

Azospirillum brasilense para Mitigação
do Estresse Hídrico no Sorgo BRS 332
Submetido a Diferentes Doses de Nitrogênio



OBJETIVOS DE
DESENVOLVIMENTO
SUSTENTÁVEL



**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Milho e Sorgo
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
224**

Azospirillum brasilense para Mitigação
do Estresse Hídrico no Sorgo BRS 332
Submetido a Diferentes Doses de Nitrogênio

Ana Paula Lima de Paiva
Paulo César Magalhães
Lorena Pereira de Carvalho
Hadassa Fortuna Jales
Carlos César Gomes Júnior
Ubiraci Gomes de Paula Lana
Ivanildo Evodio Marriel

*Embrapa Milho e Sorgo
Sete Lagoas, MG
2021*

Esta publicação está disponível no endereço:
<https://www.embrapa.br/milho-e-sorgo/publicacoes>

Embrapa Milho e Sorgo
Rod. MG 424 Km 45
Caixa Postal 151
CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG
Fone: (31) 3027-1100
Fax: (31) 3027-1188
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações
da Unidade Responsável

Presidente
Maria Marta Pastina

Secretário-Executivo
Elena Charlotte Landau

Membros
Cláudia Teixeira Guimarães, Mônica Matoso Campanha, Roberto dos Santos Trindade e Maria Cristina Dias Paes.

Revisão de texto
Antonio Claudio da Silva Barros

Normalização bibliográfica
Rosângela Lacerda de Castro (CRB 6/2749)

Tratamento das ilustrações
Mônica Aparecida de Castro

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
Mônica Aparecida de Castro

Fotos da capa
Ana Paula Lima de Paiva

1ª edição
Publicação digital (2021)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Nome da unidade catalogadora

Azospirillum brasilense para mitigação do estresse hídrico no sorgo BRS 332 submetido a diferentes doses de nitrogênio / Ana Paula Lima de Paiva ... [et al.]. – Sete Lagoas : Embrapa Milho e Sorgo, 2021.
36 p. : il. -- (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Milho e Sorgo ISSN 1679-0154; 224).

1. *Sorghum bicolor*. 2. Bactéria. 3. Inoculação. 4. Deficiência hídrica. I. Paiva, Ana Paula Lima de. II. Magalhães, Paulo César. III. Carvalho, Lorena Pereira de. IV. Jales, Hadassa Fortuna. V. Gomes Júnior, Carlos César. VI. Lana, Ubiraci Gomes de Paula. VII. Marriel, Ivanildo Evódio. VIII. Série.

CDD 633.174 (21. ed.)

Sumário

Resumo	05
Abstract	07
Introdução.....	08
Material e Métodos	10
Resultados e Discussão	30
Conclusão.....	32
Referências	33

Azospirillum brasilense para Mitigação do Estresse Hídrico no Sorgo BRS 332 Submetido a Diferentes Doses de Nitrogênio

Ana Paula Lima de Paiva¹
Paulo César Magalhães²
Lorena Pereira de Carvalho³
Hadassa Fortuna Jales⁴
Carlos César Gomes Júnior⁵
Ubiraci Gomes de Paula Lana⁶
Ivanildo Evodio Marriel⁷

Resumo – Entre os maiores problemas no cenário atual destacam-se os efeitos climáticos e o conseqüente impacto na agricultura, sobretudo decorrentes da redução da disponibilidade hídrica. A restrição hídrica é um fator limitante no crescimento das plantas, responsável por causar modificações morfofisiológicas e alterar seu desenvolvimento. O sorgo, cuja característica marcante consiste em maior tolerância à seca em relação a outras gramíneas, é o quinto cereal mais produzido no mundo. A inoculação de plantas por rizobactérias promotoras do crescimento pode remodelar seu sistema radicular, mitigando os efeitos do déficit hídrico. Com isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de inoculantes à base de *Azospirillum brasilense* na mitigação do estresse hídrico sob diferentes níveis de adubação nitrogenada no sorgo granífero *BRS 332*. O experimento foi conduzido em casa de vegetação sob condições controladas de temperatura e umidade. As plantas foram submetidas a duas condições hídricas: dois diferentes

¹Ana Paula Lima de Paiva, estudante de Engenharia Química pelo Centro Universitário de Sete Lagoas ;

² Paulo César Magalhães, Eng. Agrôn., Doutor em Fiel Crop Physiology, pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo;

³ Lorena Pereira de Carvalho, estudante de Engenharia Agrônômica pela Universidade Federal de São João del-Rei;

⁴ Hadassa Fortuna Jales, estudante de Engenharia Agrônômica pela Universidade Federal de Viçosa;

⁵ Carlos César Gomes Júnior, doutorando em Fisiologia Vegetal pela Universidade Federal de Viçosa;

⁷ Ubiraci Gomes de Paula Lana, químico, Doutor em Genética, analista da Embrapa Milho e Sorgo;

⁸ Ivanildo Evodio Marriel, Eng. Agrôn., Doutor em Agronomia, pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo.

inoculantes à base de *A. brasilense*, além do tratamento sem inoculação, e dois níveis de adubação nitrogenada. Foram avaliadas diferentes características ecofisiológicas e de produção. A inoculação com *Azospirillum brasilense* aumenta significativamente a parte aérea e a produção de grãos na cultivar de sorgo avaliada, especialmente em condição de baixa dose de nitrogênio, minimizando os efeitos da restrição hídrica.

Termos para indexação: *Sorghum bicolor*; seca; nitrogênio; rizobactérias; grãos.

***Azospirillum brasilense* for Mitigation of Water Stress in Sorghum BRS 332 Under Different Doses of Nitrogen**

Abstract – Among the biggest problems in the current scenario there are the climatic effects and the consequent impact on agriculture, mainly the reduction of water availability. Water restriction is a limiting factor for plant growth, responsible for causing morphophysiological changes and altering their development. Sorghum is the fifth most produced cereal in the world; its marked characteristic is the greater tolerance to drought in relation to other grasses. The inoculation of plants by growth-promoting rhizobacteria can remodel the plant's root system, mitigating the effects of water deficit. The objective of this work was to evaluate the effect of inoculants with *Azospirillum brasilense* on the mitigation of water stress under different levels of nitrogen fertilization in *BRS 332* grain sorghum. The experiment was carried out in a greenhouse under controlled conditions of temperature and humidity. The plants were subjected to two water conditions: two different inoculants of *A. brasilense*, in addition to treatment without inoculation, and two levels of nitrogen fertilization. Different ecophysiological and production characteristics were evaluated. Inoculation with *Azospirillum brasilense* increased shoot size and the production of grains in sorghum, especially under conditions of low nitrogen dose, minimizing the effects of water restriction.

Index terms: *Sorghum bicolor*; drought; nitrogen; rhizobacteria; grain yield.

Introdução

Um dos maiores problemas debatidos da atualidade são os efeitos das mudanças climáticas e o conseqüente impacto em diferentes biomas. O desequilíbrio causado por condições meteorológicas adversas, como alteração do padrão de temperatura, umidade do ar e precipitação, afeta significativamente a disponibilidade hídrica de uma região, fator este imprescindível para a agricultura. Estudos relatam que o déficit hídrico provoca a diminuição do período de crescimento e desenvolvimento das plantas, culminando com a redução da produtividade. Diante deste cenário, pesquisas que buscam uma maior produtividade de alimentos com a pouca disponibilidade hídrica tornam-se essenciais (Reis, 2019).

A cultura do sorgo tem se mostrado ideal para enfrentar estas adversidades climáticas, em razão da sua alta tolerância à seca. O sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) é uma gramínea de origem africana pertencente à tribo *Andropogoneae*. Entre as espécies alimentares é uma das mais versáteis e mais eficientes, tanto do ponto de vista da tolerância ao estresse hídrico quanto da alta taxa fotossintética e velocidade de maturação. Além da capacidade para produção de biomassa, é fonte de alimento para mais de 500 milhões de pessoas em 30 países. Somente arroz, trigo, milho e batata superam o sorgo em termos de quantidade de alimento consumido (Silva; Rodrigues, 2015).

Outro objetivo buscado pelos pesquisadores na atualidade é a diminuição da dependência do uso de fertilizantes. Uma das opções para diminuir esta dependência é o uso de Bactérias Promotoras de Crescimento (BPC), que tem mostrado resultados satisfatórios na mitigação dos efeitos nocivos do déficit hídrico e no aumento da produção e crescimento das plantas (Reis, 2019).

O *Azospirillum brasilense* é destas bactérias cujo papel na tolerância à seca tem sido documentado em vários estudos, pois elas melhoram as características morfológicas da planta, como ramificação de raízes, aumento de biomassa radicular e aumento da densidade de pelos radiculares, resultando na melhor exploração do perfil do solo em busca de água (Hungria, 2011).

Dentro deste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a performance da cultivar BRS 332 de sorgo inoculada com bactérias do gênero *Azospirillum brasilense* em condições de restrição hídrica e diferentes doses de adubação nitrogenada.

Alinhado com a vertente dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) estabelecidos pela Organização das Nações Unidas (ONU) em 2015, o presente estudo se enquadra em alguns dos objetivos propostos, como **ODS 2: “Acabar com a fome, alcançar a segurança alimentar e melhoria da nutrição e promover a agricultura sustentável”**. O sorgo, por apresentar tolerância acentuada à restrição hídrica, tornou-se uma grande fonte de alimento e é alvo de estudos visando um melhor desempenho. Com isso, uma das principais finalidades deste trabalho é aumentar a capacidade de produção de sorgo granífero BRS 332 em condições adversas, com o uso de tecnologias sustentáveis, como a inoculação por rizobactérias, justificando, portanto, a contribuição desta pesquisa com o ODS em questão. Alguns microrganismos são adaptados a condições ambientais e, por essa característica, têm a capacidade de ajudar a planta a suportar os efeitos adversos oriundos da restrição hídrica e aumentar a produtividade das culturas em regiões áridas ou semiáridas.

O **objetivo 12 “Assegurar padrões de produção e de consumo sustentáveis”** se enquadra de forma subjetiva na pesquisa realizada, e a principal justificativa para o cumprimento deste objetivo é o uso de Bactérias Promotoras de Crescimento (BPC), como o *Azospirillum brasilense*, sendo uma opção viável e inovadora para a diminuição de doses de fertilizantes e produtos químicos, não só pelo fator econômico, mas também pelos diversos danos causados ao meio ambiente. Além disso, tem mostrado resultados satisfatórios na mitigação dos efeitos nocivos do déficit hídrico e no aumento da produção e crescimento das plantas, conforme resultados apontados na presente obra.

Sabe-se também que o desequilíbrio causado por circunstâncias climáticas antagônicas altera de forma expressiva a disponibilidade hídrica de um determinado local, fator este primordial para os sistemas agropecuários. Sendo assim, estudos que buscam a produção suficiente de alimentos com a pouca disponibilidade de água tornam-se fundamentais, justificando portanto a escolha do **objetivo 13 “Tomar medidas urgentes para combater a**

mudança climática e seus impactos". A irrigação é desestimulada não somente pelo alto custo envolvido no sistema, mas também pela disputa entre a água oriunda para a agricultura e a necessária para o consumo humano. Portanto, temos a missão de alinhar a produção segura e suficiente de alimentos com a pressão da disponibilidade hídrica e das mudanças meteorológicas. É necessário conscientizar toda a população, e isso só pode ser feito através de pesquisas e estudos como este, que buscam entender e traçar estratégias para minimizar os impactos e buscar soluções, e assim representar uma contribuição para o cumprimento dos objetivos propostos pela ONU.

Material e Métodos

Condições de cultivo e material vegetal

O experimento foi implantado em casa de vegetação localizada na Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas-MG, (19°28' S, 44°15'08" W e altitude equivalente a 732 m). O clima local é característico tropical (clima quente e verão chuvoso), e a pluviosidade média anual varia em torno de 1.335 mm e temperatura média de 21,6 °C.

O solo utilizado no experimento foi o Latossolo Vermelho Distrófico, que seguiu as recomendações de correção de acordo com análise química do solo, conforme descritas na Tabela 1, realizada pelo Laboratório de Análise do Solo, da Embrapa Milho e Sorgo.

Tabela 1. Análise química do solo

pH _{H2O}	P _{Mehlich-1}	K	Ca	Mg	Al	H+Al	SB*	V**	MO
-	mg dm ⁻³				cmol _c dm ⁻³			%	dag kg ⁻¹
5,24	2,17	30,33	2,47	0,2	0,37	9,07	2,74	23,23	5,97

*SB: soma de bases; **V: saturação de bases; MO: matéria orgânica (Embrapa, 1999).

Fonte: Embrapa, adaptado pela autora.

De acordo com o resultado da análise do solo, foram aplicados 300 kg.ha⁻¹ de um fertilizante com formulação 8-28-16 de NPK.

O genótipo utilizado foi o sorgo granífero híbrido BRS 332, pertencente ao programa de melhoramento da Embrapa Milho e Sorgo e considerado sensível à seca (Batista et al., 2017).

Descrição dos tratamentos e delineamento experimental

Os tratamentos foram constituídos por:

- Dois inoculantes de *Azospirillum brasilense* (cepas CMS11 + CMS1626 e um inoculante comercial), além do tratamento sem inoculação. Esses tratamentos foram identificados como A1 (CMS11 + CMS1626), A2 (comercial) e A0 (sem inoculação).
- Duas condições hídricas, sendo uma totalmente irrigada (CC) e a outra com restrição hídrica (RH) a partir do pré-florescimento.
- Dois níveis de adubação nitrogenada: AN (180 kg de N/ha) e BN (24 kg de N/ha).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) com o fatorial de 3x2x2, totalizando 12 tratamentos e cinco repetições, culminado com 60 unidades experimentais.

Inoculante, adubação nitrogenada e imposição do estresse hídrico

O inoculante utilizado foi obtido a partir da mistura de duas cepas de *Azospirillum brasilense* (CMS11 e CMS1626) na proporção 1:1, pertencentes à coleção de bactérias diazotróficas do Laboratório de Microbiologia e Bioquímica do Solo da Embrapa Milho e Sorgo (Figura 1 A). As cepas selecionadas foram cultivadas em caldo nutritivo de TSB (Tryptic Soy Broth), durante 72 horas, na temperatura de 28 °C sob agitação constante de 120 rpm (Figura 1 B). Após o período de inoculação, as culturas foram centrifugadas por 10 minutos, a 6.000 rpm e ressuspendidas em solução salina [0,85% (m/v) NaCl], ajustadas para densidade ótica igual a 1,0 em absorbância a 500 nm, que equivale a aproximadamente 10⁸ células viáveis por mL (Reis,

2015) (Figura 1 C). Utilizou-se também o inoculante comercial de *Azospirillum brasilense*, de acordo com a recomendação do fornecedor.

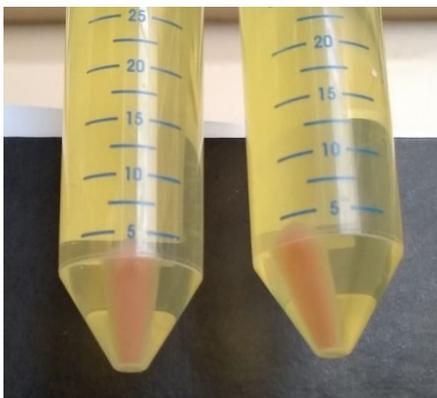
Fotos: Ana Paula Lima de Paiva



A



B



C

Figura 1. Preparo do inoculante obtido a partir da mistura de duas cepas de *Azospirillum brasilense* (CMS11 e CMS1626). **A:** Cepas de *Azospirillum* pertencentes à coleção de bactérias diazotróficas do Laboratório de Microbiologia e Bioquímica do Solo da Embrapa Milho e Sorgo. **B:** Cepas cultivadas em caldo nutritivo de TSB (Tryptic Soy Broth). **C:** Culturas centrifugadas e ressuspendidas em solução salina [0,85% (m/v) NaCl].

Foram testados dois níveis de nitrogênio (N), identificados como alto e baixo N. O baixo nitrogênio (BN) foi adubado somente durante a correção do solo, na dose de 24 kg/ha de N; já o alto nitrogênio (AN) teve a adubação de 24 kg da correção + 156 kg de N/ha em cobertura, totalizando 180 kg de N/ha. A fonte de nitrogênio utilizada foi a ureia (45% de N em sua composição).

Para avaliar a condição hídrica do experimento, o teor de água no solo foi monitorado diariamente nos períodos da manhã e da tarde (9h e 15h), com o auxílio de um sensor de umidade watermark (tensiômetro) modelo 200SS - 5" (IRRROMETER, Califórnia - EUA) (Figura 2), instalado no centro dos vasos de cada repetição, na profundidade de 0,2 m. Estes sensores detectam a tensão de água no solo com base na resistência elétrica através de medidores digitais (watermark meter) da mesma empresa. Os valores variam de 0 kPa (totalmente úmido) a -200 kPa (totalmente seco).

Foto: Ana Paula Lima de Paiva



Figura 2. Sensor de umidade watermark (tensiômetro) instalado no centro dos vasos, na profundidade de 0,2 m.

A reposição hídrica foi realizada com base nas leituras obtidas com o sensor, e a água foi repostada até a capacidade de campo (CC) durante o período que antecedeu a imposição dos tratamentos de restrição hídrica. Esses cálculos foram realizados com o auxílio de uma planilha eletrônica, feita em função da curva de retenção de água do solo. Quando as plantas atingiram o estágio de pré-florescimento, os tratamentos foram impostos. O tratamento irrigado continuou recebendo irrigação diária até o solo alcançar umidade próxima à capacidade de campo (tensão da água no solo de aproximadamente -18 kPa), enquanto que, para os tratamentos não irrigados, a irrigação foi realizada aplicando-se 50% da água total disponível, ou seja, até a tensão da água no solo atingir -138 kPa, cujo valor corresponde ao solo especificado. A imposição da restrição hídrica foi mantida até a colheita de grãos.

Condução do experimento

A semeadura foi realizada em 60 vasos com capacidade de 20 kg, composto por Latossolo Vermelho Distrófico. Foram semeadas nove sementes por vaso, dispostas em três covas. Posteriormente, foi feita a inoculação destas sementes diretamente nos vasos (Figura 3). Com o auxílio de uma micropipeta de precisão, aplicou-se 0,004 mL de inoculante por cova, totalizando 0,012 mL por vaso. A proporção da solução de inóculo utilizada foi de 200 mL para 140.000 sementes de sorgo, seguindo a sugestão do Laboratório de Microbiologia e Bioquímica do Solo da Embrapa Milho e Sorgo.

Fotos: Ana Paula Lima de Paiva



Figura 3. Semeadura dos grãos seguida pela inoculação das sementes realizada diretamente nos vasos.

Após a germinação, foi realizado o primeiro desbaste, deixando três plantas por vaso, e 45 dias depois foi realizado o segundo desbaste, deixando apenas duas plantas.

Assim que as plantas atingiram o estágio V4 (quatro folhas totalmente expandidas), os tratamentos com AN receberam a adubação de cobertura, que foi parcelada da seguinte forma:

- No estágio V4, foram aplicados 36 Kg/ha de N (0,8 grama de ureia por vaso dissolvido em 200 mL de água).
- Nos estágios V8 (oito folhas totalmente expandidas) e V12 (doze folhas totalmente expandidas), foram aplicados 60 kg de N/ha (1,34 grama de ureia dissolvido em 200 mL de água).

Análises ecofisiológicas e componentes de produção

Realizaram-se três avaliações ecofisiológicas durante o período de imposição da restrição hídrica nas plantas, com o objetivo de obter dados dos tratamentos totalmente irrigados (Dia 0), parcialmente estressados (sete dias após a imposição do déficit hídrico) e no estresse máximo (14 dias após a imposição da restrição hídrica).

As medições de altura da planta foram realizadas com o auxílio de uma fita métrica, e o diâmetro do colmo foi medido por meio de um paquímetro digital. A condutividade estomática da folha foi realizada utilizando-se um porômetro (Leaf Porometer - Decagon Devices) (Figura 4 A); teor relativo de clorofila, com o auxílio do SPAD (Minolta SPAD 502 Osaka, Japan) (Figura 4 B); e a eficiência do fotossistema II (Fv/Fm) foi medida através de um FluorPen FP 100 (Figura 4 C). As análises fisiológicas foram realizadas na última folha totalmente expandida, no período da manhã, entre 8 horas e 10 horas. Foi avaliado também o potencial hídrico foliar (utilizando a Bomba de Scholander - 1000 Pressure Chamber) (Figura 4 D) no 7º dia de estresse, realizado às 12h.

Fotos: Ana Paula Lima de Paiva

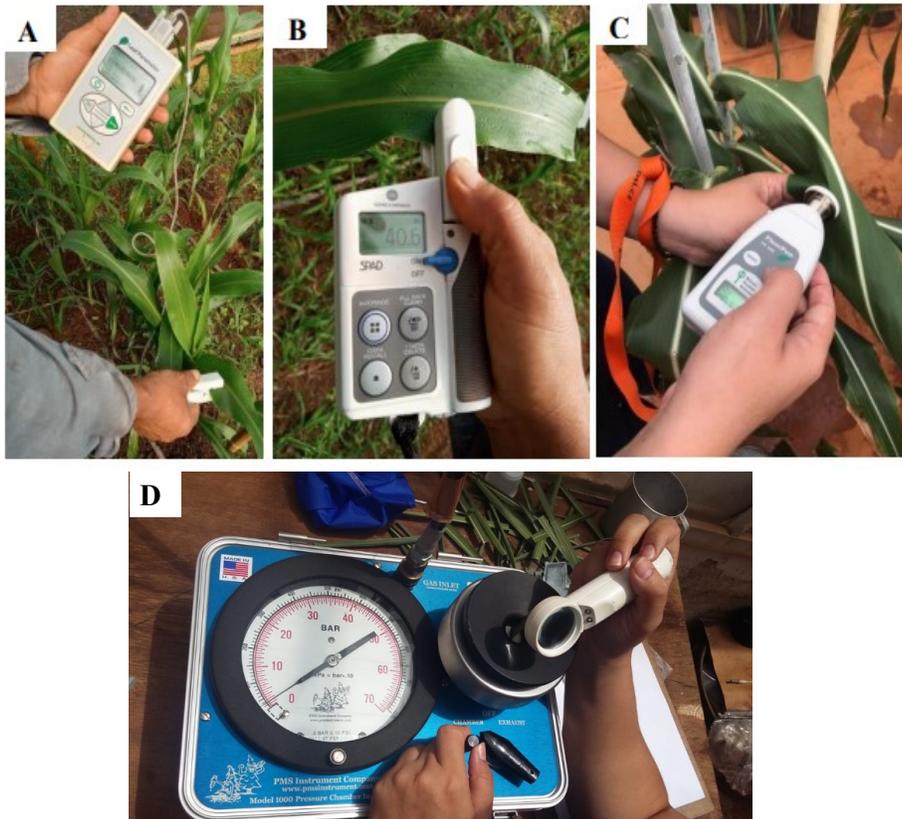


Figura 4. Realização de análises ecofisiológicas. **A:** Avaliação da condutividade estomática da folha. **B:** Avaliação do teor relativo de clorofila. **C:** Avaliação da eficiência do fotossistema II (Fv/Fm). **D:** Avaliação do potencial hídrico foliar.

O experimento foi colhido e dividido em três partes: parte aérea (PA), panículas e raízes. Foi determinada a área foliar total de cada tratamento por meio de um leitor de área foliar (LI-3100C, Licor, Nebraska, USA). Ao final da leitura, a PA foi acondicionada em sacolas de papel e submetida a secagem em estufa com circulação de ar durante 72 horas, a 65 °C, para obtenção da massa seca. Os componentes de produção determinados foram: peso de panícula, comprimento e diâmetro da panícula, massa total de grãos e massa de 100 grãos.

O sistema radicular de cada parcela foi lavado de forma cautelosa (com a perda mínima de material) em água corrente e armazenado em potes de plásticos contendo etanol 70% (v/v), para preservar as amostras até sua respectiva análise. As análises foram realizadas utilizando-se o sistema informatizado WinRhizo (WinRhizo Pro, Regent Inc. Instr., Canadá), conectado a um scanner (Epson, Expression 10000 XL, Epson America, Inc., USA), em que se mensuraram comprimento (cm), área superficial (cm²), diâmetro médio (\emptyset em mm) e volume das raízes (cm³). Após a finalização deste processo, as raízes foram dispostas em sacos de papel e transferidas para uma estufa de circulação de ar a 65 °C, durante 72 horas, para obter então a massa seca de cada raiz.

Análise dos dados

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância estatística e ao teste de comparação de médias pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$), utilizando o software estatístico SISVAR (Sistema de Análise de Variância - Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, Brasil).

Resultados

Análises ecofisiológicas

As plantas de sorgo BRS 332 inoculadas com as cepas de *Azospirillum brasilense* (A1 e A2) tiveram um aumento na altura da planta quando comparadas ao tratamento controle (A0) após sete e 15 dias de restrição hídrica (Figura 5). Este crescimento perdurou até a fase de florescimento, quando a planta parou de investir em aumento foliar e altura e passou a investir em enchimento de grãos. Observou-se um aumento significativo no diâmetro do caule dos tratamentos sem inoculação na dose mínima de nitrogênio (BN) (Figura 6).

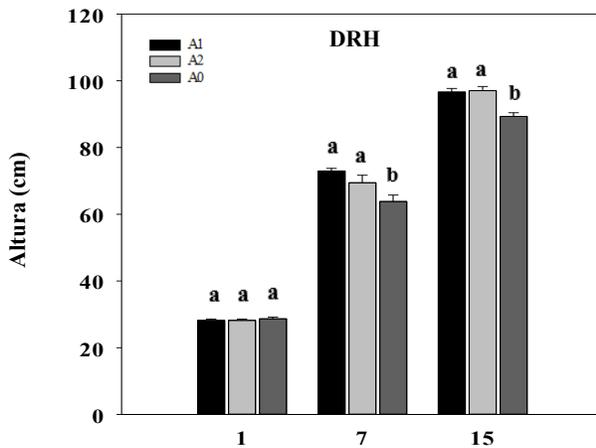


Figura 5. Altura de plantas de sorgo inoculadas com *Azospirillum brasilense* (tratamentos A1 e A2) e tratamento controle no 1º, 7º e 15º dia de restrição hídrica (DRH). Médias com mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

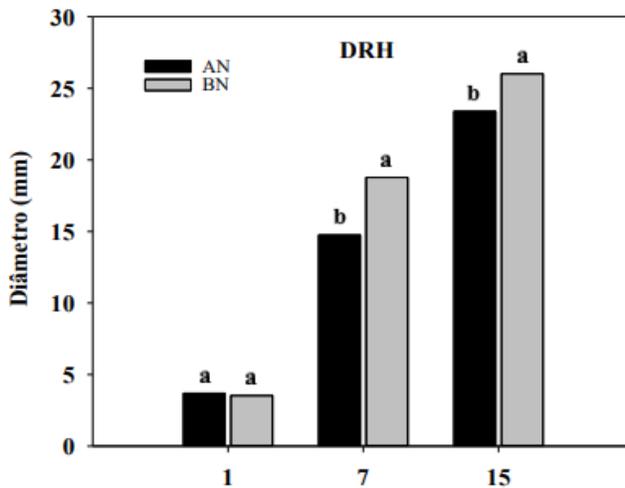


Figura 6. Diâmetro do caule de sorgo (mm) em duas doses de nitrogênio no tratamento controle no 1º, 7º e 15º dia de restrição hídrica (DRH). Médias com mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Nas análises ecofisiológicas, constatou-se que após sete dias de tratamento todas as plantas dessa cultivar que estavam sob restrição hídrica apresentaram redução significativa nos níveis de clorofila (Figura 7 A), assim como as plantas que estavam submetidas a doses mínimas de nitrogênio (BN) (Figura 7 B). Os resultados obtidos dos tratamentos A1 e A0 (Figura 8), sob condições de irrigação na capacidade de campo (CC), corroboram com os dados mostrados na Figura 7, ressaltando a degradação da clorofila quando submetidas a estresse hídrico e a baixas doses de N.

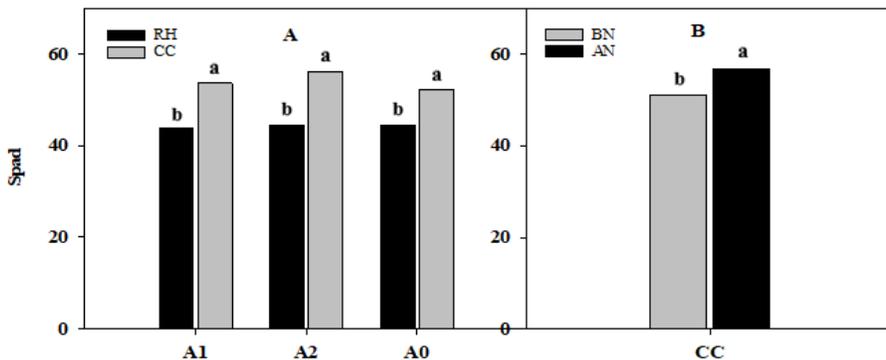


Figura 7. A) Teor relativo de clorofila nas folhas de sorgo inoculadas com A1 e A2 (*Azospirillum*) e controle (A0) submetidas a duas condições hídricas: RH (restrição hídrica) e CC (capacidade de campo). **B)** Teor relativo de clorofila em diferentes doses de nitrogênio (AN: 180 kg de N/ha e BN: 24 kg de N/ha) sob irrigação contínua. Médias com mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

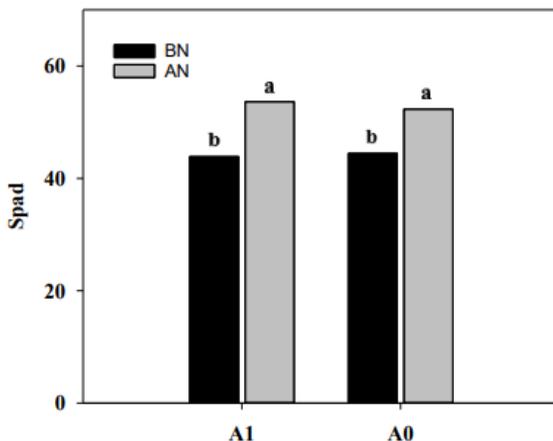


Figura 8. Teor de clorofila em tratamentos sob condições de irrigação na capacidade de campo (CC) em doses de 24 kg/ha N e 180 kg/ha N em tratamentos inoculados (A1) e controle (A0). Médias com mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

No 7º dia de RH das plantas, a relação da fluorescência variável e fluorescência máxima (Fv/Fm) apontou diferenças significativas na eficiência quântica do fotossistema II, tanto em relação às doses de N (Figura 9 A) quanto em relação aos inóculos nas diferentes condições de irrigação (Figura 9 B).

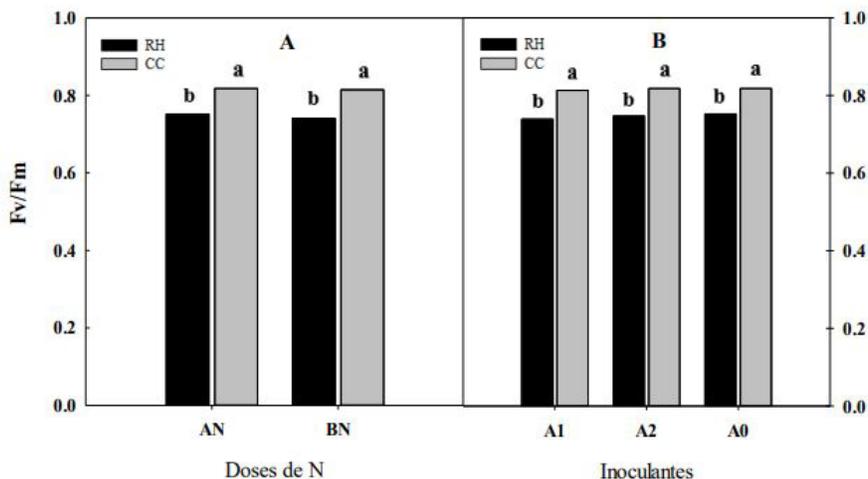


Figura 9. A) Eficiência do fotossistema II (Fv/Fm) em plantas de sorgo em diferentes doses de nitrogênio (AN:180 kg de N/ha e BN: 24 kg de N/ha) submetidas a duas condições hídricas: RH (restrição hídrica) e CC (capacidade de campo). **B)** Eficiência do fotossistema II em tratamentos inoculados (A1 e A2) e controle (A0) na interação de condição hídrica irrigado e estressado. Médias com mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Todas as plantas impostas a RH apresentaram redução do potencial hídrico foliar (Ψ_{md} - MPa) em comparação com aquelas que mantiveram a irrigação em nível de CC, independentemente da relação N vs. Bactérias vs. Controle (Tabela 2). As plantas cultivadas sob CC apresentaram maior taxa de condutância estomática quando comparadas àquelas que estavam em condições de RH (Figura 10 A). Entretanto, é válido ressaltar que as plantas tratadas com BN associadas ao *Azospirillum* (A1 e A2) se sobressaíram em relação àquelas que não continham inoculantes (A0) (Figura 10 B).

Tabela 2. Potencial hídrico foliar (Ψ_{md} - MPa) em plantas de sorgo submetidas à restrição hídrica (RH) e irrigação contínua e adubação nitrogenada, inoculadas com *Azospirillum brasilense* (A1 e A2) e tratamento controle (A0). Médias com mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

Tratamentos	Alta dose nitrogênio (180 kg de N/ ha)		Baixa dose nitrogênio (24 kg de N/ ha)	
	Irrigado	RH	Irrigado	RH
A1	-1,00 A	-2,14 B	-0,98 A	-2,14 B
A2	-1,12 A	-1,90 B	-1,08 A	-2,16 B
A0	-1,04 A	-1,96 B	-1,13 A	-2,28 B

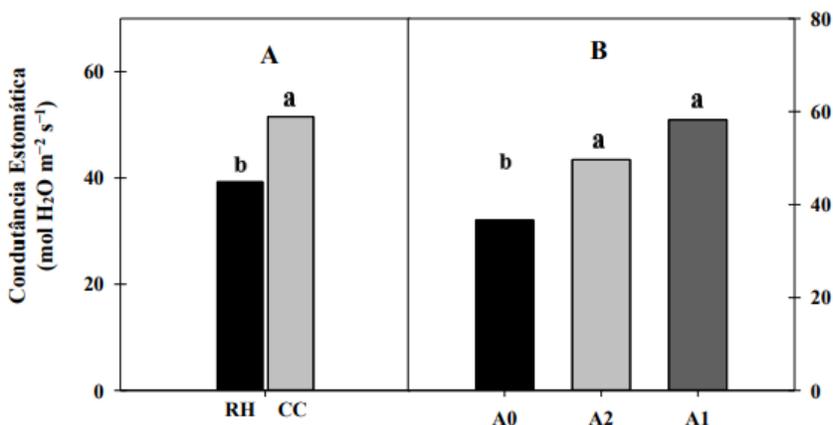


Figura 10. A) Taxas de condutância estomática ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em plantas de sorgo submetidas a duas condições hídricas: RH (restrição hídrica) e CC (capacidade de campo). B) Relação da condutância estomática ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em tratamentos inoculados com *Azospirillum brasilense* (A1 e A2) e tratamento controle (A0) em baixa dose de N.

Observou-se que, no 15º dia de RH, os resultados obtidos mantiveram padrões similares ao 7º DRH, tais como os danos significativos no fotossistema II apontados na relação Fv/Fm (Tabela 3) e a maior taxa de condutância estomática em plantas com irrigação a nível de CC (Tabela 4). O alto índice de condutância estomática foi verificado também nos tratamentos que continham BN associados a A2 (Figura 11). Sendo assim, através do índice SPAD, notou-se que a redução dos níveis de clorofila nos tratamentos com RH foi maior em A1 e A2 quando comparados com A0 em AN. (Figura 12 A - B).

Tabela 3. Fluorescência da clorofila em plantas de sorgo inoculadas com rizobactérias associada a doses de N vs. níveis de irrigação e controle. Médias com mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Tratamentos	Alta dose nitrogênio (180 kg de N/ ha)		Baixa dose nitrogênio (24 kg de N/ ha)	
	Irrigado	Estressado	Irrigado	Estressado
A1	0.8120 B	0.7220 A	0.8160 B	0.7260 A
A2	0.8240 B	0.7400 A	0.8240 B	0.7480 A
A0	0.8180 B	0.7590 A	0.8160 B	0.7360 A

Tabela 4. Taxas de condutância estomática ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em plantas com irrigação em nível de CC (condição de campo) e RH (restrição hídrica) em duas doses de nitrogênio. Médias com mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Tratamentos	Alta dose nitrogênio (180 kg de N/ ha)		Baixa dose nitrogênio (24 kg de N/ ha)	
	Irrigado	Restrição hídrica	Irrigado	Restrição hídrica
A1	160.16250 B	57.112500 A	121.55000 B	64.787500 A
A2	149.28750 B	77.112500 A	175.03750 B	58.637500 A
A0	136.83333 B	46.225000 A	142.86250 B	72.033333 A

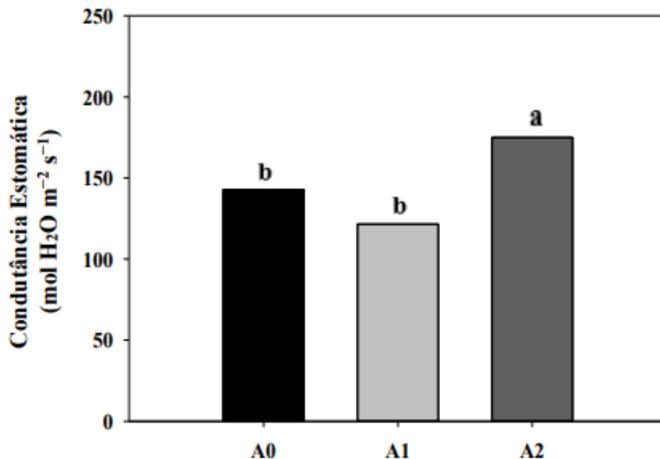


Figura 11. Efeitos de rizobactérias em plantas de sorgo cultivadas em condição de baixo nível de N (24 kg de N/ ha) em tratamentos controle (A0) e inoculadas com *Azospirillum brasilense* (A1 e A2) na condutância estomática (mol H₂O m⁻² s⁻¹). Médias com mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

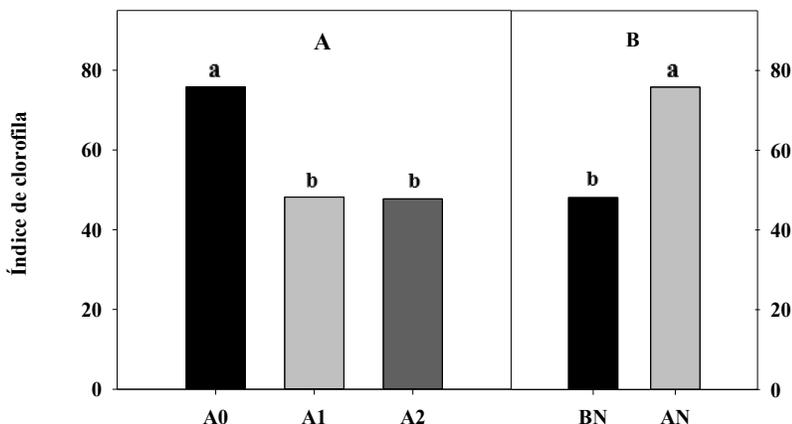


Figura 12. Redução do índice SPAD em *Azospirillum brasilense* sob restrição hídrica em alta dose de nitrogênio. Médias com mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Dados de rendimento e morfologia radicular

A avaliação estatística da parte aérea, como área foliar, massa fresca e massa seca, mostra que todos os tratamentos irrigados obtiveram valores estatisticamente superiores em relação aos tratamentos sob restrição hídrica (Figura 13). Entretanto, a inoculação com *Azospirillum brasilense* ajudou a mitigar o efeito da RH na produção dos grãos de sorgo. Em condição de estresse, a inoculação com *Azospirillum brasilense* aumentou significativamente a massa da panícula em relação ao tratamento controle (Figura 14). Além disso, verificou-se uma relação positiva entre RH vs. *Azospirillum brasilense* vs. BN, tanto em massa de panícula (Figura 15 A) quanto em diâmetro de panícula (Figura 15 B). O comprimento de panícula também foi superior nos tratamentos com restrição hídrica na condição de baixo nível de nitrogênio (Figura 16).

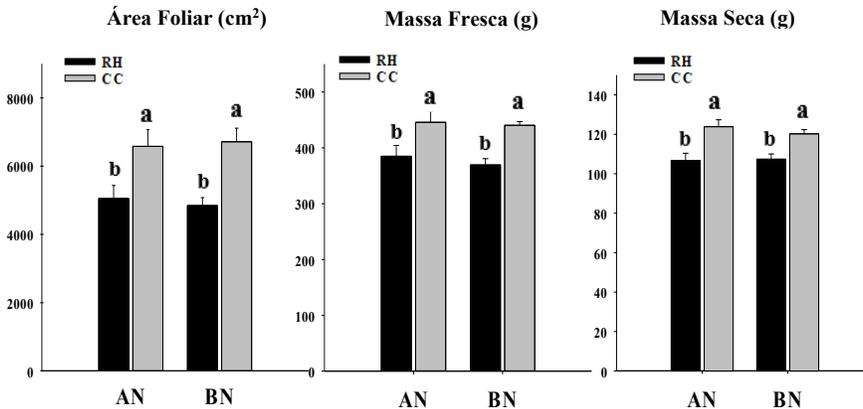


Figura 13. Avaliação da parte aérea de plantas de sorgo sob restrição hídrica (RH) e condição de campo (CC) em duas doses de N (AN:180 kg de N/ha e BN: 24 kg de N/ha). Médias com mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

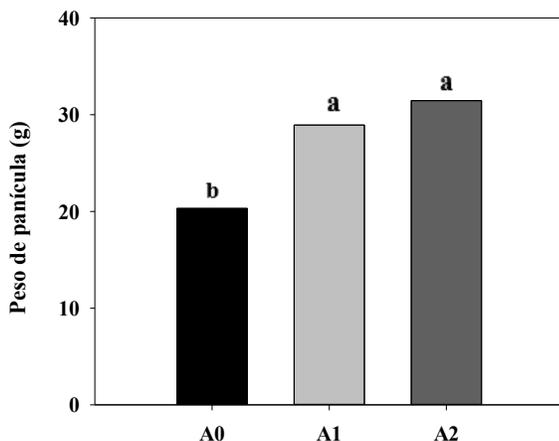


Figura 14. Relação de massa de panículas (g) entre tratamentos com rizobactérias e tratamentos controle em restrição hídrica. Médias com mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

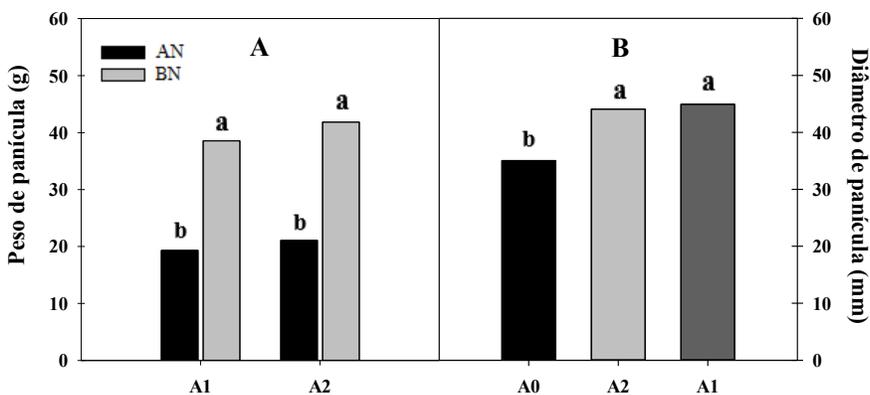


Figura 15. Efeito da inoculação de *Azospirillum brasilense* em plantas de sorgo. **A)** Massa de panículas de plantas cultivadas sob baixa e alta dose de nitrogênio (180 kg de N/ha e 24 kg de N/ha) em condições de restrição hídrica. **B)** Diâmetro de panículas de plantas inoculadas (A1 e A2) e controle. Médias com mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

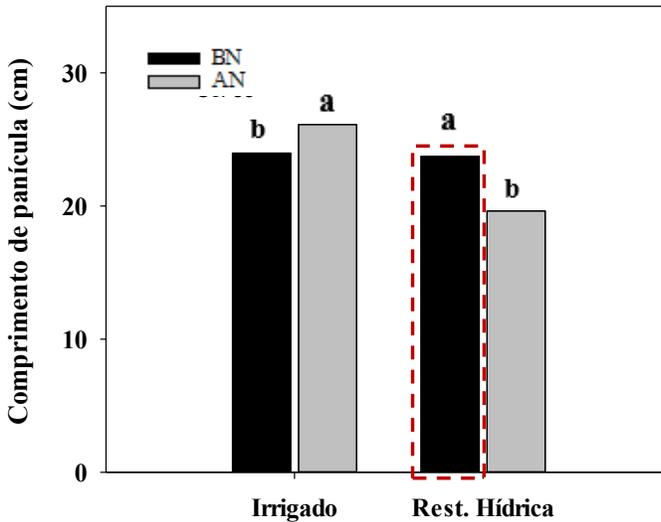


Figura 16. Variação do comprimento de panícula de sorgo em alto e baixo nitrogênio (180 kg de N/ha e 24 kg de N/ha) submetido a duas condições hídricas. Médias com mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Em relação à produtividade de grãos, os tratamentos que dispuseram da irrigação em CC obtiveram dados superiores quando comparados aos tratamentos com RH. No entanto, os valores de massa total de grãos em condições de estresse hídrico foram superiores no tratamento com *Azospirillum brasilense* (Figura 17). Ademais, observou-se que, tanto em massa de 100 grãos quanto em massa total de grãos, os tratamentos que compunham BN produziram uma quantidade maior de grãos do que os tratamentos que receberam doses de N em cobertura (Figura. 18). Entre eles, A2 se destacou estatisticamente em relação a sua alta produção em BN (Figura 19 A) em ambas as condições hídricas (Figura 19 B).

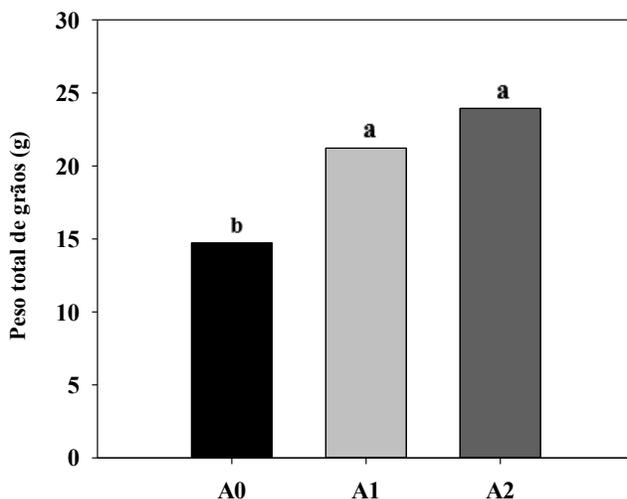


Figura 17. Efeito da inoculação de *Azospirillum brasilense* (A1 e A2) em relação ao controle (A0) na massa total de grãos da panícula de sorgo em condição de estresse hídrico. Médias com mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

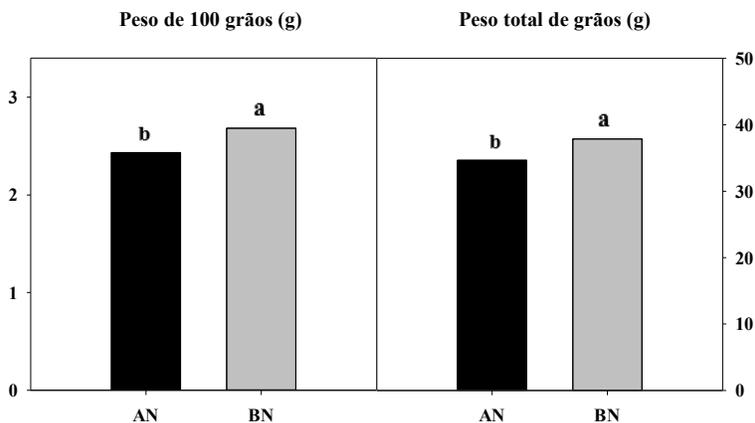


Figura 18. Produção de grãos de sorgo em diferentes doses de nitrogênio (AN:180 kg de N/ha e BN: 24 kg de N/ha). Médias com mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

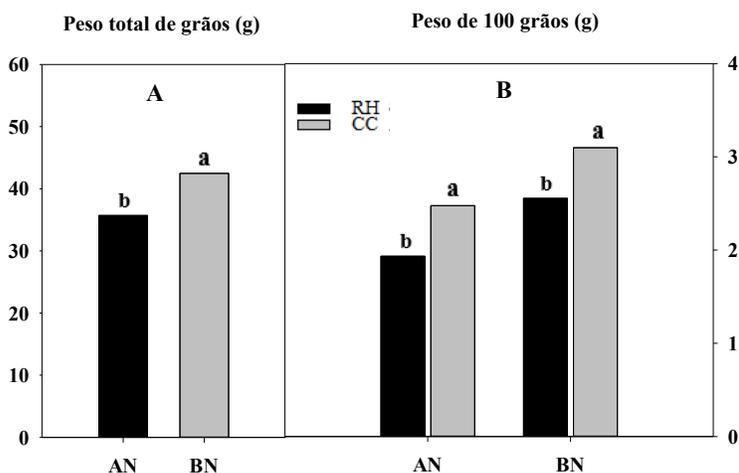


Figura 19. A) Produção de grãos de sorgo (g) inoculados com o inoculante A2 com aplicação mínima de ureia. B) Desempenho da bactéria A2 em RH e CC sob diferentes doses de N. Médias com mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Ao contrário das variáveis analisadas nos componentes de produção, nas quais os tratamentos que receberam baixa dosagem de nitrogênio tiveram alto rendimento de grãos, a morfometria do sistema radicular apresentou melhores resultados em comprimento de raiz, média do diâmetro radicular e massa seca quando ele foi associado à adubação de cobertura (AN) (Tabela 5). Os dados de massa seca retratam um índice inferior de massa dos tratamentos que receberam inoculantes quando comparados aos tratamentos controle (Figura 20). Todavia, não houve diferença estatística na área superficial destes mesmos tratamentos. Também não foram evidenciadas diferenças na morfologia radicular dos tratamentos irrigados e estressados, sendo este um fator interessante, pois se pressupõe que as rizobactérias auxiliaram no crescimento radicular das plantas submetidas à restrição hídrica.

Tabela 5. Morfometria do sistema radicular de plantas de sorgo submetidas a duas doses de N. Médias com mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

	Comprimento radicular (cm)	Diâmetro radicular (mm)	Massa seca (g)
Alta dose nitrogênio (180 kg de N/ ha)	1918.3029 A	23218.003 A	18.6180 A
Baixa dose nitrogênio (24 kg de N/ ha)	1726.0492 B	19519.148 B	15.2470 B

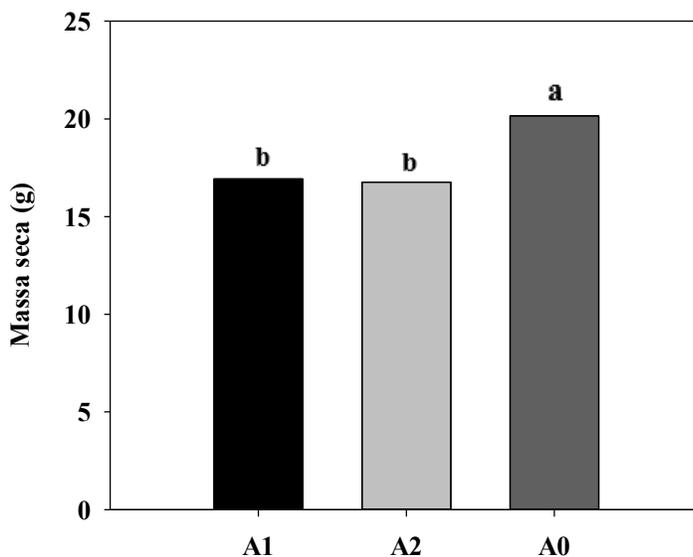


Figura 20. Massa seca (g) de raiz da planta de sorgo inoculado com *Azospirillum brasilense* (A1 e A2) quando comparado ao controle (A0). Médias com mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

A seca é um fator limitante de crescimento da planta, responsável por causar modificações morfofisiológicas e alterar seu desenvolvimento (Marques, 2019). Na presente pesquisa, demonstrou-se que as trocas gasosas, a parte aérea, tais como área foliar, massa fresca e massa seca, e os índices produtivos foram afetados consideravelmente pela restrição hídrica. Contudo, foi ostensivo que a associação da bactéria *A. brasilense* melhorou não só o crescimento do sistema radicular do sorgo BRS 332, mas também a altura de planta e conseqüentemente seu potencial hídrico foliar, uma vez que o *Azospirillum* é capaz de fixar o N_2 atmosférico usando um complexo de nitrogenases que funciona sob baixa concentração de oxigênio, conferindo às plantas maior tolerância a estresses abiótico.

As plantas de sorgo da cultivar em questão que foram inoculadas com as cepas de *Azospirillum brasilense* (A1 e A2), tiveram um aumento na altura da planta quando comparadas ao tratamento controle (A0). Contudo, não foi observada diferença estatística na interação com as doses de N. Apesar disso, são encontrados na literatura diversos estudos que relatam efeitos benéficos na associação de bactérias diazotróficas e aplicação de compostos nitrogenados. Rocha e Costa (2018) tiveram um percentual médio superior de 8% aos tratamentos inoculados e adubados em relação aos tratamentos controle, trabalhando com *Urochloa brizantha* cv Paiaguás. Em outra pesquisa desenvolvida com milho, Kappes et al. (2013) obtiveram resultados similares, em que estudaram a influência da inoculação com *A. brasilense*, tendo como resultado um aumento na altura das plantas de milho em virtude do uso da bactéria inoculada na semente.

Entre os macronutrientes, sabe-se que o nitrogênio é um dos nutrientes mais importantes para o desenvolvimento da planta. De acordo com Vanderlip (1999), o sorgo necessita de aproximadamente 70% de N até na metade de seu ciclo (sessenta dias após a emergência). Além de ser utilizado na síntese de proteínas, aminoácidos e DNA (Goulart, 2016), a sua ausência pode limitar o crescimento vegetal (Carvalho, 2005), tendo em vista que o nitrogênio atua diretamente no processo de divisão e expansão celular (Martins, 2013). No sorgo, é observada a alta concentração deste nutriente no colmo e nas folhas, e posteriormente ele é translocado em grande parte para os grãos

(Albuquerque et al., 2013). É pressuposto então que a bactéria conferiu às plantas melhor sobrevivência, especialmente pelo aumento da exploração do solo pelas raízes, uma vez que o *Azospirillum brasilense* auxilia na aquisição de recursos essenciais, como água, nitrogênio, fósforo e outros minerais (Fukami et al., 2017), além de alterar a morfometria radicular pela produção de substâncias reguladoras do crescimento das plantas, como os fitormônios (Kaushal, 2019). Esses resultados demonstram concordância com resultados obtidos por Marques (2019).

Observou-se também que os componentes de produção das panículas do sorgo granífero BRS 332 tiveram um alto rendimento quando adubados em baixa dose de N. Em Ituitaba- MG, Mortate et al. (2020), trabalhando com sorgo granífero associado à inoculação de *Azospirillum brasilense* e diferentes doses de N, obtiveram resultados similares, em que a produtividade do sorgo apresentou incrementos quando as sementes receberam inoculação e a redução no uso de adubos nitrogenados em até 25%. Uma das hipóteses abordadas é a coibição das bactérias pelo nutriente. Roesch et al. (2006) observaram em milho que a aplicação de altas doses de N ocasionava a inibição da colonização por bactérias diazotróficas. Segundo Fonseca (2014), o nitrogênio pode alterar o estado fisiológico da planta, portanto, a interação com bactérias pode ser afetada. Mortate et al. (2020) observaram que em casa de vegetação o tratamento com 200 kg de ureia ha⁻¹ inibiu a proliferação das bactérias diazotróficas. Os pesquisadores obtiveram ainda resultados que reforçam a afirmativa de que a população de bactérias diazotróficas na rizosfera das plantas de sorgo, provenientes de sementes inoculadas com *A. brasilense*, decresceu à medida que se aumentou a dose de ureia aplicada em cobertura.

A imposição da restrição hídrica no genótipo de sorgo em questão diminuiu o potencial hídrico foliar, no entanto, não houve diferença entre os tratamentos com as rizobactérias. Marques (2019) encontrou resultados similares no cultivo de milho. Arzanesh et al. (2011) por outro lado, obtiveram resultados diferentes em plantas de trigo sob as mesmas condições de seca.

A primeira resposta à diminuição do potencial hídrico é o fechamento dos estômatos, mecanismo esse utilizado para reduzir a perda de água para a atmosfera. Isso ocorre porque a absorção de CO₂ e a taxa fotossintética são reduzidas pelas plantas, conseqüentemente, o seu desenvolvimento tam-

bém é afetado (Marques, 2019). Isso foi confirmado nesse trabalho, uma vez que plantas em CC exibiram maiores valores de condutância estomática. Sobretudo, é válido ressaltar que as plantas tratadas com BN associadas ao *Azospirillum brasilense* se sobressaíram em relação às parcelas que não continham inoculantes. Este resultado sugere que as bactérias reduziram a limitação do mecanismo não estomático que a restrição hídrica reflete nas plantas deste híbrido em questão.

Chapman e Barreto (1997) explicam que o teor de clorofila está relacionado ao fato de que mais de 50% do nitrogênio total das folhas integram os compostos do cloroplasto e da clorofila. Ou seja, todas as plantas que estavam sob restrição hídrica (RH) apresentaram redução significativa nos níveis de clorofila. Os resultados encontrados neste trabalho corroboram com a afirmativa feita por Ávila (2018) e Kalaji et al. (2016), uma vez que a fluorescência da clorofila *a* é um indicativo da integridade e eficiência do fotossistema II. Os valores obtidos pelo flourpen estavam abaixo de 0,75, e este resultado mostra que a quinona (receptora primária de elétrons do fotossistema II - FSII) está totalmente oxidada e que o centro de reação do FSII está aberto, ou seja, ocorreu uma possível destruição do centro de reação do FSII ou diminuição na capacidade de transferência da energia para os demais componentes (Konrad et al., 2005). Assim, uma menor fluorescência indica um menor nível de estresse e uma maior eficiência fotoquímica.

Conclusão

A inoculação com as cepas de *Azospirillum brasilense* aumenta significativamente o desenvolvimento da parte aérea e a produção de grãos da cultivar de sorgo BRS 332, especialmente em condição de baixa dose de nitrogênio, além de auxiliar no crescimento do sistema radicular, minimizando, portanto, os efeitos da restrição hídrica.

Referências

ALBUQUERQUE, C. J. B.; CAMARGO, R. C.; SOUZA, M. F. Extração de macronutrientes no sorgo granífero em diferentes arranjos de plantas. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 12, n. 1, p. 10-20, 2013. DOI: <https://doi.org/10.18512/1980-6477/rbms.v12n1p10-20>.

ARZANESH, M. H.; ALIKHANI, H. A.; KHAVAZI, K.; RAHIMIAN, H. A.; MIRANSARI, M. Wheat (*Triticum aestivum* L.) growth enhancement by *Azospirillum* sp. under drought stress. **World Journal of Microbiol Biotechnology**, v. 27, n. 2, p. 197-205, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11274-010-0444-1>.

ÁVILA, R. G. **Indução de tolerância à seca em sorgo cultivado sob déficit hídrico e suplementado com silício e nitrato de potássio no pré-florescimento**. 2018. 124 p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2018.

BATISTA, P. S. C.; MENEZES, C. B.; CARVALHO, A. J.; PORTUGAL, A. F.; BASTOS, E. A.; CARDOSO, M. J.; SANTOS, C. V.; JULIO, M. P. M. Performance of grain sorghum hybrids under drought stress using GGE bi-plot analyses. **Genetics and Molecular Research**, v. 16, n. 3, gmr16039761, 2017. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/164135/1/Performancegrain.pdf>. Acesso em: 4 jun. 2020.

CARVALHO, P. **Efeitos do nitrogênio no crescimento e no metabolismo de frutanos em *Vernonia herbacea* (vell) rusby**. 2005. 116 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11144/tde-09112005-125438/publico/PatriciaCarvalho.pdf>. Acesso em: 3 fev. 2020.

CHAPMAN, S. C.; BARRETO, H. J. Using a chlorophyll meter to estimate specific leaf nitrogen of tropical maize during vegetative growth. **Agronomy Journal**, v. 89, n. 4, p. 557-562, 1997. DOI: <https://doi.org/10.2134/agronj1997.00021962008900040004x>.

FONSECA, L. M. F. **Inoculação com estirpes de *Azospirillum* e adubação nitrogenada no acúmulo de nutrientes e produtividade de milho**. 2014. 48 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal de São João del-Rei, Sete Lagoas, 2014. Disponível em: <https://ufsj.edu.br/por->

tal2-repositorio/File/ppgca/Dissertacao%20Livia%20Ferraz(2).pdf. Acesso em: 3 abr. 2020.

FUKAMI, J.; OLLERO, F. J.; MEGÍAS, M.; HUNGRIA, M. Phytohormones and induction of plant-stress tolerance and defense genes by seed and foliar inoculation with *Azospirillum brasilense* cells and metabolites promote maize growth. **AMB Express**, v. 7, article 153, 2017. DOI: <https://dx.doi.org/10.1186%2Fs13568-017-0453-7>.

GOULART, M. M. P. **Fontes e doses de nitrogênio em cobertura na cultura do sorgo granífero na safrinha**. 2016. 60 p. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Rio Verde, 2016. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/104337/1/Fontesdoses.pdf>. Acesso em: 3 fev. 2020.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasiliense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 36 p. (Embrapa Soja. Documentos, 325).

KALAJI, H. M.; JAOO, A.; OUKARROUM, A.; BRESTIC, M.; ZIVCAK, M.; SAMBORSKA, I. A.; CETNER, M. D.; LUKASIK, I.; GOLTSEV, V.; LADLE, R. Chlorophyll a fluorescence as a tool to monitor physiological status of plants under abiotic stress conditions. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 38, article 102, 2016. DOI: <https://dx.doi.org/10.1007/s11738-016-2113-y>.

KAPPES, C.; ARF, O.; ARF, M. V.; FERREIRA, J. P.; DAL BEM, E. A.; PORTUGAL, J. R.; VILELA, R. G. Inoculação de sementes com bactérias diazotróficas e aplicação de nitrogênio em cobertura e foliar em milho. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 2, p. 527-528, 2013. DOI: <https://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2013v34n2p527>.

KAUSHAL, M. Portraying rhizobacterial mechanisms in drought tolerance: a way forward toward sustainable agriculture. In: SINGH, A. K.; KUMAR, A.; SINGH, P. K. (Ed.). **PGPR amelioration in sustainable agriculture**. Cambridge: Woodhead Publishing, 2019. p. 195-216. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815879-1.00010-0>.

KONRAD, M. L. F.; SILVA, J. A. B. da; FURLANI, P. R.; MACHADO, E. C. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila em seis cultivares de cafeeiro sob estresse de alumínio. **Bragantia**, v. 64, n. 3, p. 339-347, 2005. DOI: <https://>

doi.org/10.1590/S0006-87052005000300004. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/brag/v64n3/26427.pdf>. Acesso em: 4 jun. 2020.

MARQUES, D. M. **Déficit hídrico e doses de nitrogênio na morfofisiologia e produção de genótipos de milho inoculados por *Azospirillum brasilense***. 2019. 79 p. Tese (Doutorado em Botânica Aplicada) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2019.

MARTINS, I. S. **Doses, épocas e modos de aplicação da ureia comum e revestida na cultura do milho**. 2013. 77 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2013. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/88257/000725699.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 3 fev. 2020.

MORTATE, R. K.; NUNES, B. de M.; COSTA, E. M.; ROCHA, E. M.; VENTURA, M. V. A.; PERERIA, L. S. Resposta de sorgo inoculado com *Azospirillum brasilense* a doses de nitrogênio em cobertura. **Ciência Agrícola**, v. 18, n. 1, p. 65-72, 2020. DOI: <https://doi.org/10.28998/rca.v18i1.7388>.

REIS, C. O. ***Azospirillum brasilense*: alternativa ecológica na superação do estresse hídrico em milho**. 2019. Tese (Doutorado em Botânica Vegetal) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, 2019.

REIS, D. P. **Produtividade de milho e ecologia microbiana da rizosfera de plantas sob diferentes métodos de inoculação e níveis de nitrogênio**. 2015. 61 p. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia) - Universidade Federal de São João del-Rei, São João del-Rei, 2015.

ROCHA, A. F. S.; COSTA, R. R. G. F. Desempenho de *Urochloa brizantha* cv Paiaguás inoculada com *Azospirillum brasilense* e diferentes doses nitrogênio. **Global Science and Technology**, v. 11, n. 3, p. 177-186, 2018. DOI: <https://doi.org/10.18227/1982-8470ragro.v11i3.3916>.

ROESCH, L. F. W.; OLIVARES, F. L.; PASSAGLIA, L. P. M.; SELBACH, P. A.; SÁ, E. L. S.; CAMARGO, F. A. O. Characterization of diazotrophic bacteria associated with maize: effect of plant genotype, ontogeny and nitrogen-supply. **World Journal of Microbiology Biotechnology**, v. 22, p. 967-974, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11274-006-9142-4>.

SILVA, A. F.; RODRIGUES, J. A. S. (Ed.). **Sorgo**: o produtor pergunta, a Embrapa responde. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2015. 332 p. (Coleção 500 perguntas, 500 respostas).

VANDERLIP, R. L. **How a sorghum plant develops**. Manhattan: Kansas State University Agricultural, 1999. 20 p.

Embrapa

Milho e Sorgo



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



PÁTRIA AMADA
BRASIL
GOVERNO FEDERAL

