides, lipídios e enzimas que são utilizados na indústria farmacêutica, cosmética e alimentar (HERNANDEZ-ALMANZA *et al.*, 2013). É redutora da micotoxina patulina sintetizada por *Penicillium expansum* em maçã, onde limita a ação do patógeno (CASTORIA *et al.*, 2005).

De acordo com Heling *et al.* (2016), a levedura *Rhodotorula glutinis* reduz a severidade do cretamento bacteriano do feijoeiro em 53,70% e Carvalho (2017), aplicando células das leveduras *Rhodotorula glutinis* e *Sporidiobolus johnsonii* em plantas de feijão, concluiu que, na dose 5 g L⁻¹, houve redução da severidade do cretamento bacteriano comum no feijoeiro em 62,73% e 49,88%, respectivamente, e que essas leveduras podem atuar como indutoras de crescimento em plantas, evidenciando o seu potencial agrônomo.

Estudando a diversidade de leveduras no filopiano de cana-de-açúcar, Limtong *et al.* (2014) relataram a produção de ácido-3-indolacético (AIA) em 69 isolados através da suplementação com L-triptofano em seu meio de cultivo. Dentre os gêneros estão *Rhodotorula* e *Sporidiobolus* que apresentaram valores máximos de 137 e 21,5 mg L⁻¹ de AIA, respectivamente.

Nakayan *et al.* (2013) obtiveram produção média de 8,9 µg mL⁻¹ de AIA após 5 dias de cultivo em meio de cultura YEPD, complementado com triptofano, pelo isolado de *Rhodotorula mucilaginosa* (CC2). Outras espécies de levedura também foram estudadas e os resultados da produção de AIA podem ser observados na literatura. Isolados de *Candida valida*, *Rhodotorula glutinis* e *Trichosporon asahii*, produtores de AIA (29,5; 24,1; e 31,7 µg mL⁻¹ respectivamente) e giberelina (6,2; 4,5; e 7,7 µg mL⁻¹ respectivamente), demonstraram capacidade para atuarem como promotores de crescimento e controle biológico de fitopatógenos em beterraba, em experimentos em casa de vegetação (EL-TARABILY, 2004).

O isolado *Lindera (Williopsis) saturnus*, endofítico de raiz de milho, cultivado em meio de cultura GP (Glicose e Peptona), produziu ao final de 7 dias de cultivo, 22,5 µg mL⁻¹ de AIA, e foi capaz de promover o crescimento de raízes e parte aérea de milho sob condições gnotobióticas (cultura pura) (NASSAR; EL-TARABILY; SIVASITHAMPARAM, 2005). O isolado de *Rhodotorula graminis*, cultivado em meio de cultura YEPD, complementado com triptofano, produziu, aproximadamente, 40 µg mL⁻¹ ao final de 7 dias de cultivo (XIN; GLAWE; DOTY, 2009).

3.3 Efeitos fisiológicos dos hormônios em plantas

Nos vegetais superiores, a regulação e a coordenação do metabolismo, o crescimento e a morfogênese dependem de sinais químicos de uma parte da planta para outra. Os vegetais produzem moléculas sinalizadoras, chamadas de hormônios, responsáveis por efeitos marcantes no desenvolvimento em baixas concentrações. O desenvolvimento vegetal é regulado por nove hormônios conhecidos: auxinas, giberelinas, citocininas, etileno, ácido abscísico, brassinosteroides, jasmonatos, ácido salicílico e estrigolactonas (TAIZ *et al.*, 2017). Alterações na concentração hormonal dos tecidos podem mediar toda uma gama de processos de desenvolvimento das plantas, muitos dos quais envolvem interações com os fatores ambientais (CROZIER *et al.*, 2000).

Segundo Davies (2010), as auxinas são consideradas hormônios endógenos, possuindo grande diversidade em relação aos efeitos fisiológicos dos vegetais. Dentre os efeitos relevantes estão: alongamento celular, alongamento de caule, divisão celular, diferenciação do floema e do xilema, redução da senescência de folhas, retardo na abscisão de órgãos e desenvolvimento de partes florais.

As citocininas são hormônios ligados ao crescimento e desenvolvimento dos vegetais, controlando o alongamento celular, a divisão celular, o crescimento e a senescência foliar (NISHIMURA *et al.*, 2004). Esse hormônio regula a inibição da senescência, atuando na síntese de proteína e retardando a queda das folhas e frutos (SALISBURY; ROSS, 2012). Estimula o crescimento pela expansão mais do que pelo alongamento (STOYNOVA *et al.*, 2004).

O etileno é considerado um hormônio vegetal volátil, sendo produzido por quase todos os vegetais, que pode se difundir através de fontes exógenas e endógenas, biológicas e não biológicas, tendo um papel de extrema importância para o amadurecimento e senescência dos frutos (VILAS BOAS, 2002). Duas enzimas específicas controlam a biossíntese do etileno: a sintase do ACC (ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico) e a oxidase do ACC (KLEE *et al.*, 1991).

O principal papel do etileno é o amadurecimento dos frutos, sendo conhecido como o hormônio do amadurecimento, conforme o fruto cresce ocorre aumento na síntese do etileno e ao mesmo tempo aumenta a taxa respiratória, até o momento que atinja um ponto chamado de climatérico. A produção deste hormônio ocorre quando o fruto está maduro e acelera a maturação dos outros frutos (CASTRO; KLUGE; PERES, 2005; VIEIRA *et al.*, 2010). O etileno estimula a germinação e supera a dormência em diversas espécies (ABELES; MORGAN; SALTVEIT, 1992). Em baixas doses, esse hormônio pode promover a germinação e o

crescimento de gemas, estacas, raízes e bulbos, entretanto em concentrações altas pode inibir a germinação (CASTRO; KLUGE; PERES, 2005, VIEIRA *et al.*, 2010).

O ácido abscísico (ABA) é um regulador de crescimento de plantas e pode estar envolvido no controle de diversos processos fisiológicos, como a abertura e fechamento de estômatos, a inibição da germinação de embriões imaturos, a síntese de proteínas de estoque de sementes e a tolerância ao déficit de água e ao estresse hídrico (SATO *et al.*, 2001). É um hormônio vegetal natural, envolvido no controle da expressão genética em importantes processos fisiológicos (LEUNG; GIRAUDAT, 1998). A principal função deste hormônio é controlar o início e a manutenção da dormência de sementes e de gemas e das respostas do vegetal ao estresse, principalmente o estresse hídrico. Pode também influenciar outros aspectos do desenvolvimento de uma planta, por agir antagonicamente com outros fitormônios (TAIZ *et al.*, 2017). Um dos efeitos do ABA é a inibição ou o atraso da germinação de diversas espécies vegetais (VIEIRA *et al.*, 2010). Aplicações diretas de ácido abscísico em brotos não dormentes causam dormência, demonstrando que esse hormônio é um potente inibidor de germinação de sementes. Além disso, quando a dormência é quebrada com algum tipo de tratamento, a concentração deste hormônio diminuiu significativamente (SALISBURY; ROSS, 2012).

Os brassinosteroides (BR) são essenciais para o crescimento e desenvolvimento das plantas, pois regulam a divisão e alongamento celular, o desenvolvimento reprodutivo, a germinação de sementes, a floração, a senescência, a maturação e a abscisão, além de interferem na concentração de outros hormônios (EPHRITIKHINE *et al.*, 1999; KERBAUY, 2012). São derivados do esteroide campesterol, por meio de reações de oxidação e redução. O campesterol é transformado em campestenol, quando este é oxidado a catatesrona e a reasterona são precursores do brassinolídeo. Existem inúmeros BR, que se diferenciam estruturalmente por serem esteroides contendo 27, 28 ou 29 carbonos em sua estrutura (TAIZ *et al.*, 2017).

O ácido jasmônico é derivado de ácidos graxos de 18 carbonos (C18), com três ligações duplas entre carbonos, denominado ácido linolênico, derivado de lipídios da membrana. Sua síntese ocorre por meio do ácido linolênico, que é derivado dos octadecanóicos (FLOSS, 2011). Exerce uma série de efeitos nas plantas, promovendo ou inibindo processos fisiológicos, como: cessar o crescimento longitudinal, o comprimento e duração do crescimento da raiz, a formação de clorofila, a formação de botões florais, o amadurecimento de frutos, a quebra de dormência, a germinação de sementes, a senescência de folhas, a abscisão foliar, a síntese de etileno, o enrolamento de gavinhas, a formação de raízes e apresenta um efeito importante na defesa das plantas, quando ocorre injúria dos órgãos (CASTRO; KLUGE; PERES, 2005; RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2007; FLOSS, 2008).

Esse hormônio tem a capacidade de atuar na expansão e no alongamento celular, melhorando a divisão celular em cultura de tecido, principalmente no enraizamento. O controle do desenvolvimento de raízes é influenciado por reguladores de crescimento, sendo, a auxina o único regulador que aumenta a formação de primórdios radiculares (TAIZ *et al.*, 2017).

A giberelina (GA) é um hormônio vegetal encontrado em raízes, folhas, frutos e plantas em germinação e é conhecida por seus efeitos de alongação de caule. Sua descoberta foi realizada em estudos de um fungo fitopatogênico (*Giberella fujikuroi*), na cultura do arroz (*Oryza sativa*) no ano de 1926, pelo cientista japonês Kurosawa. Entretanto, a ocorrência da doença já era presenciada por orizicultores que a conheciam como “*bakanae* ou doença da planta boba” pois causava um crescimento excepcional das plantas, mas suprimia a produção de sementes (TAIZ *et al.*, 2017).

Dentre as diversas funções desse hormônio estão a promoção da germinação de sementes de características dormentes, o estímulo do crescimento de caules e raízes, também chamado de alongação, a mudança de estado juvenil para fases de reprodução e maturação, a determinação do sexo de flores em algumas espécies e a indução à iniciação floral e ao desenvolvimento e crescimento do tubo polínico (TUDZYNSKI, 1999). A ação das giberelinas ou dos ácidos giberélicos no processo germinativo é bem conhecido.

Segundo Metivier (1979), as giberelinas atuam no controle da hidrólise do tecido de reserva para o fornecimento de energia ao embrião, promovendo o alongamento celular, fazendo a radícula se desenvolver através do endosperma ou tegumento.

Na germinação, o hormônio ativa as enzimas proteolíticas como amilase, protease e ribonuclease, favorecendo a germinação e o vigor da semente. Na ausência do hormônio giberelina, a semente perde a capacidade de germinação. Em algumas espécies vegetais, as sementes são dormentes devido à ausência do hormônio, sendo necessário tratamento com giberelina para superar a dormência. Entre as giberelinas, a GA1 é a mais eficiente, porém com alto valor de mercado (RODRIGUES, 2010).

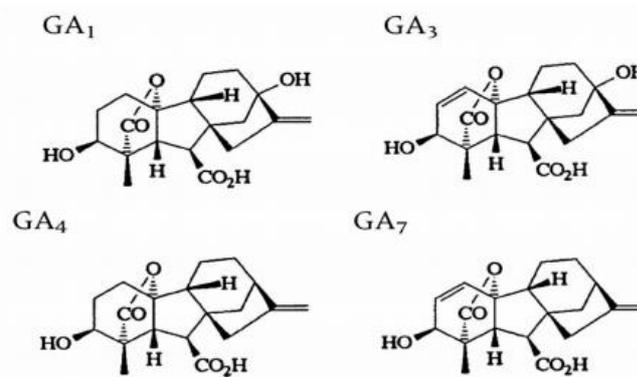
Os efeitos da giberelina no crescimento e desenvolvimento são o estímulo do crescimento do caule em plantas anãs e rosetas, a regulação da transição da fase juvenil para adulta, a influência na iniciação floral e a determinação do sexo, promovendo a frutificação e a germinação de sementes. Os principais usos das giberelinas aplicadas por aspersão ou imersão incluem o controle do cultivo de frutas, a maltagem da cevada e o aumento da produção de açúcar em cana-de-açúcar. Em algumas plantas cultivadas, a redução na altura é desejável, o que pode ser obtido pelo uso de inibidores da síntese de giberelinas (TAIZ *et al.*, 2017).

As giberelinas afetam muitos aspectos do crescimento e desenvolvimento das plantas. Embora seja mais conhecida sua ação no alongamento, GA's também afetam os processos reprodutivos de uma ampla variedade de plantas. Por exemplo, GA's podem induzir a

formação de cones de coníferas, promover a floração das plantas que normalmente exigem um sinal fotoperiódico ou tratamento de frio para floração. Para plantas que necessitam de um ou mais dias longos para floração ou que requerem um tratamento frio, uma aplicação de GA pode substituir o sinal ambiental. Giberelinas retardam a senescência de folhas e frutos e promovem a germinação (HEDDEN; SPONSEL, 2015).

As GA's são sintetizadas em várias partes de uma planta, incluindo as sementes em desenvolvimento, as sementes germinando, as folhas em desenvolvimento e os entrenós em alongamento. A rota biossintética, que inicia nos plastídios, leva à produção de uma molécula precursora linear contendo 20 átomos de carbono: o geranilgeranildifosfato (GGPP), que é convertido em *ent*-caureno. Esse composto é oxidado sequencialmente por enzimas associadas ao retículo endoplasmático, levando à GA12, a primeira GA formada em todas as plantas estudadas até agora. Enzimas dioxigenases no citosol são capazes de oxidar GA12 em todas as outras giberelinas, em rotas que podem ser interconectadas de tal maneira que formam uma complexa grade metabólica. A expressão do gene KNOX1 no meristema apical do caule reduz os níveis de GA por inibição de sua biossíntese e promoção de sua inativação. A biossíntese da GA também é regulada pela inibição por retroalimentação, quando a GA celular excede os níveis do limiar. A aplicação de GA exógena causa regulação para baixo (*down regulation*) dos genes GA20ox e GA3ox, cujos produtos catalisam as duas etapas finais na formação de GA's bioativas (GA1 e GA4) (TAIZ *et al.*, 2017).

As giberelinas pertencentes à classe diterpenóide tetracíclica dos hormônios, compreendem um grupo de mais de 136 constituintes naturais de plantas, mas apenas alguns deles, por exemplo, GA1, GA3, GA4, GA5, GA6 e GA7 exibem atividade biológica (Figura 1).



Giberelinas GA₁, GA₃, GA₄ e GA₇.

Figura 1 Formas bioativas de giberelina.

Fonte: Taiz et al. (2017).

Sua biossíntese é um processo de várias etapas, dividido entre plastídios, retículo endoplasmático e citoplasma e efetuado por diversas famílias de enzimas (Figura 2). A

biossíntese do ent-caureno é restrita a plastídios e catalisada sucessivamente por duas enzimas: ent-copalil difosfato sintase e ent-caureno sintase. As etapas subsequentes estão associadas ao retículo endoplasmático e são catalisadas pelas mono-oxigenases do citocromo P450: ácido ent-caurenóico oxidase (KAO) e giberelina 13-oxidase (GA13ox). A giberelina GA12, um produto da KAO funciona como substrato para a enzima giberelina 20-oxidase (GA20ox) e segue uma via que leva a GA4 e GA7 bioativos. Por outro lado, o GA12 pode ser 13-hidroxilado de GA13ox a GA53, um substrato de entrada para GA20ox em uma via que leva às giberelinas bioativas GA1 e GA3. Em *Arabidopsis*, cinco genes GA20ox são conhecidos. A etapa final na qual as giberelinas bioativas são sintetizadas é realizada pelas giberelinas 3-oxidases (GA3ox), mas a composição e níveis são altamente dependentes das espécies, tecidos e processos envolvidos (IGIELSKI; KĘPCZYŃSKA, 2017).

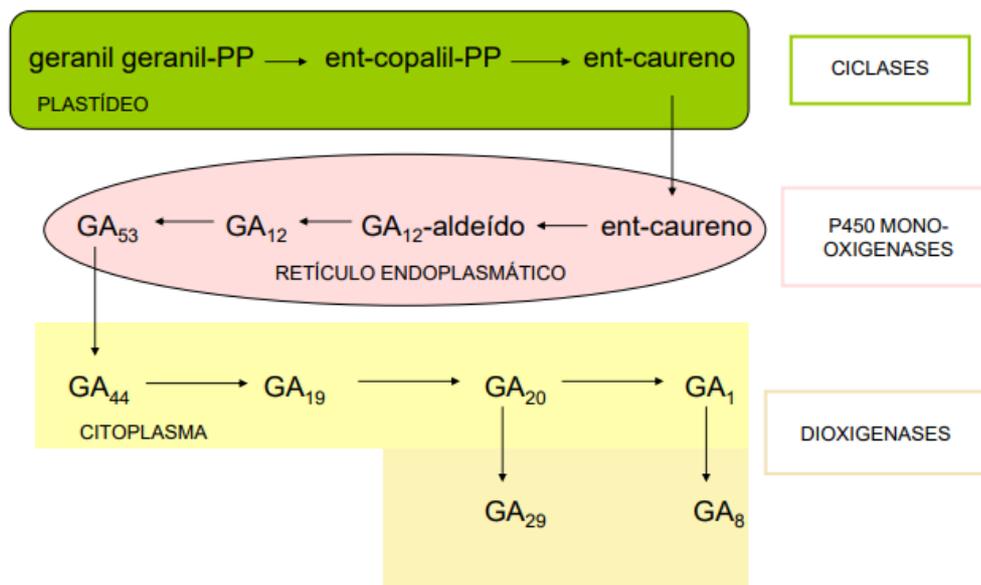


Figura 2 Biossíntese das giberelinas.

Fonte: Taiz et al. (2017).

A giberelina induz novamente a síntese de alfa-amilase e outras enzimas na camada de aleurona de cevada. Devido a esse efeito, as GA's são amplamente utilizadas na indústria de malte para acelerar e regularizar a produção de malte (CROZIER *et al.*, 2000). A germinação de sementes pode exigir giberelinas para uma das possíveis etapas: a ativação do crescimento vegetativo do embrião, o enfraquecimento da camada do endosperma que envolve o embrião e restringe seu crescimento ou a mobilização das reservas energéticas do endosperma. A aplicação de giberelinas estimula a produção de numerosas hidrolases, como a alfa-amilase, pelas células da camada de aleurona dos grãos de cereais em germinação (TAIZ *et al.*, 2017).

Sob condições normais na germinação de sementes, é o embrião que produz giberelina que estimula a camada de aleurona (corpos definidos onde as proteínas são estocadas) a produzir alfa-amilase que, por sua vez, age sobre o amido presente nas células do endosperma para convertê-lo em açúcar, tornando-o disponível ao embrião em crescimento. Nesse sistema a giberelina está atuando como um efetador que ativa os genes controladores da síntese de alfa-amilase, normalmente reprimido (CUTTER, 2002).

Leite, Rosolem e Rodrigues (2003), estudando o efeito de giberelina e citocinina em aplicações foliares para os dois compostos e via sementes para a giberelina, observaram que a aplicação foliar de giberelina aumentou a altura de plantas, área foliar e a produção de matéria seca. A aplicação de citocinina durante o crescimento vegetativo não apresentou efeitos significativos e a aplicação de giberelina mais citocinina diminuiu os efeitos da giberelina.

3.4 Qualidade fisiológica da semente na armazenagem

As sementes são agrupadas em lotes e armazenadas. O armazenamento envolve etapas que vão desde a maturidade fisiológica da semente, ainda no campo, até o momento em que ela é semeada e iniciam os processos de embebição e de germinação (FRANÇA NETO *et al.*, 2016). O maior desafio, porém, está relacionado ao fato de que as sementes, organismos vivos e frágeis, devem apresentar uma porcentagem de germinação razoável (mínimo 80%), após terem sido mecanicamente colhidas, beneficiadas e armazenadas de uma temporada de produção à outra. Assim sendo, o objetivo do armazenamento das sementes é manter a sua qualidade, desde que atingem o ponto de maturidade fisiológica até o momento da semeadura, considerando que, em todo esse período, a qualidade não poderá ser melhorada, apenas mantida (LABBÉ; VILLELA, 2012). Por essa razão, deve-se atentar para o período que antecede o armazenamento, o qual poderá comprometer a viabilidade da semente, uma vez que o nível de qualidade é definido no campo (FRANÇA NETO *et al.*, 2016).

Após o beneficiamento e o tratamento a semente passa pelo processo de ensaque. A escolha da embalagem relaciona-se ao manejo necessário durante o período de armazenamento e transporte, através da resistência à tensão, à ruptura e à proteção contra insetos e roedores. Além disso, a embalagem pode transmitir informações ao usuário, apresentando as características do produto e orientações para sua utilização.

A deterioração das sementes pode estar associada às características das embalagens, dependendo da maior ou menor facilidade que possuam para as trocas de vapor d'água entre as sementes e a atmosfera e das condições do ambiente em que as sementes permanecerão armazenadas. Por essas razões, é importante a escolha do material adequado

para incrementar a qualidade do armazenamento. A função do armazenamento é preservar a qualidade inicial do produto, evitando sua deterioração. Durante o armazenamento os lotes devem ser monitorados quanto à qualidade da semente e quanto à presença de pragas e doenças (MARCOS FILHO, 2005).

A manifestação mais evidente da deterioração é a redução na taxa de crescimento das plântulas, observado na primeira contagem de germinação, na massa seca de plântula, no tamanho da plântula levando a redução de vigor. Além do aumento do número de plântulas anormais, condutividade elétrica, ácidos graxos livres e presença de patógenos. Portanto, a deterioração é um processo gradativo e inicia no ponto de maturidade fisiológica da semente. É inevitável, irreversível e varia entre espécies, variedades e sementes individuais dentro de um mesmo lote (LABBÉ; VILLELA, 2012).

A deterioração determina o desequilíbrio funcional dos tecidos ativos provocando a inativação progressiva do metabolismo construtivo e culminando com a morte. O declínio da viabilidade de sementes com o decorrer do tempo não é a única manifestação do decréscimo do potencial fisiológico. As sementes envelhecidas podem reter sua capacidade de germinar, mas o processo pode se tornar cada vez mais lento e as sementes passam a exibir sensibilidade progressiva a estresses ambientais, antes que a viabilidade apresente decréscimo significativo (MARCOS FILHO, 2015).

A adição de Stimulate® na dose de 500 mL 100 kg⁻¹ ao tratamento industrial de sementes de soja não revestidas com defensivos agrícolas não prejudicou a qualidade fisiológica, independentemente do momento da aplicação, mas quando aplicado em sementes recobertas com fungicidas e inseticidas, resultados superiores de germinação, vigor e produtividade foram obtidos com o uso *on farm* do bioestimulante (PEREIRA *et al.*, 2018).

Ramos *et al.* (2015) relataram que o condicionamento fisiológico em sementes de feijão com Stimulate® a 1% propiciou incremento no crescimento inicial de plântulas e percentual germinativo acima de 80%, após quatro meses de armazenamento em condições ambientais. O tratamento de sementes com o mesmo bioestimulante na dose de 0,75 L 100 kg de semente proporcionou um maior comprimento de plântulas, todavia, ocorreu queda na germinação, na velocidade de germinação e emergência. A cultivar BRS Horizonte obteve melhores resultados de qualidade fisiológica, consequência da melhor qualidade inicial do lote.

Em estudo sobre o armazenamento e a qualidade de sementes de tomate enriquecidas com micronutrientes e reguladores de crescimento Albuquerque *et al.* (2010) concluíram que a combinação dos reguladores de crescimento contidos no produto Stimulate® promove aumento na velocidade de emergência das plântulas de tomate quando aplicados na dose recomendada e na pré-semeadura; a atividade da enzima esterase aumenta com o período de armazenamento das sementes de tomate, indicando aumento no

processo de deterioração; o revestimento enriquecido com os micronutrientes e reguladores de crescimento contidos nos produtos Starter®, Cellerate® e Stimulate® e o armazenamento interferem na atividade da enzima endo- α -mananase em sementes de tomate; há um aumento no teor de proteínas totais em sementes de tomate com o aumento do período de armazenamento.

4.1 Levedura

O isolado da levedura *Rhodotorula glutinis* (AH 14-3) está cadastrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) sob o número A85CDA9 e foi obtido por Heling (2016).

A levedura *Rhodotorula glutinis* (AH 14-3) foi isolada de flores de roseira seguindo a metodologia utilizada por Mautone (2008). Para sua identificação foram realizados testes bioquímicos de fermentação de carboidratos, assimilação de fontes de carbono, assimilação de fontes de nitrogênio, crescimento em temperaturas variadas, tolerância ao ácido acético e osmolaridade, de acordo com a metodologia descrita por Dias e Schwan (2010).

O isolado de *R. glutinis* (Figura 4) foi preservado através do método de Castelani e armazenado em frascos de vidro transparente com capacidade de 10 mL, contendo água destilada, autoclavados (ODDS, 1991).



Figura 4 Isolado de *Rhodotorula glutinis* preservado.

4.1.1 Cultivo da levedura

Para a reativação metabólica e sua manutenção, o isolado *R. glutinis* foi semeado pela técnica de estriamento em placas de Petri, contendo ágar-YEPG (10 g de extrato de levedura, 20 g de peptona, 20 g de glicose e 20 g de ágar), replicado a cada sete dias e mantido em estufa bacteriológica SL 101, Solab a 26 °C. Na sequência, com auxílio de uma alça de platina esterilizada foi transferido o conteúdo de duas alças da cultura para Erlenmeyer, contendo 140 mL de caldo-YEPG (10 g de extrato de levedura, 20 g de peptona e 20 g de glicose) para a produção do exsudado. O material foi mantido sob agitação constante de 150 rpm em mesa agitadora orbital TE 141 Tecnal durante 14 dias. Após esse período, os meios foram centrifugados na Baby I Centrifuge 206 FANEM a 290 g por 5 minutos, efetuando-se a coleta da parte sobrenadante e descarte do *pellet* formado. Em seguida, o sobrenadante foi

transferido para frascos esterilizados e congelado a $-6\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Figura 5). Não foi realizada a filtração do sobrenadante.

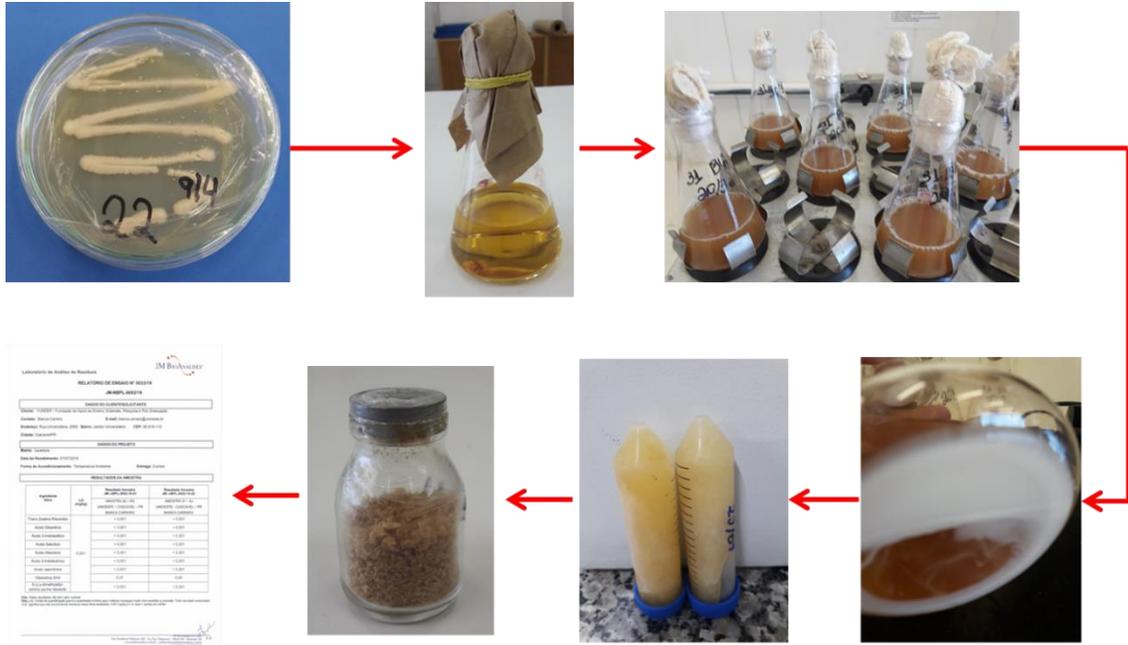


Figura 5 Cultivo da levedura *Rhodotorula glutinis* e obtenção do exsudado.

4.1.2 Liofilização

A liofilização foi realizada como método de preservação dos compostos não voláteis presentes no exsudado da levedura. O método é fundamentado no congelamento de uma amostra seguido da desidratação por sublimação e posterior dessorção. Dessa maneira, os compostos da amostra mantêm suas características e atividade por um longo período.

Os frascos contendo o exsudado da levedura foram inicialmente congelados a $-6\text{ }^{\circ}\text{C}$ e então encaminhados ao liofilizador (Figura 6). O processo ocorreu em condições de vácuo inicial $+ 1760\text{ }\mu\text{Hg}$; vácuo final $0\text{ }\mu\text{Hg}$ e temperatura do condensador $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$. Após 30 horas, houve o fechamento das rolhas de borracha ainda sob condições de vácuo e término do processo. O exsudado liofilizado foi armazenado a $3\text{ }^{\circ}\text{C}$ até sua utilização nos testes.



Figura 6 Liofilizador de bancada Enterprise II Terroni e exsudado liofilizado.

4.1.3 Detecção e quantificação dos fitormônios presentes no exsudado de levedura

As análises do exsudado da levedura *R. glutinis* foram realizadas no Laboratório de Análises de Resíduos JM BioAnálises em Botucatu – SP, pelo método de Cromatografia Líquida Acoplada à Espectrometria de Massa (LC/MS/MS).

As amostras do exsudado líquido congelado e do exsudado liofilizado foram transportadas em caixa térmica via correio. Para proceder a análise, inicialmente, foi preparado um *mix* com os fitormônios a serem testados. Para tanto, foi pesado em balança analítica, aproximadamente, 0,010 g dos padrões analíticos de zeatina ribosídeo trans, ácido giberélico, ácido 3-indolacético, ácido salicílico, ácido abscísico, ácido indol-3-butírico, ácido jasmônico, giberelina GA4 e ribosídeo 6-(γ,γ -dimetilalilamino) purina, em balão volumétrico de 10,0 mL. Completou-se o volume com metanol, levou-se a banho ultrassônico por 5 minutos e agitou-se em vortex por 60 segundos.

Uma solução *mix* de, aproximadamente, 10,00 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em metanol (solução intermediária), foi utilizada para preparar a curva analítica. Essa solução *mix* foi diluída para obtenção das concentrações 200,0; 100,0; 50,0; 25,0; 12,5; 6,25; e 3,125 ng mL^{-1} . Sendo então realizado o cálculo do limite de quantificação (LQ) de 0,001 mg L^{-1} , pela Equação 1.

$$LQ = \frac{10\sigma}{\beta_1} \quad (1)$$

em que:

β : Inclinação da curva de calibração;

σ : Desvio padrão do intercepto com o eixo do Y de, no mínimo, 3 curvas de calibração construídas contendo concentrações do analito, próximas ao suposto limite de quantificação.

A seguir, foi realizada a pesagem em balança analítica, aproximadamente, 0,1 g das amostras e dilui-se em metanol, em balão volumétrico de 10,0 mL. Injetaram-se 20 μL em LC-MS/MS, Cromatógrafo Líquido Varian 325-MS. Fase móvel A – Água deionizada 100%; B

– Metanol 100% (A fase móvel foi composta de 30% do solvente A e 70% do solvente B), em fluxo de 0,25 mL min⁻¹. Foi utilizada como fase estacionária a coluna polaris C18-A (50 x 2,0 mm; 5 µm). Os resultados obtidos foram confrontados com os obtidos para os padrões em detector de espectrometria de massas.

4.2 Procedimentos experimentais

Os experimentos desenvolvidos nesta pesquisa foram planejados e realizados com base em pré-testes que orientaram a tomada de decisão de cada etapa subsequente. Nos testes de tratamento de sementes de alface e soja foi utilizado o exsudado liofilizado e no tratamento de sementes de soja seguido de armazenagem optou-se por usar o exsudado líquido. A dose do exsudado utilizada nos experimentos foi calculada de acordo com a dose recomendada do produto comercial Stimulate® composto por cinetina 0,09 g L⁻¹, ácido giberélico 0,05 g L⁻¹ e ácido 4-indol-3-ilbutírico 0,05 g L⁻¹. Os cálculos das concentrações testadas foram feitos considerando-se a concentração dos fitormônios componentes do Stimulate®, comparando-os com as concentrações de fitormônios presentes no exsudado da levedura.

4.2.1 Tratamento de sementes de alface com exsudado de levedura

Neste experimento o exsudado liofilizado foi utilizado no tratamento de sementes de alface e a escolha da cultura ocorreu devido a sua grande sensibilidade a compostos metabólicos, principalmente no desenvolvimento de plântulas (FERREIRA; ÁQUILA, 2000) se tornando uma planta indicadora em diferentes testes.

O experimento foi realizado como pré-teste para seleção de concentrações do exsudado da levedura baseado nos possíveis efeitos sobre a germinação e o desenvolvimento inicial de sementes de alface.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com cinco tratamentos, contendo quatro repetições com 100 sementes cada, totalizando 400 sementes por tratamento. Os tratamentos foram: testemunha (água destilada), 12,5 mg mL⁻¹, 25,0 mg mL⁻¹, 37,5 mg mL⁻¹ e 50,0 mg mL⁻¹ do exsudado da levedura.

As sementes de alface crespa *Lactuca sativa* da variedade *Grand rapids*, da safra 2015/2015 foram adquiridas comercialmente e pertencem à categoria S2, com 91% de germinação e 99% de pureza. Os tratamentos foram preparados com a pesagem do exsudado de cada concentração em balança analítica e sua ressuspensão em água destilada. As

sementes foram colocadas em sacos plásticos e tratadas com a dose de 1 mL de cada concentração do exsudado, agitadas por 1 min e secas naturalmente por 60 minutos.

O teste de germinação foi realizado com o auxílio de caixas plásticas do tipo Gerbox (unidades experimentais), com duas folhas de papel Germitest umedecidas em água destilada, com 2,5 vezes o peso do papel, acondicionadas em câmara de germinação com cobertura de vidro para entrada de luz natural a 20 °C, por 7 dias (BRASIL, 2009). Os parâmetros avaliados foram: porcentagem de germinação (G%), comprimento médio da parte aérea (CPA), comprimento médio da raiz (CR), massa seca (MS) e índice de velocidade de germinação (IVG).

Para o desempenho de plântula (CPA e CR), a medição foi realizada com auxílio de um paquímetro e os resultados expressos em centímetros (cm). Na determinação da massa seca, retirados os cotilédones, as plântulas foram pesadas em balança analítica, colocadas em sacos de papel e levadas para secar em estufa TE-394/1 TECNAL com circulação forçada de ar regulada a temperatura de 60 °C, por 24 horas. Em seguida, foi realizada a pesagem do material seco em balança analítica Shimadzu AY220, obtendo-se, então, a massa seca, com precisão de 0,001 g. Os resultados foram expressos em gramas por plântula (NAKAGAWA, 1999). Para o cálculo do índice de velocidade de germinação (IVG), a contagem diária do número de sementes germinadas, foi realizada segundo a metodologia proposta por Maguire (1962).

Os dados obtidos foram sujeitos ao teste de normalidade de Anderson-Darling e análise de variância (ANOVA). Quando o p-valor foi significativo para as médias, elas foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de significância. Havendo diferença significativa entre as concentrações foram realizadas análises de regressão pelos programas estatísticos Minitab (MINITAB, 2017) e Sisvar (FERREIRA, 2019).

4.2.2 Efeito do exsudado produzido por levedura e aplicado em sementes de soja sobre o potencial fisiológico

Considerando os resultados obtidos no teste em alface, a quantidade e concentração dos fitormônios detectados no exsudado, os tratamentos para o teste em soja foram dimensionados.

A cultivar de soja TMG 7262 RR tecnologia INOX safra 2017/2018 foi selecionada, dentre outras quatro cultivares testadas, por apresentar os melhores resultados relacionados à promoção de crescimento das plântulas de soja. Essa cultivar se encontra devidamente registrada sob o número 28689 no Registro Nacional de Cultivares, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

A condução do experimento foi realizada em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com sete tratamentos contendo cinco repetições (rolos de papel) com 20 sementes cada, totalizando 100 sementes por tratamento. As concentrações do exsudado produzido pela levedura *Rhodotorula glutinis* foram: 25,0; 50,0; 75,0; 100,0; 125,0 e 150,0 mg mL⁻¹, sendo a testemunha constituída por água destilada.

Os tratamentos foram preparados a partir da reconstituição do exsudado liofilizado em água destilada, seguindo as concentrações testadas. O tratamento das sementes foi realizado na dose de 1 mL para 17 g de sementes (100 sementes) que foram acondicionadas em sacos plásticos com capacidade de 1,0 Kg, agitadas durante um minuto e secas naturalmente por 60 minutos.

O potencial fisiológico das sementes foi avaliado por meio de testes de germinação e vigor associados à análise de imagem fornecida pelo *software* VIGOR-S (GOMES JUNIOR, 2020). Os parâmetros avaliados foram: porcentagem de germinação (G%), comprimento médio do hipocótilo (CH), comprimento médio da radícula (CR), índice de vigor (IV) e índice de crescimento (CR).

Para o teste de germinação, cinco repetições de 20 sementes por tratamento foram distribuídas sobre duas folhas de papel Germitest umedecidas com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes a massa do papel. As sementes, dispostas no sentido longitudinal (duas fileiras no terço superior do papel), foram cobertas com uma terceira folha e os rolos colocados em germinador a 25 °C durante três dias, em ausência de luz (GOMES JUNIOR, 2020). Para a avaliação no *software* VIGOR-S, as plântulas foram digitalizadas na resolução de 300 dpi por meio de escâner HP Deskjet 3522. Posteriormente, as imagens foram analisadas pelo *software*, que forneceu valores numéricos referentes a um índice de vigor (valores de 0 a 1000, diretamente proporcionais ao vigor), ao crescimento das plântulas e à uniformidade de desenvolvimento (também de 0 a 1000), além dos valores do comprimento médio das plântulas, em centímetros (Figura 7).

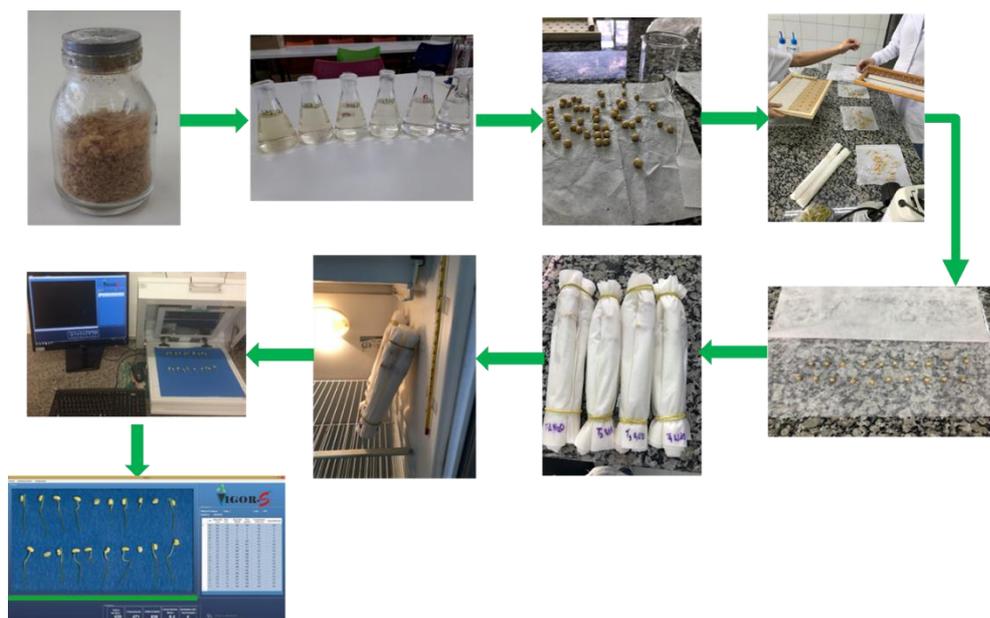


Figura 7 Teste de germinação associado à análise de imagem.

Os dados obtidos foram sujeitos ao teste de normalidade de Anderson-Darling e análise de variância (ANOVA). Quando o p-valor foi significativo para as médias, elas foram comparadas por meio do teste de Tukey, a 5% de significância. Havendo diferença significativa entre as concentrações foram realizadas análises de regressão através do programa estatístico Minitab (MINITAB, 2017) e Sisvar (FERREIRA, 2019).

4.2.3 Potencial fisiológico da soja armazenada após o tratamento das sementes com o exsudado da levedura *Rhodotorula glutinis*

Antes da montagem do experimento, foram realizados pré-testes com o exsudado liofilizado e com o exsudado líquido aplicados nas cultivares de soja TMG 7262 RR e Brasmax Lança 58I60RSF IPRO. Os resultados orientaram a escolha da cultivar Brasmax Lança 58I60RSF IPRO da safra 2019/2020 com 99% de pureza, 91% de germinação, 87% de vigor, pertencente a classe C1. As sementes foram cedidas pela Coopavel Cooperativa Agroindustrial. O cultivar de soja TMG 7262 RR não apresentou o potencial fisiológico necessário para o experimento.

Inicialmente as sementes de soja foram quarteadas e pesadas em 6 amostras de 2 Kg cada uma para realização do tratamento. As concentrações do exsudado da levedura foram determinadas a partir da detecção e quantificação das auxinas ácido 3-indolacético (AIA) e ácido 3-indolbutírico (AIB) no exsudado líquido e da construção de uma curva padrão para o preparo dos tratamentos (Tabela 1). O tratamento das sementes foi realizado na dose de 113 mL para 2 kg de sementes que foram acondicionadas em bandejas plásticas com

capacidade para 5,0 Kg, agitadas até a cobertura de todas as sementes com o exsudado e secas naturalmente por 24 horas.

Tabela 1 Concentrações do exsudado da levedura *Rhodotorula glutinis* para tratamento de sementes de soja

Concentrações (%)	Exsudado da levedura (mL)	Água destilada (mL)
Testemunha	0,0	113,0
25	28,2	84,8
50	56,5	56,5
75	84,8	28,2
100	113,0	0,0

Na sequência, cada amostra de 2 Kg foi dividida em subamostras para a realização dos testes de germinação e vigor ao longo do período de armazenamento. As sementes foram acondicionadas em embalagens de rafia nas dimensões 24x38 cm, com capacidade para 5kg e mantidas por 180 dias (6 meses) em sala arejada, isolada e com controle de temperatura e umidade relativa, para simular a armazenagem em condições de ambiente natural (Figura 8). Durante o período de armazenamento os testes de germinação e vigor foram realizados aos 0, 60 e 180 dias e, precedendo a montagem, foi feito o pré-condicionamento das sementes, de acordo com as recomendações das Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

Para avaliação do potencial fisiológico da soja tratada com o exsudado da levedura e armazenada, o experimento foi conduzido em delineamento em blocos casualizados (DBC) bifatorial 3 x 5, sendo o fator 1 armazenagem (0, 60 e 180 dias) e o fator 2 diferentes concentrações do exsudado da levedura (Testemunha, 25, 50, 75 e 100%), com 4 repetições por tratamento. Os parâmetros avaliados foram a porcentagem de germinação, o comprimento médio da raiz, o comprimento médio da parte aérea, a massa seca, a condutividade elétrica, o índice de velocidade de emergência e a velocidade de emergência.



Figura 8 Tratamento das sementes de soja com exsudado de levedura e armazenamento.

Antes do início dos testes, em cada tempo de armazenamento, foi determinado o teor de água da semente pelo método da estufa (105 °C), de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

Para o teste de germinação, 5 repetições de 20 sementes por tratamento foram distribuídas sobre duas folhas de papel Germitest umedecidas com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes a massa do papel. As sementes, dispostas no sentido longitudinal (duas fileiras no terço superior do papel), foram cobertas com uma terceira folha e os rolos colocados em Demanda Bioquímica de Oxigênio (B.O.D.), a 25 °C com fotoperíodo de 12/12 horas, durante sete dias (BRASIL, 2009). O comprimento médio da raiz e o comprimento médio da parte aérea foram determinados por medição com régua milimetrada e os valores expressos em centímetros.

Na determinação da massa seca, retirados os cotilédones, as plântulas foram pesadas em balança analítica, colocadas em sacos de papel e levadas para secar em estufa TE-394/1 TECNAL com circulação forçada de ar regulada a temperatura de 60 °C, por 24 horas. Em seguida, a pesagem do material seco foi realizada em balança analítica Shimadzu AY220, obtendo-se, então, a massa seca, com precisão de 0,001 g. Os resultados foram expressos em grama por plântula (NAKAGAWA, 1999).

O teste de condutividade elétrica foi realizado com 4 repetições de 50 sementes por tratamento que foram pesadas, colocadas para embeber em 75 mL de água deionizada e mantidas em germinador a 25 °C, por 24 horas. Após a embebição, a condutividade elétrica

da solução foi medida em condutivímetro TEC-4MP TECNAL e os resultados expressos em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ (VIEIRA; MARCOS FILHO, 2020).

No teste de germinação em areia, 4 repetições de 50 sementes por tratamento foram semeadas em areia de granulometria média, primeiro uso e distribuídas em caixas plásticas com capacidade de 3,0 L. O cálculo da capacidade de retenção de água na areia foi realizado de acordo com as Regras para Análise de Sementes (RAS) e o ambiente laboratorial foi mantido climatizado a 25 °C. O experimento foi umedecido com a quantidade de água calculada (BRASIL, 2009).

Para a contagem, foram adotados os critérios de Schuab *et al.* (2006), em que a contagem inicia a partir da primeira plântula emergida com os cotilédones acima do nível da areia e, a partir disso, a contagem foi realizada diariamente, sem remoção das plântulas. Ao fim, foi gerado um valor cumulativo, subtraído da contagem de cada dia anterior, obtendo-se, assim, o número exato de plântulas emergidas em cada dia.

Desses dados, foram determinados a Velocidade de Emergência (VE), segundo Edmond e Drapala (1958) (Equação 2), e o Índice de Velocidade de Emergência (IVE), de acordo com Maguire (1962) (Equação 3).

$$VE = \frac{(N1 \cdot G1) + (N2 \cdot G2) + \dots + (Nn \cdot Gn)}{G1 + G2 + \dots + Gn} \quad (2)$$

$$IVE = \frac{G1}{N1} + \frac{G2}{N2} + \dots + \frac{Gn}{Nn} \quad (3)$$

em que:

G = número de plântulas emergidas observadas em cada contagem;

N = número de dias da semeadura a cada contagem.

Os dados obtidos foram sujeitos ao teste de normalidade de Anderson-Darling e análise de variância (ANOVA). Quando o p-valor foi significativo para as médias, elas foram comparadas por meio do teste de Tukey, a 5% de significância. Havendo diferença significativa entre as concentrações foram realizadas análises de regressão, pelos programas estatísticos Minitab (MINITAB, 2017) e Sisvar (FERREIRA, 2019).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Detecção e quantificação de fitormônios

As análises do exsudado da levedura *Rhodotorula glutinis* (AH 14-3) detectaram síntese de fitormônios (Tabela 2). No exsudado liofilizado houve síntese de 70 $\mu\text{g g}^{-1}$ de giberelina GA4, mas as auxinas ácido 3-indolacético (AIA) e ácido 3-indolbutírico (AIB) não foram detectadas, o que pode ter ocorrido em função do limite de quantificação do método analítico. Porém, no exsudado líquido foram detectados 650 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de ácido 3-indolacético (AIA) e 1,040 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de ácido 3-indolbutírico (AIB), mas não houve detecção da GA4.

Tabela 2 Produção de fitormônios pela levedura *Rhodotorula glutinis* (AH 14-3)

Hormônio	LQ $\mu\text{g g}^{-1}$	<i>R. glutinis</i> liofilizado $\mu\text{g g}^{-1}$	LQ $\mu\text{g mL}^{-1}$	<i>R. glutinis</i> líquido $\mu\text{g mL}^{-1}$
Zeatina ribosídeo trans	0,001	< 0,001	0,01	< 0,01
Ácido giberélico	0,001	< 0,001	0,01	< 0,01
Ácido 3-indolacético	0,001	< 0,001	0,01	650
Ácido salicílico	0,001	< 0,001	0,01	< 0,01
Ácido abscísico	0,001	< 0,001	0,01	< 0,01
Ácido 3-indolbutírico	0,001	< 0,001	0,01	1.040
Ácido jasmônico	0,001	< 0,001	0,01	< 0,01
Giberelina GA4	0,001	70	0,01	< 0,01
Ribosídeo 6- (y,y- dimethylallylamino)	0,001	< 0,001	0,01	< 0,01

Nota: LQ: limite de quantificação.

Essas diferenças podem estar relacionadas ao método de liofilização que, de acordo com Has *et al.* (2020), é utilizado para preservar as células da levedura e seus metabólitos (giberelina GA4). Com relação ao exsudado líquido a ausência da giberelina GA4 pode ter ocorrido devido ao longo período de cultivo da levedura (14 dias). Na Figura 9, visualiza-se a curva de crescimento da levedura com o ponto máximo de síntese de fitormônios entre 20 e 30 horas após o início do cultivo, seguido por uma queda gradual que caracteriza a fase de declínio da curva. Durante o restante do período de cultivo, provavelmente, houve degradação da giberelina influenciada por alterações na composição do meio. Carvalho (2020), trabalhando com o mesmo isolado da levedura, detectou 0,476 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de giberelina do tipo GA4, 0,604 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de ácido 3-indolacético (AIA) e 1,043 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de ácido 3-indolbutírico (AIB) em quantidades muito semelhantes ao detectado no presente estudo, porém em sete dias de cultivo. Assim, entende-se que o período de cultivo da levedura *Rhodotorula glutinis* (AH 14-3) não deve exceder os sete dias.

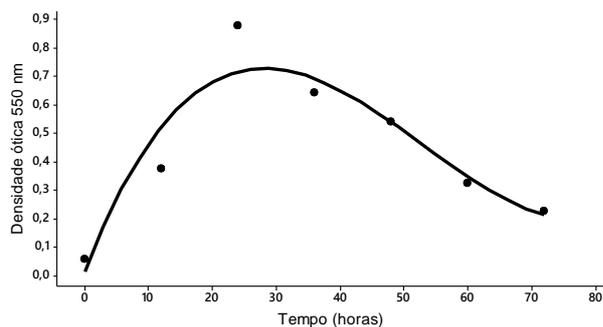


Figura 9 Curva de crescimento da levedura *Rhodotorula glutinis*.

Os mecanismos de síntese de auxinas por leveduras têm sido relatados de duas formas: dependente e independente de triptofano (Trp). A produção é regulada por vários fatores como a cepa utilizada, sua fase de crescimento, a concentração do precursor e os componentes do meio de cultivo. Assim, cada levedura tem suas características para síntese de auxinas (FERNANDEZ-SAN MILLAN *et al.*, 2020; HERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ *et al.*, 2021). No presente estudo, o método utilizado para o cultivo da levedura e produção do exsudado não foi acrescido de qualquer precursor de síntese de AIA. Por esse motivo, acredita-se que a levedura *Rhodotorula glutinis* utilize vias independentes de triptofano para sintetizar auxinas.

A síntese de fitormônios por leveduras tem sido amplamente apresentada na literatura como uma alternativa sustentável para a agricultura (HERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ *et al.*, 2021), podendo atuar como biofertilizantes na promoção de crescimento das plantas (FU *et al.*, 2016; PENG *et al.*, 2018; PANDI *et al.*, 2019).

De acordo com Nutaratat *et al.* (2014), os níveis de síntese de fitormônios por leveduras são considerados altos quando detectados acima de 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Sendo assim, a levedura *Rhodotorula glutinis* utilizada neste trabalho apresentou um nível alto de síntese de giberelina (70 $\mu\text{g g}^{-1}$), mostrando seu potencial na promoção do crescimento de plantas.

Em estudo avaliando a capacidade da levedura *Saccharomyces cerevisiae* para produção de giberelina Tawfiq, AL-Shaheen e AL-Ani (2018) constataram a síntese de 799 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de GA3 em meio líquido. Também Pandi *et al.* (2019) detectaram altos níveis (aprox. 1.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$) de giberelina GA3 em isolados de leveduras do solo. Assim como Carvalho (2020), que demonstrou a síntese de 0,476 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de giberelina GA4, a partir do mesmo isolado de levedura do presente estudo.

Outra classe de fitormônio sintetizada por leveduras são as auxinas, que apresentam funções relacionadas ao alongamento e divisão celular e têm como principal representante o ácido 3-indolacético (AIA) (TAIZ *et al.*, 2017). Neste estudo, a levedura *Rhodotorula glutinis* sintetizou 650 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de AIA e 1.040 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de AIB que, segundo Nutaratat *et al.* (2014),

são considerados valores altos de auxinas. O efeito do ácido 3-indolacético está na promoção de crescimento de raízes e caules, pelo alongamento das células recém-formadas nos meristemas; já o ácido 3-indolbutírico é uma forma mais estável do AIA diretamente relacionada com o desenvolvimento das raízes (TSAVKELOVA *et al.*, 2007; GLICK, 2012; FRICK; STRADER, 2018).

Outros autores também identificaram a síntese de auxina pelo gênero *Rhodotorula*, o que comprova a capacidade dessa levedura de promover o crescimento e desenvolvimento das plantas. Ignatova *et al.* (2015) relataram a síntese de 45,3 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de auxina por um isolado de *R. mucilaginosa*, assim como El-Tarabily (2004) que, trabalhando com um isolado de *R. glutinis*, observou a produção de 24,1 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de auxina. A variação nos resultados pode ser explicada pelo método utilizado para a detecção dos hormônios. Os autores quantificaram por colorimetria, sendo a precisão desse método inferior a do método de cromatografia líquida de alta eficiência, acoplada a espectrômetro de massas. Nutaratat *et al.* (2014) também relataram a produção de 2,8 mg g^{-1} e 29,3 mg g^{-1} de ácido 3-indolacético, pelos isolados *R. taiwanensis* e *R. paludigenum*, respectivamente.

Diante dos resultados apresentados, verificou-se que tanto o exsudado liofilizado quanto o exsudado líquido da levedura têm potencial para promover o crescimento e o desenvolvimento de plantas. Esse fato direcionou a pesquisa para os ensaios com testes de diferentes concentrações dos exsudados no tratamento de sementes de alface e soja.

5.2 Tratamento de sementes de alface com exsudado liofilizado de levedura

A análise descritiva e a análise de variância, para as diferentes concentrações do exsudado de levedura em sementes de alface (Tabela 3), indicaram normalidade nos dados das variáveis analisadas pelo teste de Anderson-Darling. Para o teste F (p-valor), houve diferença significativa para comprimento de parte aérea (CPA) e comprimento da raiz (CR), com valores de 0,001 e 0,008, respectivamente. As variáveis porcentagem de germinação (G%), índice de velocidade de germinação (IVG) e massa seca (MS) não apresentaram diferença significativa.

Tabela 3 Resumo da análise descritiva e da análise de variância para as diferentes concentrações do exsudado de levedura em sementes de alface

	G (%)	IVG	CPA (cm)	CR (cm)	MS (g)
Média	99,15	30,97	1,378	1,523	0,071
C.V. (%)	1,24	20,14	21,71	24,29	7,15
Anderson-Darling	0,005	0,065 ^{ns}	0,487 ^{ns}	0,060 ^{ns}	0,655 ^{ns}
p-valor ANOVA	0,153 ^{ns}	0,067 ^{ns}	0,001 [*]	0,008 [*]	0,433 ^{ns}

Notas: Porcentagem de germinação (%G), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR) e massa seca (MS).

C.V. = coeficiente de variação; ns = não significativo; * = significativo pelo teste F ($p \geq 0,05$).

Dentre as variáveis analisadas (Tabela 4), a porcentagem de germinação (%G) se destacou na presença de $12,5 \text{ mg mL}^{-1}$ do exsudado, indicando 100% de germinação das sementes de alface, porém, não houve diferença estatística entre as concentrações, quando comparadas à testemunha. Esse resultado pode estar relacionado aos parâmetros de vigor e germinação iniciais da semente.

Para o índice de velocidade de germinação (IVG) e massa de matéria seca (MS) as concentrações do exsudado da levedura também não apresentaram diferença significativa, mesmo que quanto maiores os valores, maior seja a velocidade de germinação e o tamanho da plântula, respectivamente. Fernandez-San Millan *et al.* (2020) relataram resultados semelhantes para porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação, quando testaram o efeito da inoculação de suspensão celular de 69 leveduras em sementes de tabaco e alface. No entanto, observaram aumento significativo da massa de matéria seca das plântulas, diferindo do presente estudo. Cabrini, Sala e Magri (2019), trabalhando com inoculação de células da levedura *Torulaspora globosa* em sementes de alface, também observaram aumento na massa seca de raízes e um incremento de 27% na massa fresca da parte aérea da alface, relacionado à síntese de AIA pela levedura.

Tabela 4 Valores médios obtidos para porcentagem de germinação (%G), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR) e massa seca (MS) em sementes de alface tratadas com diferentes concentrações do exsudado da levedura *Rhodotorula glutinis*

Concentrações do exsudado da levedura	G (%)	IVG	CPA (cm)	CR (cm)	MS (g)
Água	99,50	23,22	1,16 a	1,25 a	0,07
$12,5 \text{ mg mL}^{-1}$	100,00	32,47	1,17 a	1,17 a	0,07
$25,0 \text{ mg mL}^{-1}$	98,75	34,43	1,27 a	1,42 a	0,07
$37,5 \text{ mg mL}^{-1}$	99,50	32,76	1,45 ab	1,52 ab	0,08
$50,0 \text{ mg mL}^{-1}$	98,00	31,97	1,83 b	2,04 b	0,07

Nota: Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de significância.

As sementes de alface tratadas com as concentrações 37,5 mg mL⁻¹ e 50,0 mg mL⁻¹ do exsudado da levedura apresentaram os valores 1,45 cm e 1,83 cm, respectivamente, referentes ao comprimento da parte aérea (CPA). A concentração 37,5 mg mL⁻¹ não diferiu estatisticamente da água, da concentração 12,5 mg mL⁻¹ e 25,0 mg mL⁻¹, porém, em 50,0 mg mL⁻¹ do exsudado, observou-se diferença significativa quando comparada às demais concentrações, evidenciando o efeito promotor de crescimento. Com relação à variável comprimento de raiz (CR), a concentração 50,0 mg mL⁻¹ do exsudado foi a de maior destaque, apresentando 2,04 cm, estatisticamente igual a 37,5 mg mL⁻¹, mas diferindo das demais concentrações (Tabela 4).

Na Figura 10, visualizam-se as linhas de tendência desenhadas a partir da análise de regressão significativa para o modelo quadrático no CPA e no CR das plântulas de alface.

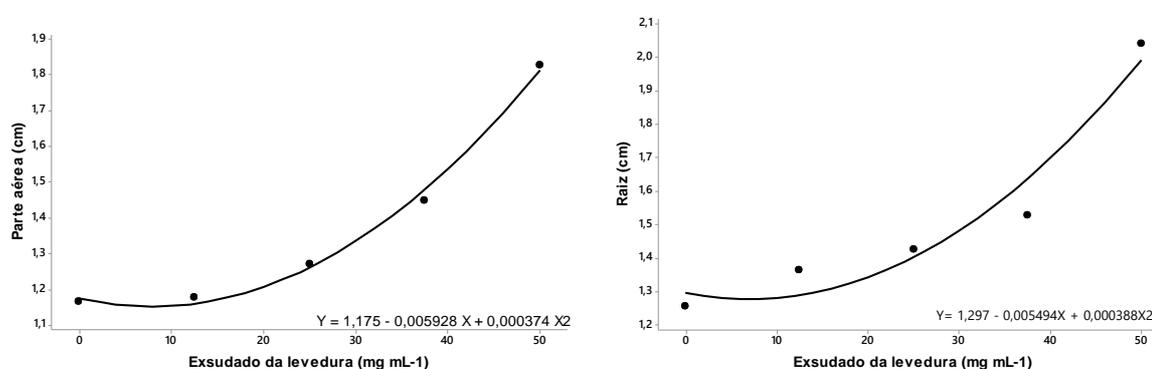


Figura 10 Análise de regressão do comprimento da parte aérea (CPA) e do comprimento de raiz (CR) de plântulas de alface tratadas com diferentes concentrações do exsudado da levedura *Rhodotorula glutinis*.

Verifica-se claramente que existe uma relação diretamente proporcional entre o desempenho de plântula e a concentração do exsudado. Conforme aumenta a concentração do exsudado da levedura, ocorre também aumento do comprimento de parte aérea e raiz das plântulas de alface. Esse comportamento pode estar relacionado à presença de giberelina GA4 no exsudado da levedura, conforme resultado apresentado na Tabela 2. Segundo Hedden e Sponsel (2015), o alongamento celular em caules e raízes é o efeito mais comum das giberelinas no crescimento das plantas e ocorre devido ao relaxamento da parede celular e não ao aumento de turgidez da célula. Binenbaum, Weinstain e Shani (2018) relataram que as giberelinas bioativas, como a GA4, podem permanecer acumuladas em locais específicos como na zona de alongamento da raiz e no hipocótilo, o que promove diretamente o crescimento das plantas, o que é corroborado pelos resultados desta pesquisa.

Trabalho realizado por Nassar, El-Tarabily e Sivasithamparam (2005) identificaram que a levedura *Williopsis saturnus* produz ácido indolacético (AIA) *in vitro* e promove o desenvolvimento dos brotos e raízes de plântulas de milho. Em complemento a esse fato, Oliveira (2016) testou linhagens de leveduras (*Torulasporea globosa*, *Trichosporon asahii*,

Rhodotorula mucilaginosa e *Meyerozyma guilliermondii*) para o desenvolvimento de tecido vegetal, avaliando *in vitro* a síntese de ácido 3-indolacético e a solubilização de fosfato.

Este experimento revelou que a concentração de 50 mg mL⁻¹ do exsudado liofilizado da levedura aumentou 58% o comprimento da parte aérea e 74% o comprimento da raiz. Os números confirmam a efetividade do exsudado da levedura para o crescimento das plântulas de alface. Esse ótimo resultado instigou a continuidade dos testes, com a reorganização das concentrações do exsudado em sementes de soja.

5.3 Efeito do tratamento de sementes de soja com exsudado da levedura *Rhodotorula glutinis* sobre o potencial fisiológico

A análise descritiva e a análise de variância, para as diferentes concentrações do exsudado de levedura em sementes de soja (Tabela 5) indicaram normalidade nos dados das variáveis analisadas pelo teste de Anderson-Darling. Para o teste F (p-valor) houve diferença significativa para comprimento do hipocótilo (CH), comprimento da raiz (CR), índice de vigor (IV) e índice de crescimento (IC). No entanto, a porcentagem de germinação (G%) não foi significativa. Na sequência, foi realizada a análise de regressão para CH, CR, IV e IC, porém, não apresentaram diferença significativa para os modelos testados.

Tabela 5 Resumo da análise descritiva e da análise de variância para as diferentes concentrações do exsudado de levedura em sementes de soja

	G (%)	CH (cm)	CR (cm)	IV	IC
Média	97,85	1,644	4,049	501,4	449,9
C.V. (%)	3,34	16,6	23,71	28,18	22,97
Anderson-Darling	0,005	0,200 ^{ns}	0,111 ^{ns}	0,584 ^{ns}	0,115 ^{ns}
p-valor ANOVA	0,121 ^{ns}	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*

Notas: C.V. = coeficiente de variação; ns = não significativo; * = significativo pelo teste F (p≥0,05).

Porcentagem de germinação (%G), comprimento do hipocótilo (CH), comprimento de raiz (CR) e índice de vigor (IV) e índice de crescimento (IC).

O exsudado produzido pela levedura *Rhodotorula glutinis* apresentou efeito benéfico sobre o potencial fisiológico das sementes de soja. As variáveis comprimento do hipocótilo (CH), comprimento da raiz (CR), índice de vigor (IV) e índice de crescimento (IC) apresentaram os maiores valores para a concentração de 25,0 mg mL⁻¹, diferindo significativamente da testemunha; a porcentagem de germinação variou entre 94 e 99%, mas sem diferença estatística (Tabela 6). Para Marcos Filho (2015), o vigor é reflexo de um conjunto de características ou propriedades que determinam o potencial fisiológico da semente. Com relação ao desempenho de plântula, expresso no comprimento do hipocótilo

(CH) e no comprimento da raiz (CR), a testemunha não diferiu significativamente das concentrações de 50,0; 75,0; 100,0; 125,0 e 150,0 mg mL⁻¹. A diferença foi significativa na concentração de 25,0 mg mL⁻¹, chegando a 55% de incremento hipocótilo e 164% de aumento da radícula; na concentração de 100,0 mg mL⁻¹, foram apresentados os menores valores, 1,334 e 2,778 cm para comprimento do hipocótilo e comprimento da radícula, respectivamente. Esses resultados demonstraram que a giberelina GA4 presente no exsudado da levedura estimulou a germinação e o desenvolvimento das plântulas de soja, assim como apresentado e discutido nos resultados obtidos no estudo da alface.

Tabela 6 Valores médios obtidos no teste de germinação para porcentagem de germinação (%G), comprimento do hipocótilo (CH), comprimento da raiz (CR), índice de vigor (IV) e índice de crescimento (IC) em sementes de soja tratadas com o exsudado da levedura *Rhodotorula glutinis*

Concentrações do exsudado	G (%)	CH (cm)	CR (cm)	IV	IC
Testemunha	98,00	1,524 abc	2,552 a	384,00 ab	289,42 a
25,0 mg mL ⁻¹	99,00	2,078 d	6,750 d	734,24 d	741,86 c
50,0 mg mL ⁻¹	99,00	1,450 ab	2,834 ab	376,02 a	318,28 a
75,0 mg mL ⁻¹	99,00	1,712 bc	4,194 abc	521,34 abc	466,26 ab
100,0 mg mL ⁻¹	97,00	1,334 a	2,778 ab	397,76 abc	311,34 a
125,0 mg mL ⁻¹	94,00	1,612 abc	4,766 cd	553,26 c	525,92 b
150,0 mg mL ⁻¹	99,00	1,804 cd	4,468 bc	543,28 bc	496,10 ab

Nota: As médias de cada tratamento seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey, a 5% de significância.

Taiz *et al.* (2017) justificam que pequenas quantidades de fitormônios são capazes de inibir ou regular o crescimento e desenvolvimento das plantas. Outros estudos semelhantes a este utilizando exsudado de leveduras também relataram estímulo na germinação e comprimento da raiz de soja na concentração de 25,0 mg mL⁻¹, resultados corroborados por este estudo (WEBER *et al.*, 2020; CARRARO *et al.*, 2022).

Quanto aos índices de vigor (IV) e de crescimento (IC) das plântulas de soja, a concentração de 25,0 mg mL⁻¹ apresentou valores de 734,2 e 741,8, correspondendo a 91 e 156% de aumento desses índices. Houve diferença significativa entre a concentração de 25,0 mg mL⁻¹ e as demais concentrações, incluindo a testemunha (Tabela 6). De acordo com Gomes-Junior (2020), os valores de índice de vigor entre 600 e 799 representam alto vigor, o que é corroborado pelos resultados desta pesquisa, uma vez que esse índice é calculado com base no desempenho de plântula.

Os resultados do tratamento de sementes de soja com o exsudado da levedura sobre o potencial fisiológico confirmaram o efeito benéfico da giberelina GA4 presente no exsudado em alface. Esse fato instigou a continuidade da investigação dos efeitos do exsudado líquido contendo auxinas, em condição de armazenamento em soja.

5.4 Potencial fisiológico da soja armazenada após o tratamento das sementes com exsudado de levedura

As sementes de soja apresentaram características fisiológicas iniciais de 91% de germinação e 87% de vigor. O teor de água no início do período de armazenamento foi de 10,97%, o que indica a integridade das membranas celulares. Conforme Smaniotto *et al.* (2014), valores abaixo de 12% de umidade tendem a manter a qualidade elevada, preservando o vigor das sementes.

As análises de variância evidenciaram efeitos significativos para germinação, comprimento de raiz, comprimento de parte aérea, massa seca, condutividade elétrica, índice de velocidade de emergência e velocidade de emergência, em função do tempo de armazenamento (A). Para as concentrações do exsudado da levedura (E), observou-se significância nas variáveis condutividade elétrica e índice de velocidade de emergência. Com relação à interação entre o tempo de armazenamento e as concentrações do exsudado (A x E), houve significância apenas para o índice de velocidade de emergência (Tabela 7).

Tabela 7 Análise de variância para porcentagem de germinação (G%), comprimento de raiz (CR), comprimento de parte aérea (CPA), massa seca (MS), condutividade elétrica (CE), índice de velocidade de emergência (IVE) e velocidade de emergência (VE) em sementes de soja tratadas com exsudado de levedura em função do tempo de armazenamento

Tratamentos	G (%)	CR (cm)	CPA (cm)	MS (g)	CE		
					($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$)	IVE	VE (dias)
Armazenagem (A)	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
Exsudado (E)	0,463	0,190	0,587	0,659	0,054*	0,004*	0,334
A x E	0,864	0,738	0,979	0,861	0,090	0,000*	0,205
CV (%)	10,28	8,65	11,58	12,04	9,44	9,85	7,35

Notas: *significativo ao nível de 5% de probabilidade; CV: coeficiente de variação.

Na Tabela 8 são apresentados os valores médios para todas as variáveis analisadas, em relação ao tempo de armazenamento das sementes de soja. Para a porcentagem de germinação, as sementes de soja apresentaram 83,5% no início do armazenamento (tempo 0), diferindo significativamente de 68,7 e 69,4% aos 60 e 180 dias, respectivamente. Esses números revelam que, nas condições experimentais, houve redução da porcentagem de germinação, evidenciando o processo de deterioração das sementes ao longo do tempo de armazenagem. Resultados semelhantes foram observados por Almeida *et al.* (2014) aos 180 dias, Smaniotto *et al.* (2014) aos 180 dias e Pereira *et al.* (2021) aos 90 dias, em soja tratada com bioestimulante e armazenada. Esses autores afirmam que independente do produto utilizado no tratamento de sementes ocorre deterioração, processo caracterizado por

desorganização da membrana celular, diminuição na taxa de transpiração, alterações na biossíntese de compostos e mobilização de reservas (MARCOS FILHO, 2015).

Quanto ao comprimento da raiz (CR) das plântulas, houve diferença significativa de tamanho ao longo do tempo. Entre 0 e 60 dias, observou-se redução no tamanho da raiz de 9,18 cm no tempo 0 para 7,58 cm aos 60 dias; aos 180 dias detectou-se 88% de aumento no tamanho da raiz com relação aos 60 dias, chegando a 14,30 cm. A variável comprimento da parte aérea (CPA) apresentou comportamento semelhante ao CR, também diferindo significativamente durante o período de armazenamento. Os valores médios aos 0 e 60 dias foram de 8,28 e 7,55 cm, respectivamente. Aos 180 dias, com 10,83 cm, ocorreu aumento de 40% no tamanho da parte aérea.

A massa de matéria seca apresentou diferença significativa entre 0, 60 e 180 dias, ocorrendo redução aos 60 dias e aumento da massa de matéria seca aos 180 dias. A massa de matéria seca representa a transferência de matéria seca dos tecidos de reserva da semente para o eixo embrionário, o que foi constatado neste experimento. De acordo com Nakagawa (1999), quanto maior o peso das plântulas, mais vigorosas elas são.

Tabela 8 Valores médios para porcentagem de germinação (%G), comprimento da raiz (CR), comprimento da parte aérea (CPA), massa seca (MS), condutividade elétrica (CE), índice de velocidade de emergência (IVE) e velocidade de emergência (VE) em sementes de soja tratadas com o exsudado da levedura *Rhodotorula glutinis* e armazenadas por 180 dias

Armazenagem (dias)	G (%)	CR (cm)	CPA (cm)	MS (g)	CE ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$)	IVE	VE (dias)
0	83,55 a	9,18 b	8,28 b	0,44 b	15,47 b	18,44 a	2,89 a
60	68,70 b	7,58 c	7,55 c	0,33 c	15,75 b	11,69 b	4,17 b
180	69,40 b	14,30 a	10,53 a	0,50 a	10,27 a	8,12 c	5,08 c
CV (%)	9,86	8,61	10,83	11,42	10,46	13,04	7,61
p-valor	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Notas: As médias de cada tempo de armazenagem seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey, a 5% de significância. CV: coeficiente de variação.

Relacionando os resultados do desempenho de plântula, expressos no comprimento da raiz e da parte aérea e na massa seca, observa-se um comportamento semelhante em função do tempo de armazenamento, sendo o valor de massa seca aos 180 dias um reflexo direto do crescimento das plântulas também aos 180 dias (Tabelas 8). Esses resultados revelam que as sementes de soja mantiveram o vigor e a viabilidade com relação ao armazenamento, apesar do processo de deterioração demonstrado pela redução da porcentagem de germinação. Outro aspecto relacionado ao crescimento das plântulas e aumento da massa de matéria seca é o exsudado de levedura utilizado no tratamento das sementes de soja. Na composição do exsudado líquido foram detectadas as auxinas ácido 3-indolacético (AIA) e ácido 3-indolbutírico (AIB), que atuam no alongamento celular, no alongamento de caule, na divisão celular e na diferenciação do floema e do xilema. Diante

dos resultados obtidos, acredita-se que as auxinas presentes no exsudado da levedura estimularam o desenvolvimento das plântulas. Da mesma forma, Weber *et al.* (2020) e Carraro *et al.* (2022) constataram efeito estimulante no crescimento da raiz de soja tratada com exsudado de levedura nas concentrações de 25,0 mg mL⁻¹ e 50,0 mg mL⁻¹, respectivamente. O controle do desenvolvimento de raízes é influenciado por reguladores de crescimento, sendo, a auxina o único regulador que aumenta a formação de primórdios radiculares (TAIZ *et al.*, 2017).

O teste de condutividade elétrica demonstra o vigor da semente após os tratamentos, indicando a lixiviação de moléculas através dos tecidos da semente. Dessa forma, quanto menor o valor expresso, maior é o vigor. No entanto, cabe lembrar que sua avaliação tem correlação negativa quanto aos dados do desempenho de plântula, pois, nesses resultados, quanto maior o valor, melhor o potencial fisiológico das sementes (SCHUAB *et al.*, 2006). Quando comparados os resultados ao longo do tempo, observa-se que entre 0 e 60 dias não houve diferença significativa. As médias se mantiveram em 15,47 e 15,75 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$, respectivamente, mas aos 180 dias constatou-se 10,27 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$, o que representa 35% de redução da condutividade elétrica, sugerindo que o vigor da semente testada foi mantido aos 6 meses de armazenamento. Pereira *et al.* (2021) também relataram redução nos valores de condutividade elétrica em sementes de soja tratadas com bioestimulante e micronutrientes ao longo de 90 dias de armazenamento; Weber *et al.* (2021) e Carraro *et al.* (2022), trabalhando com leveduras no tratamento de sementes de soja, não obtiveram diferença significativa para condutividade elétrica. Binsfeld *et al.* (2014) afirmam que todo tratamento de sementes não depende exclusivamente do potencial do produto utilizado, pois sua eficiência também é influenciada pela qualidade fisiológica da semente.

Ainda na Tabela 8, o índice de velocidade de emergência (IVE) e a velocidade de emergência (VE) apresentaram diferença significativa para os três tempos de armazenamento. Observou-se que no tempo 0 os valores tanto para IVE (18,44) quanto para VE (2,89 dias), indicaram que as sementes estavam vigorosas. Aos 60 e 180 dias, verificou-se redução do número de sementes emergidas por dia (IVE) e aumento do número de dias para a emergência das sementes (VE), sugerindo redução do vigor.

Conforme análise de variância (ANOVA), apresentada na Tabela 7, as variáveis condutividade elétrica e índice de velocidade de emergência foram significativas para as concentrações do exsudado da levedura. Na Figura 11, visualizam-se as linhas de tendência, desenhadas a partir da análise de regressão significativa para o modelo linear na condutividade elétrica e para o modelo polinomial no índice de velocidade de emergência em sementes de soja.

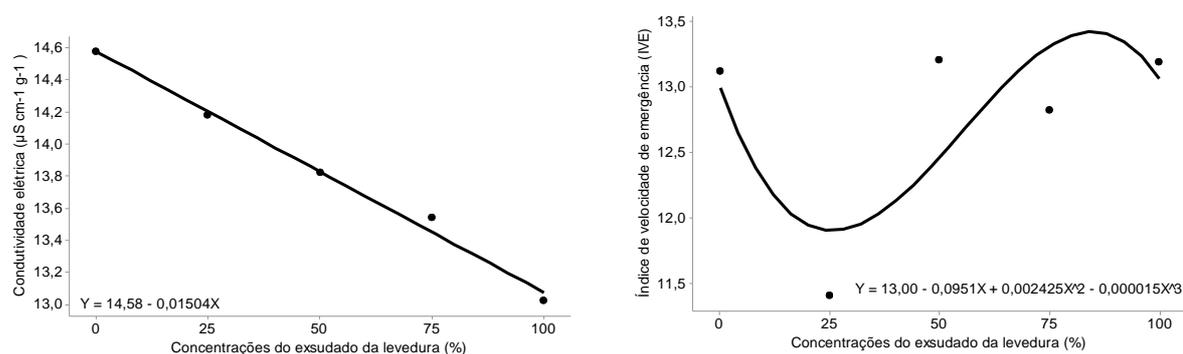


Figura 11 Análise de regressão para condutividade elétrica (CE) e índice de velocidade de emergência (IVE) em sementes de soja tratadas com diferentes concentrações do exsudado da levedura *Rhodotorula glutinis* e armazenadas.

A condutividade elétrica apresentou tendência linear, ou seja, conforme houve aumento nas concentrações do exsudado da levedura, os valores de CE reduziram, evidenciando um efeito benéfico para a manutenção do vigor das sementes de soja, o que também foi relatado com relação ao tempo de armazenamento. Quanto ao índice de velocidade de emergência, relacionado ao efeito das concentrações do exsudado da levedura, observa-se redução de IVE na concentração de 25%, diferindo da testemunha, seguido por uma tendência de aumento do índice nas concentrações de 50 e 75% do exsudado.

Na análise da Tabela 9, onde estão apresentados os resultados do índice de velocidade de emergência na interação entre diferentes concentrações do exsudado da levedura em função do tempo de armazenamento em soja, observa-se que aos 0 e 60 dias de armazenamento não houve diferença significativa entre as concentrações do exsudado da levedura; aos 180 dias, a concentração de 25% do exsudado apresentou o menor valor, correspondente ao menor vigor, diferindo das demais concentrações. Segundo Kryzanowski *et al.* (2020), o índice de velocidade de emergência indica o número de dias necessários para a maior parte das plântulas emergir, assim, quanto maior o valor obtido, maior é a velocidade de emergência e, conseqüentemente, maior o vigor das sementes. Floss (2011) afirma que, durante o processo de germinação, as auxinas estão integradas na permeabilidade das membranas celulares e na translocação das giberelinas das células embrionárias para o endosperma, contribuindo para o alongamento e divisão celular, auxiliando o crescimento de plântulas.

Resultado semelhante foi encontrado por Weber *et al.* (2021), quando trataram sementes de soja com exsudado da levedura *Sporidiobolus johnsonii* na concentração de 50,0 mg mL⁻¹. No início do armazenamento, tempo 0, foram observados os maiores índices de velocidade de emergência, seguidos dos resultados obtidos aos 60 dias, sendo diferentes entre si. As concentrações do exsudado de 50 e 75% mantiveram os resultados aos 180 dias

de armazenamento, sendo estatisticamente iguais aos resultados obtidos aos 60 dias, o que indica a manutenção da qualidade das sementes.

Tabela 9 Valores médios do índice de velocidade de emergência (IVE) na interação entre diferentes concentrações do exsudado da levedura em função do tempo de armazenamento em sementes de soja

Concentrações do exsudado (%)	Tempo de Armazenamento (dias)		
	0	60	180
0	18,390 a A	12,197 a B	8,792 b C
25	18,080 a A	11,865 a B	4,307 a C
50	17,745 a A	11,877 a B	10,00 b B
75	18,815 a A	10,862 a B	8,792 b B
100	19,167 a A	11,682 a B	8,742 b C
CV (%)	9,85		
DMS Coluna	2,52		
DMS Linha	2,15		

Notas: Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de significância; CV: Coeficiente de variação; DMS: Diferença mínima significativa.

A análise da relação entre porcentagem de germinação, índice de velocidade de emergência e velocidade de emergência apontou redução significativa aos 180 dias de armazenagem, evidenciando um processo de deterioração das sementes seguido por queda de vigor. Quanto às variáveis comprimento de raiz, comprimento de parte aérea e massa seca, observou-se maiores valores aos 180 dias de armazenamento, sugerindo aumento do vigor das sementes. A condutividade elétrica apresentou menores valores ao longo do tempo, também sugerindo aumento do vigor. O efeito das concentrações do exsudado da levedura *Rhodotorula glutinis* foi positivo para a redução da condutividade elétrica, contribuindo para a manutenção do vigor das sementes de soja. Na interação entre as concentrações do exsudado da levedura e o tempo de armazenamento dos 60 aos 180 dias o vigor da semente foi mantido, diferindo estatisticamente das demais concentrações inclusive a testemunha.

Considerando os resultados encontrados na pesquisa, acredita-se que o exsudado da levedura *Rhodotorula glutinis* tenha ação promotora da germinação e crescimento de plantas em função dos fitormônios presentes. Além disso, nas concentrações de 50 e 75% o vigor e a qualidade das sementes de soja foram mantidos aos 180 dias de armazenamento. Outros estudos poderão elucidar os mecanismos de ação dos fitormônios e detectar a presença de outras moléculas promotoras de crescimento vegetal.

6 CONCLUSÕES

Considerando-se as condições de desenvolvimento da pesquisa e a metodologia empregada, conclui-se que:

- No exsudado liofilizado da levedura *Rhodotorula glutinis* (AH 14-3) houve síntese de giberelina do tipo GA4 e no exsudado líquido foram detectadas auxinas como ácido 3-indolacético (AIA) e ácido 3-indolbutírico (AIB) que promoveram a germinação e o crescimento de plântulas de alface e soja.

- Em alface, o efeito do exsudado da levedura foi significativo em 50,0 mg mL⁻¹, aumentando 58% o comprimento da parte aérea e 74% o comprimento da raiz.

- Na soja a concentração do exsudado da levedura de 25,0 mg mL⁻¹ estimulou o aumento de 55% do tamanho do hipocótilo, 164% do tamanho da radícula, 91% para o índice de vigor e 156% para o índice de crescimento.

- Durante o período de armazenagem das sementes de soja tratadas com o exsudado da levedura, as variáveis porcentagem de germinação, índice de velocidade de emergência e velocidade de emergência apresentaram redução significativa aos 180 dias, evidenciando um processo de deterioração.

- Quanto às variáveis comprimento de raiz, comprimento de parte aérea e massa seca observou-se que houve incremento de 88, 40 e 51%, respectivamente, aos 180 dias de armazenamento, sugerindo aumento do vigor das sementes. A condutividade elétrica apresentou redução em 35% ao longo do tempo também sugerindo aumento do vigor.

- Com relação aos fatores armazenagem e concentrações do exsudado da levedura, as concentrações de 50 e 75% mantiveram os resultados aos 180 dias de armazenamento, sendo estatisticamente iguais aos resultados obtidos aos 60 dias, o que indica a manutenção da qualidade das sementes.

REFERÊNCIAS

- ABELES, F. B.; MORGAN, P. W.; SALTVEIT, M. E. **Ethylene in plant biology**. 2. ed. San Diego: Academic Press, 1992.
- ALBUQUERQUE, K. A. D.; OLIVEIRA, J. A.; SILVA, P. A.; VEIGA, A. D.; CARVALHO, B. O.; ALVIM, P. O. Armazenamento e qualidade de sementes de tomate enriquecidas com micronutrientes e reguladores de crescimento. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 1, p. 20-28, 2010.
- ALMEIDA, A. S.; CASTELLANOS, C. I. S.; DEUNER, C.; BORGES, C. T.; MENEGHELLO, G. E. Efeitos de inseticidas, fungicidas e biorreguladores na qualidade fisiológica de sementes de soja durante o armazenamento. **Revista de agricultura**, v. 89, n. 3, p. 172-182, 2014.
- AMPRAYN, K.; ROSE, M. T.; KECSKÉS, M.; PEREG, L.; NGUYEN, H. T.; KENNEDY I. R. Plant growth promoting characteristics of soil yeast (*Candida tropicalis* HY) and its effectiveness for promoting rice growth. **Applied Soil Ecology**, v. 61, p. 295–299, 2012.
- BAGATELI, J. R.; DÖRR, C. S.; SCHUCH, L. O. B.; MENEGHELLO, G. E. Productive performance of soybean plants originated from seed lots with increasing vigor levels. **Journal of Seed Science**, v. 41, n. 2, p. 151-159, 2019.
- BARELLI, L.; MOONJELY, S.; BEHIE, S. W.; BIDOCHKA, M. J. Fungi with multifunctional lifestyles: endophytic insect pathogenic fungi. **Plant Molecular Biology**, v. 90, n. 6, p. 657-664, 2016.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. Seeds: physiology of development and germination. New York, Plenum Press. 1994. 445 p.
- BINENBAUM, J.; WEINSTAIN, R.; SHANI, E. Gibberellin localization and transport in plants. **Trends in Plant Science**, v. 23, n. 5, p. 410-421, 2018.
- BINSFELD, J. A.; BARBIERI, A. P. P.; HUTH, C.; CABRERA, I. C.; HENNING, L. M. M. Uso de bioativador, bioestimulante e complexo de nutrientes em sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 44, n. 1, p. 88-94, 2014.
- BOTHA, A. The importance and ecology of yeasts in soil. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 43, p. 1-8, 2011.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009.
- CABRINI, P. G.; SALA, F. C.; MAGRI, M. M. R. *Torulaspora globosa*: rhizosphere yeast promoting lettuce growth on seedlings and under field conditions. **Horticultura Brasileira**, v. 37, p. 266-271. 2019. DOI - <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-053620190303>.
- CARRARO, B. P.; FALCO, T. D.; WEBER, T.; COELHO, S. R. M.; CHRIST, D.; SCHUELTER, A. R. Efeito do produto da levedura *Rhodotorula glutinis* como bioestimulante no tratamento de sementes de soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA: DESAFIOS PARA A PRODUTIVIDADE SUSTENTÁVEL NO MERCOSUL, 9., 2022, Foz do Iguaçu. **Resumos...** Brasília, DF: Embrapa, 2022. *Online*.

CARVALHO, J. F. **Manejo do crestamento bacteriano comum em feijoeiro por *Rhodotorula glutinis* E *Sporidiobolus johnsonii***. 2017. 39 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2017.

CARVALHO, J. C. **Potencial das leveduras *Rhodotorula glutinis* e *Sporidiobolus johnsonii* no controle biológico de *Xanthomonas axonopodis* pv. *Phaseoli*, na promoção do crescimento do feijoeiro e na ativação de rotas metabólicas ligadas à indução de resistência**. 2020. 84 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2020.

CASTORIA, R.; MORENA, V.; CAPUTO, L.; PANFILI, G.; DE CURTIS, F.; DE CICCO, V. Effect of the Biocontrol Yeast *Rhodotorula glutinis* Strain LS11 on Patulin Accumulation in Stored Apples. **Phytopathology**, v. 95, n. 11, p. 1271-1278, 2005.

CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A.; PERES, L. E. P. **Manual de fisiologia vegetal: teoria e prática**. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2005. 650 p.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. Acompanhamento da safra brasileira de grãos. v. 9 - Safra 2021/22 - Décimo primeiro levantamento, Brasília, 2022. p. 1-85.

CROZIER, A.; KAMIYA, Y.; BISHOP, G.; YOKOTA, T. Biosynthesis of hormones and elicitor molecules. In: BUCHANAN, B. B.; GRISSEN, W.; JONES, R. L. (Ed.) **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**. Maryland: American Society of Plant physiologists, 2000. p. 850-894.

CUTTER, E. **Anatomia vegetal**. Células e tecidos. São Paulo: Roca, 2002. 320 p.

DAVIES, P. J. **The plant hormones: their nature, occurrence, and functions**. New York: Cornell University, Springer Science, 2010.

DIAS, D. R.; SCHWAN, R. F. Isolamento e identificação de leveduras. In: MOREIRA, F. M. S.; HUISING, E. J.; BIGNELL, D. E. **Manual de biologia dos solos tropicais**. Lavras: UFLA, 2010. Cap. 10. p. 227-278.

EDMOND, J. B.; DRAPALA, W. J. The effects of temperature, sand and soil, and acetone on germination of okra seeds. **Proceedings of the American Society Horticultural Science**, v. 71, p. 428-434, 1958.

EL-TARABILY, K. A. Suppression of *Rhizoctonia solani* diseases of sugar beet by antagonistic and plant growth-promoting yeasts. **Journal of Applied Microbiology**, v. 96, n. 1, p. 69-75, 2004.

EPHRITIKHINE, G.; PAGANT, S.; FUJIOKA, S.; TAKATSUTO, S.; LAPOUS, D.; CABOCHE, M.; KENDRICK, R. E.; BARBIER-BRYGOO, H. The sax1 mutation defines a new locus involved in the brassinosteroid biosynthesis pathway in *Arabidopsis thaliana*. **The Plant Journal**, v. 18, p. 315-320, 1999.

FERNANDEZ-SAN MILLAN, A.; FARRAN, I.; LARRAYA, L.; ANCIN, M.; ARREGUI, L. M.; VERAMENDI, J. Plant growth-promoting traits of yeasts isolated from Spanish vineyards: benefits for seedling development. **Microbiological Research**, v. 237, 2020. A. 126480.

FERREIRA, D. F. SISVAR: A computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista brasileira de biometria**, v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.

FERREIRA, E. A.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12 (Edição Especial), p. 175-204, 2000.

FLOSS, E. L. **Fisiologia das plantas cultivadas**: o estudo do que está por trás do que se vê. 4. ed. Passo Fundo: UPF, 2011. 733 p.

FRANÇA NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; HENNING, A. A.; PADUA, G. P.; LORINI, I.; HENNING, F. A. **Tecnologia da produção de semente de soja de alta qualidade**. Londrina: Embrapa Soja, 2016. 82 p. (Embrapa Soja. Documentos, 380).

FRICK, E. M.; STRADER, L. C. Roles for IBA-derived auxin in plant development. **Journal of Experimental Botany**, v. 69, p. 169-177, 2018.

FU, S-F; SUN, P-F; LU, H-Y; WEI, J-Y; XIAO, H-S; FANG, W-T; CHENG, B-Y; CHOU, J-Y. Plant growth-promoting traits of yeasts isolated from the phyllosphere and rhizosphere of *Drosera spatulata* Lab. **Fungal Biology**, v. 20, p. 433-448, 2016.

GLICK, B. R. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. **Scientifica** (Cairo), p. 1-15, 2012.

GLICK, B. R.; TODOROVIC, B.; CZARNY, J.; CHENG, Z.; DUAN, J.; McCONKEY, B. Promotion of plant growth by bacterial ACC deaminase. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 26, n. 5-6, p. 227-242, 2007.

GOMES-JUNIOR, F. G. Análise computadorizada de imagens de plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B.; MARCOS FILHO, J. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes. Londrina: ABRATES. 2020. p. 141-183.

GOMES, E. A.; SILVA, U. C.; PAIVA, C. A. O.; LANA, U. G. P.; MARRIEL, I. E.; SANTOS, V. L. **Microrganismos promotores do crescimento de plantas**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2016. 51 p. (Documentos / Embrapa Milho e Sorgo, ISSN 1518- 4277; 208).

HAN, Y.; WANG, R.; YANG, Z.; ZHAN, Y.; MA, Y.; PING, S.; ZHANG, L.; LIN, M.; YAN, Y. 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase from *Pseudomonas stutzeri* a1501 facilitates the growth of rice in the presence of salt or heavy metals. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 25-27, p. 1119-1128, 2015.

HAS, M.; FACCO, L. N.; ROSA, M. P.; PIETROWSKI, G. A. M. Caracterização morfológica e fisiológica de leveduras submetidas à preservação prolongada por congelamento a -80°C e liofilização. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 14, n. 1 p. 3122-3138, 2020.

HEDDEN, P.; SPONSEL, V. A Century of Gibberellin Research. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 34, p. 740–760, 2015. DOI 10.1007/s00344-015-9546-1

HELING, A. L. **Isolamento, identificação e avaliação do potencial de leveduras como agentes de proteção de plantas de feijoeiro ao cretamento bacteriano comum**. 2016. 51 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, campus de Marechal Cândido Rondon, Marechal Cândido Rondon. 2016.

HELING, A. L.; KUHN, O. J.; STANGARLIN, J. R.; HENKEMEIER, N. P.; CARVALHO, J. C.; LORENZETTI, E. Controle do cretamento bacteriano comum na cultura do feijoeiro, mediado por leveduras. In: CONGRESSO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DA UNIOESTE, 8. 2016, Marechal Candido Rondon-PR. **Anais...** Marechal Candido Rondon-PR: VIII SECIAGRA, Unioeste, 2016. p. 200-205.

HERNÁNDEZ-ALMANZA, A.; MONTANEZ, J. C.; AGUILAR-GONZÁLEZ, M. A.; MARTÍNEZ-ÁVILA, C.; RODRÍGUEZ-HERRERA, R.; AGUILAR, C. N. *Rhodotorula glutinis* as source of pigments and metabolites for food industry. **Food Bioscience**, v. 5, p. 64-72, 2013.

HERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, M.; CORDERO-BUESO, G.; RUIZ-MUÑOZ, M.; CANTORAL, J.M. Culturable Yeasts as Biofertilizers and Biopesticides for a Sustainable Agriculture: A Comprehensive Review. **Plants**, v. 10, n. 5, p. 822, 2021.

IGIELSKI, R.; KĘPCZYŃSKA, E. Gene expression and metabolite profiling of gibberellin biosynthesis during induction of somatic embryogenesis in *Medicago truncatula* Gaertn. **PLoS ONE**, v.12, n. 7, p. e0182055, 2017.

IGNATOVA, L. V.; BRAZHNIKOVA, Y. V.; BERZHANOVA, R. Z.; MUKASHEVA, T. D. Plant growth-promoting and antifungal activity of yeasts from dark chestnut soil. **Microbiological Research**, v. 175, p. 78-83, 2015.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.

KLEE, H.J.; HAYFORD, M.B.; KRETZMER, K.A.; BARRY, G.F.; KISHORE, G.M. Control of ethylene synthesis by expression of a bacterial enzyme in transgenic tomato plants. **Plant Cell**, v. 3, p. 1187–1193, 1991.

KOLCHINSKI, E. M.; SCHUCH, L. O. B.; PESKE, S. T. Vigor de sementes e competição intraespecífica em soja. **Ciência Rural**, v. 35, n. 6, p. 1248-1256, 2005.

KRZYŻANOWSKI, F. C.; FRANÇA NETO, J. B.; HENNING, A. A. **A alta qualidade da semente de soja**: fator importante para a produção da cultura. Londrina: Embrapa Soja, 2018. 24p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 136).

KRZYŻANOWSKI, F. C.; FRANÇA NETO, J. B.; GOMES JUNIOR, F. G.; NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados em desempenho de plântulas. In: KRZYŻANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B.; MARCOS FILHO, J. **Vigor de sementes**: conceitos e testes. Londrina: ABRATES. 2020. p. 79-127.

LABBÉ, L. M. B.; VILLELA, F. A. Armazenamento de sementes. In: PESKE, S. T.; VILLELA, F. A.; MENEGHELLO, G. E. **Sementes**: fundamentos científicos e tecnológicos. 3. ed. Pelotas: Ed. Universitária UFPel, 2012. p. 481-528.

LEE, G.; LEE, S. H.; KIM, K. MO.; RYU, C. M. Foliar application of the leaf-colonizing yeast *Pseudozyma churashimaensis* elicits systemic defense of pepper against bacterial and viral pathogens. **Scientific Reports**, v. 7, n. p. A. 39432, 2017.

LEITE, V. M.; ROSOLEM, C. A.; RODRIGUES, J. D. Gibberellin and cytokinin effects on soybean growth. **Scientia Agricola**, v. 60, n. 3, p. 537-541, 2003.

LEUNG, J.; GIRAUDAT, J. Abscisic acid signal transduction. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 49, p. 199-222, 1998.

LIMTONG, S.; KAEWWICHIAN, R.; YONGMANITCHAI, W.; KAWASAKI, H. Diversity of culturable yeasts in phylloplane of sugarcane in Thailand and their capability to produce indole-3-acetic acid. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 30, p. 1785-1796, 2014.

LIU, W.; WANG, B.; WANG, Q.; HOU, J.; WU, L.; WOOD, J. L.; LUO, Y.; FRANKS, A. E. Characteristics of metal-tolerant plant growth-promoting yeast (*Cryptococcus* sp. NSE1) and its influence on Cd hyperaccumulator *Sedum plumbizincicola*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 18, p. 18621-18629, 2016.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Microbiologia**. 10. ed. Pearson Education, São Paulo, 2012. 608 p.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, 2005. p. 495.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2. ed. Londrina: ABRATES, 2015. 600p.

MARCOS FILHO, J. Teste de vigor: dimensão e perspectivas. **SEED News**, v. XV, n.1, 2011, p. 22-27.

MARTINEZ-MEDINA, A.; DEL MAR ALGUACIL, M.; PASCUAL, J. A.; VAN WEES, S. C. Phytohormone profiles induced by *Trichoderma* isolates correspond with their biocontrol and plant growth-promoting activity on melon plants. **Journal of chemical ecology**, v. 40, n. 7, p. 804-815, 2014.

MASSON-BOIVIN, C.; GIRAUD, E.; PERRET, X.; BATUT, J. Establishing nitrogen-fixing symbiosis with legumes: how many rhizobium recipes? **Trends in Microbiology**, v. 17, n. 10, p. 458-466, 2009.

MAUTONE, J. N. Diversidade e potencial biotecnológico de leveduras e fungos semelhantes a leveduras isolados de folhas de figueiras do parque de Itapuã, RS, Brasil. 2008 113 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Meio Ambiente) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2008.

METIVIER, J. R. Dormência e germinação. In: FERRI, M. G. **Fisiologia vegetal**. 2 vol. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1979. p. 343-392.

MINITAB. **Getting Started with Minitab 17**. Minitab, 2017. 82 p.

MUKHERJEE, S.; SEN, S. K. Exploration of novel rhizospheric yeast isolate as fertilizing soil inoculant for improvement of maize cultivation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 7, p. 1491-1499, 2015.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Eds.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p. 2.1-2.24.

NAKAYAN, P.; HAMEED, A.; SINGH, S.; YOUNG, L.; HUNG, M.; YOUNG, C. Phosphate-solubilizing soil yeast *Meyerozyma guilliermondii* CC1 improves maize (*Zea mays* L.) productivity and minimizes requisite chemical fertilization. **Plant Soil**, v. 373, p. 301-315, 2013.

NASSAR, A. H.; EL-TARABILY, K. A.; SIVASITHAMPARAM, K. Promotion of plant growth by an auxin-producing isolate of the yeast *Williopsis saturnus* endophytic in maize (*Zea mays* L.) roots. **Biology and Fertility of Soils**, v. 42, p. 97-108, 2005.

NISHIMURA, C.; OHASHI, Y.; SATO, S.; KATO, T.; TABATA, S.; UEGUCHI, C. Histidine kinase homologs that acts as cytokinin receptors possess overlapping functions in the regulation of shoot and root growth in *Arabidopsis*. **The Plant Cell, Baltimore**, v. 16, p. 1365-1377, 2004.

NUTARATAT, P.; SRISUK, N.; ARUNRATTIYAKORN, P.; LIMTONG, S. Plant growth-promoting traits of epiphytic and endophytic yeasts isolated from rice and sugar cane leaves in Thailand. **Fungal Biology**, v. 118, n. 8, p. 683-694, 2014.

ODDS, F. C. Long term laboratory preservation of pathogenic yeasts in water. **Journal of Medical and Veterinary Mycology**, v. 29, n. 6, p. 413-415, 1991.

OLIVEIRA, T. B. **Leveduras produtoras de AIA e solubilizadoras de P visando a promoção de crescimento de tomateiro**. 2016. 65 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal de São Carlos, Araras.

PANDI, R.; VELU, G.; DEVI, P.; DANANJEYAN, B. Isolation and screening of soil yeasts for plant growth promoting traits. **Madras Agricultural Journal**, v. 106, n. 7-9, p. 439-443, 2019.

PENG, X.; WANG, Y.; TANG, L. J.; LI, X. X.; XIAO, Y. W.; ZHANG, Z. B.; YAN, R. M.; YANG, H. L.; CHANG, J.; ZHU, B.; ZHU, D. Yeasts from Nanfeng mandarin plants: occurrence, diversity and capability to produce indole-3-acetic acid. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 32, n. 6, p. 1496-1506, 2018.

PEREIRA, L. C.; MATERA, T. C.; BRACCINI, A. L.; PEREIRA, R. C.; MARTELI, D. C. V.; SUZUKAWA, A. K.; PIANA, S. C.; FERRI, G. C.; CORREIA, L. V. Addition of biostimulant to the industrial treatment of soybean seeds: physiological quality and yield after storage. **Journal of Seed Science**, v. 40, n. 4, p. 442-449, 2018.

PEREIRA, R. C.; PEREIRA, L. C.; BRACCINI, A. L.; SILVA, B. G.; PELLOSO, M. F.; CORREIA, L. V.; GONZAGA, D. E. R.; CRUZ, R. M. S.; COPPO, C.; RIZZO, M. N.; BORGES, Y. M. Potencial fisiológico de sementes de soja submetidas ao tratamento industrial com bioestimulante antes e após armazenamento. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 7, n. 4, p. 40078-40093, 2021.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: Agiplan, 1985. 289 p.

RAGHAVENDRA, A. S.; GONUGUNTA, V. R.; CHRISTMANN, A.; GRILL, E. ABA perception and signaling. **Trends in plant science**, v. 15, n. 7, p. 395-401, 2010.

RAMOS, A. R.; BINOTTI, F. F. S.; SILVA, T. R.; SILVA, U. R. Bioestimulante no condicionamento fisiológico e tratamento de sementes de feijão. **Revista Biociências, Taubaté**, v. 21 n. 1, p. 76-88, 2015.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

RODRIGUES, C. **Produção, extração e Purificação de Hormônio Vegetal (Ácido Giberélico) Por Fermentação no Estado Sólido em Polpa Cítrica e Utilização do Extrato Fermentado em Meio de Cultivo de Bromélias in vitro**. 2010. 180 f. Tese (Doutorado em Processos Biotecnológicos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2010.

SAHARAN, B. S.; NEHRA, V. Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. **Life Sciences and Medicine Research**, v. 2011, p. 1-30, 2011.

- SALISBURY, F.B.; ROSS, C.W. **Fisiologia vegetal**. México: Iberoamérica, 2012. 759 p.
- SASAN, R. K.; BIDOCHKA, M. J. The insect-pathogenic fungus *Metarhizium robertsii* (Clavicipitaceae) is also an endophyte that stimulates plant root development. **American Journal of Botany**, v. 99, n. 1, p. 101-107, 2012.
- SATO, A. Y.; MARIA, J.; SEDIYAMA, T.; BORÉM, A.; CECON, P. R.; JUNQUEIRA, C. S. Influência do ácido abscísico na micropropagação da cultura da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 5, p. 1235-1237, 2001.
- SCHUAB, S. R. P.; BRACCINI, A. L.; FRANÇA NETO, J. B.; SCAPIM, C. A.; MESCHÉDE, D. K. Potencial fisiológico de sementes de soja e sua relação com a emergência das plântulas em campo. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 28, n. 4, p. 553-560, 2006.
- SIMON, S.; PETRÁSEK, J. Why plants need more than one type of auxin. **Plant science**, Limerick, v. 180, n. 3, p. 454-460, 2011.
- SMANIOTTO, T. A. S.; RESENDE, O.; MARÇAL, K. A. F.; OLIVEIRA, D. E. C.; SIMON, G, A. Qualidade fisiológica das sementes de soja armazenadas em diferentes condições. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, v. 18, n. 4, p. 446–453, 2014.
- STOYNOVA, B.E.; KARANOV, E.; PETROV, P.; HALL, M.A. Cell division and cell expansion in cotyledons of *Arabidopsis* seedlings. **New Physiologist**, v.162, p.471, 2004.
- SUBRAMANIAN, P.; KIM, K.; KRISHNAMOORTHY, R. Endophytic bacteria improve nodule function and plant nitrogen in soybean on co-inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* MN110. **Plant Growth Regulation**, v. 76, n. 3, p. 327-332, 2015.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.
- TAVARES, L. C.; RUFINO C. A.; BRUNES, A. P.; TUNES, L. M.; BARROS, A. C. S. A.; PESKE, S. T. Desempenho de sementes de soja sob deficiência hídrica: rendimento e qualidade fisiológica da geração F1. **Ciência Rural**, v. 43, n. 8, p. 1357-1363, 2013.
- TAWFIQ, A. A.; AL-SHAHEEN, M. R.; AL-ANI, M. H. I. Gibberellic acid (GA3) productions from regular dry bakery yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). **Journal of Advanced Research in Applied Chemistry & Chemical Engineering**, v. 3, n. 1 e 2, p. 24-26, 2018.
- TSAVKELOVA, E.A.; CHERDYNTSEVA, T.A.; KLIMOVA. S.Y.; SHESTAKOV, A.I.; BOTINA, S.G.; NETRUSOV, A.I. Orchid-associated bacteria produce indole-3- acetic acid, promote seed germination, and increase their microbial yield in response to exogenous auxin. **Archives of Microbiology**, v. 188, n. 6, p. 655–664, 2007.
- TUDZYNSKI, B. Biosynthesis of gibberellins in *Gibberella fujikuroi*: biomolecular aspects. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 52, n. 3, p. 298-310, 1999.
- UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA. Foreign Agricultural Service. Circular Series WAP 6-22. **Global Market Analysis**. June 2022.
- VESSEY, J. K.; BUSS, T. J. *Bacillus cereus* UW85 inoculation effects on growth, nodulation, and N accumulation in grain legumes: Controlled-environment studies. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 85, n. 1991, p. 283-290, 2002.

VIEIRA, E. L.; SOUZA, G. S.; SANTOS, A. R.; SANTOS SILVA, J. **Manual de fisiologia vegetal**. São Luís: EDUFMA, 2010. 230 p.

VIEIRA, R. D.; MARCOS FILHO, J. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B.; MARCOS FILHO, J. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes. Londrina: ABRATES. 2020. p. 334-379.

VILAS BOAS, E. V. B. 1-MCP: um inibidor da ação do etileno. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE DE DOENÇA DE PLANTAS: PATOLOGIA PÓS-COLHEITA DE FRUTAS E HORTALIÇASm3 2002, Lavras **Palestras...** Lavras: UFL, 2002. p. 24-30.

WEBER, T.; WEBER, D. A.; MEDA, R. M.; CARRARO, B. P.; COELHO, S. R. M.; KUHN, O. J. Tratamento de sementes de soja com extrato de levedura e bioestimulante. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA: A ENGENHARIA AGRÍCOLA NO DESENVOLVIMENTO BIOENERGÉTICO, 49, 2020, **Anais online**. ISSN: 2358-582X.

WEBER, T.; WEBER, D. A.; CARRARO, B. P.; COELHO, S. R. M.; KUHN, O. J.; FALCO, T. D.; CAMPEOL, D. Qualidade fisiológica de sementes de soja tratadas com regulador vegetal produzido a partir de levedura. In: SANTOS, T. R. **Engenharia agrônômica: ambientes agrícolas e seus campos de atuação 2**. Ponta Grossa: Atena, 2021. p. 194-204.

XIN, G.; GLAWE, D.; DOTY, S. L. Characterization of three endophytic, indole-3-acetic acid producing yeasts occurring in *Populus trees*. British Mycological Society, **Mycological Research**, v. 113, p. 973-980, 2009.

YANG, J.; KLOEPPER, J. W.; RYU, C. Min. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. **Trends in Plant Science**, v. 14, n. 1, p. 1-4, 2009.