

Resposta do Milho à Inoculação com Rizobactérias sob Diferentes Níveis de Estresse Hídrico



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

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
240**

**Resposta do Milho à Inoculação com Rizobactérias
sob Diferentes Níveis de Estresse Hídrico**

*Caroline de Oliveira Reis
Isabel Regina Prazeres de Souza
Paulo César Magalhães
Ivanildo Evódio Marriel
Camilo de Lelis Teixeira de Andrade*

Embrapa Milho e Sorgo
Sete Lagoas, MG
2022

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
Márcio Augusto Pereira do Nascimento

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
Márcio Augusto Pereira do Nascimento

Foto da capa
Arnaldo M Pontes

1ª edição
Publicação digital (2022): PDF

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)

Embrapa Milho e Sorgo

Resposta do milho à inoculação com rizobactérias sob diferentes níveis de estresse hídrico / Caroline de Oliveira Reis et al. – Sete Lagoas : Embrapa Milho e Sorgo, 2022.

PDF (31 p.) : il. color. – (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Milho e Sorgo, ISSN 1679-0154 ; 240).

1. *Zea mays*. 2. Bactéria. 3. Inoculação. 4. Deficiência hídrica. 5. Irrigação. I. Reis, Caroline de Oliveira. II. Souza, Isabel Regina Prazeres de. III. Magalhães, Paulo César. IV. Marriel, Ivanildo Evódio. V. Camilo de Lelis Teixeira de Andrade. VI. Série.

CDD (21.ed.) 633.15

Sumário

| | |
|------------------------------|----|
| Resumo | 5 |
| Abstract | 7 |
| Introdução..... | 8 |
| Material e Métodos | 10 |
| Resultados e Discussão | 13 |
| Conclusões..... | 21 |
| Referências..... | 22 |
| Literatura Recomendada | 29 |

Resposta do Milho à Inoculação com Rizobactérias sob Diferentes Níveis de Estresse Hídrico

Caroline de Oliveira Reis¹

Isabel Regina Prazeres de Souza²

Paulo César Magalhães³

Ivanildo Evódio Marriel⁴

Camilo de Lelis Teixeira de Andrade⁵

RESUMO - O estresse promovido por seca causa grandes prejuízos na produtividade agrícola a cada safra. Em resposta, as plantas passam por várias modificações podendo ter danos permanentes, resultando em quebra na produção. Várias adaptações e estratégias de mitigação são necessárias para lidar com o déficit hídrico. As rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCPs) podem desempenhar um papel significativo na mitigação do estresse hídrico em plantas. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito potencial da inoculação única e da coinoculação de estirpes de *Azospirillum brasilense* e de *Bacillus* spp. no desenvolvimento e desempenho produtivo de milho sob três regimes de irrigação. Estirpes homólogas de *Azospirillum brasilense* (Azos), de *Bacillus* spp (Bac), bem como da mistura (1:1) dessas estirpes de *Azospirillum brasilense* e *Bacillus* spp. (A+B) foram inoculadas em sementes do híbrido de milho DKB390 PRO3. O experimento foi conduzido em campo, e, ao atingirem o estágio de desenvolvimento V6, as plantas foram submetidas a regimes hídricos por meio do sistema de irrigação por aspersão *Line-source*: irrigação plena (reposição de 100% da evapotranspiração da cultura), déficit hídrico moderado (redução de 59% da lâmina de água da irrigação plena) e déficit hídrico severo (reposição de 32% da lâmina de água da irrigação plena). Os resultados mostram que sob déficit hídrico, o tratamento A+B influenciou no desenvolvimento do sistema

1 Doutoranda em Botânica, Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG.

2 Doutora Agrônoma, Pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas - MG

3 Doutor Agrônomo, Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas - MG.

4 Doutor Agrônomo, Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas - MG

5 Doutor Engenheiro Agrícola, Pesquisa, Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas - MG

radicular, promovendo incremento no número de raízes e na formação de raízes mais longas, profundas e mais finas. Sob regime de irrigação plena, os inoculantes Azos, Bac e A+B, aumentaram a concentração de N na parte aérea das plantas. Em plantas sob déficit hídrico, a coinoculação de A+B resultou em maiores concentrações de N e P na parte aérea das plantas. Os tratamentos Azos e a combinação A+B promoveram maiores massas de espigas e de grãos em comparação com os demais tratamentos, em plantas expostas a déficit hídrico severo. A inoculação de Azos e a coinoculação A+B também resultou em aumento de 13,3% e 15,2%, respectivamente, na produção de plantas com irrigação plena. Em função dos resultados é importante que sejam contínuos os estudos sobre os mecanismos associados às RPCPs e às interações planta-microrganismos visando contribuir para um sistema agrícola mais sustentável.

Termos para indexação: *Zea mays* L. irrigação por aspersão *Line-source*. *Azospirillum brasilense*. *Bacillus* spp

Maize Response to Inoculation with Rhizobacteria under Different Levels of Water Stress

ABSTRACT - The drought stress causes great productivity losses in each agricultural harvest. In response, plants undergo several changes and may have permanent damage resulting in lower production. Several adaptations and mitigation strategies are needed to deal with water deficit. *Plant growth-promoting rhizobacteria* (PGPR) may play a significant role in mitigating water stress in plants. In this context, the aim of this study was to evaluate the potential effect of single inoculation and co-inoculation of strains of *Azospirillum brasilense* and *Bacillus* spp. on the development and productive performance of maize under three irrigation levels. Homologous strains of *Azospirillum brasilense* (Azos), of *Bacillus* spp (Bac), as well as a mixture (1:1) of these strains of *Azospirillum brasilense* and *Bacillus* spp. (A+B) were inoculated in seeds of the maize hybrid DKB390 PRO3. The experiment was carried out in the field and when the plants reached the V6 developmental stage they were submitted to three irrigation levels using the Line-source sprinkler irrigation system: full irrigation (100% replacement of crop evapotranspiration), moderate water deficit (reduction of 59% of the full irrigation) and severe water deficit (replacement of 32% of the full irrigation). The results show that, under water deficit, the A+B treatment influenced the development of the root system by increasing the number of roots and the formation of longer, deeper and thinner roots. Under full irrigation, the inoculants Azos, Bac and A+B increased the concentration of N in the aerial part of the plants. In plants under water deficit, the co-inoculation of A+B resulted in higher concentrations of N and P in the aerial part of the plants. The Azos treatments and the A+B combination, promoted greater mass of ears and grains compared to the other treatments, in plants exposed to severe water deficit. The inoculation of Azos and the co-inoculation A+B also resulted in an increase of 13.3% and 15.2%, respectively, in the production of plants with full irrigation. Based on the results, it is important to continue studies on the mechanisms associated with RPCPs and plant-microorganism interactions, aiming to contribute to a more sustainable agricultural system.

Index terms: *Zea mays* L. Line-source sprinkler irrigation system. *Azospirillum brasilense*. *Bacillus* spp

INTRODUÇÃO

A seca é um estresse multidimensional, de difícil monitoramento, de natureza recorrente e geralmente não se limita a uma região ou período de tempo específico (Salehi-Lisar; Bakhshayeshan-Agdam, 2016). Para resistir à falta de água, as plantas usam diferentes mecanismos de enfrentamento do estresse, como síntese de espécies reativas de oxigênio, produção de hormônios do estresse, como etileno e ácido abscísico, e mudanças na morfologia da raiz e do caule (Etesami et al., 2015; Chiappero et al., 2019; Bhat et al., 2021). É imprescindível desenvolver métodos que contribuam para elevar os níveis de tolerância de uma planta à seca, permitindo um melhor crescimento e uma maior produção de grãos em cada safra, a fim de satisfazer a necessidade cada vez maior de alimentos. Existem muitas pesquisas voltadas para o desenvolvimento de tecnologias que promovem práticas agrícolas sustentáveis, e que favorecem o aumento da produtividade da cultura e maior tolerância ao déficit hídrico (Ali et al., 2011; Ansary et al., 2012; Zafar-UI-Hye et al., 2014; Park et al., 2017). Em alguns métodos, as interações planta-microrganismos benéficos são exploradas e são consideradas áreas promissoras para o foco de desenvolvimentos agrícolas sustentáveis.

Microrganismos benéficos do solo, como rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCPs), produzem grandes quantidades de substâncias que favorecem o desenvolvimento das plantas (Camele et al., 2019). Eles são capazes de produzir exopolissacarídeos, fitormônios, compostos voláteis, induzir o acúmulo de osmólitos e antioxidantes, de regular positiva ou negativamente genes responsivos ao estresse e alterar a morfologia radicular (Lim; Kim, 2013; Timmusk et al., 2014; Vurukonda et al., 2016), influenciando direta e indiretamente o crescimento e a morfologia das plantas, e conseqüentemente, aumentando o desenvolvimento e a produção. Uma característica notável de alguns destes é a capacidade de auxiliar plantas em ambientes estressados. Eles podem proteger as plantas

contra os efeitos prejudiciais de vários estresses ambientais, como secas e temperaturas elevadas (Chukwuneme et al., 2020; Hassan et al., 2020; Pereira et al., 2020). Muitos gêneros de bactérias são classificados como RPCPs, dentre estas se destacam as bactérias diazotróficas dos gêneros *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, dentre outras (Baldani; Baldani, 2005; Fukami et al., 2018).

A coinoculação de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas é considerada uma abordagem inovadora na melhoria do rendimento e da qualidade das culturas (Marimuthu et al., 2002; Gavilanes et al., 2020; Pereira et al., 2020). A proposta é combinar linhagens ou espécies atuando em diferentes processos microbianos, de modo que as características combinadas de cada uma resultem em maiores benefícios e, em última análise, maiores rendimentos. Exemplos de inoculantes mistos são aqueles que combinam microrganismos cujos principais processos são a fixação de nitrogênio, como no caso de *Bradyrhizobium* spp. e *Rhizobium* spp., a produção de fitormônios, como *Azospirillum* spp. e *Pseudomonas* spp., a solubilização de fosfato realizada, por exemplo, por *Bacillus* spp., ou o controle biológico por *Pseudomonas* spp. e *Bacillus* spp. (Santos et al., 2019). A aplicação de misturas imitaria a situação natural, tendo o potencial de ampliar o espectro de atividade de promoção do crescimento em plantas.

Uma característica importante do uso de *Azospirillum* é que a inoculação é mais bem-sucedida e lucrativa quando outros microrganismos são coinoculados (Bashan; Holguin, 1997). Existem vários exemplos de coinoculação com *Azospirillum brasilense*, em diversas culturas, como *Bradyrhizobium* em soja (Hungria et al., 2015; Chibeba et al., 2015), *Glomus intraradices* em tomate-cereja (Lira-Saldivar et al., 2014), *Rhizobium tropici* em feijão (Rodrigues et al., 2016; Hungria et al., 2013), *Paenibacillus polymyxa* em trigo (Yegorenkova et al., 2016), entre outros. Porém poucos relatos trazem informações sobre a coinoculação de *Azospirillum brasilense* e *Bacillus* ssp. na cultura do milho. Estes dois gêneros são conhecidos e estudados há décadas, *Azospirillum* por causa da sua capacidade de fixação de nitrogênio e produção de fitormônios (Hungria et al., 2010; Fukami et al., 2016, 2018) e *Bacillus* por sua eficiência em solubilizar fosfato, produzir ácidos orgânicos e proteger as plantas contra patógenos (Gomes et al., 2014; Subramanian; Smith, 2015; Abreu et al., 2017).

A combinação de bactérias associativas mostra várias vantagens, como maior tolerância a ambientes com condições adversas, aumento na capacidade de competir com a comunidade microbiana nativa e melhora no crescimento das plantas em comparação com a inoculação única (Yegorenkova et al., 2016; Kruasuwan; Thamchaipenet, 2016). A eficiência da coinoculação está intimamente relacionada à concentração celular de cada uma, à seleção adequada das linhagens, ao método de inoculação e ao genótipo da planta. Sendo assim, são necessárias pesquisas para gerar conhecimento visando a produção de novas formulações de inoculantes com bactérias mistas (Cassán et al., 2015). O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito potencial da inoculação e da coinoculação de estirpes de *Azospirillum brasilense* e de *Bacillus* spp. no desenvolvimento e desempenho produtivo de milho sob três regimes de irrigação.

MATERIAL E MÉTODOS

Inoculantes

Os inoculantes utilizados, pertencentes à Coleção de Microrganismos Multifuncionais e Fitopatogênicos da Embrapa Milho e Sorgo, foram obtidos a partir da mistura de duas estirpes de *Azospirillum brasilense* homólogas e de estirpes de *Bacillus* spp e da mistura dessas estirpes de *Azospirillum brasilense* e *Bacillus* spp., todos na proporção 1:1.

As estirpes selecionadas foram cultivadas em caldo de soja triplicaseína, durante 72 horas, na temperatura de 29 °C sob agitação constante. Após esse período, as culturas de cada estirpe foram centrifugadas, ressuspendidas em solução salina (0,85% NaCl) e ajustadas para densidade ótica igual a 1,0 em absorbância a 500 nm, que equivale a aproximadamente 10⁸ células viáveis por mL (Reis, 2015). A inoculação nas sementes foi realizada, utilizando-se como veículo o carvão vegetal moído e a goma de fécula de mandioca como aderente.

Condições ambientais e delineamento experimental

O ensaio foi conduzido no campo experimental na Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas-MG, Brasil, situada nas coordenadas geográficas: 19°28' S, 44°15'08" W e altitude média de 732 m. A região tem clima tropical semiúmido, com clima quente e verões chuvosos e invernos secos, classificado como Cwa, de acordo com Köppen (Alvares et al., 2013). A estação chuvosa é geralmente de outubro a março e a estação seca é de abril a setembro. O solo característico do local é classificado como do tipo Latossolo Vermelho Distrófico Argiloso, de fertilidade média.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados com quatro repetições. Cada parcela foi composta por quatro linhas, com 4,25 m de comprimento no espaçamento de 0,70 m, e foram distribuídas oito sementes por metro do híbrido de milho DKB390 PRO3, com posterior desbaste para cinco plantas por metro. A área útil da parcela foi constituída pelas duas linhas centrais. No plantio foi realizada adubação de base, sendo aplicados 400 kg/ha da fórmula 08-28-16 (NPK). Além da adubação de plantio, foi realizada adubação nitrogenada com 118 kg/ha de N divididos em duas coberturas.

A área foi irrigada uniformemente por aspersão, com os aspersores espaçados 9 m dentro da linha, desde a semeadura até 30 dias após o plantio (estádio de desenvolvimento V6), quando foram impostos os diferentes regimes hídricos, irrigação plena - 100%, déficit hídrico moderado - 59% e déficit hídrico severo - 32%, por meio do sistema de aspersão *Line-source* assim como mostrados na Tabela 1. O manejo da irrigação foi feito com o auxílio da planilha eletrônica Irriga Fácil, realizando o balanço de água no solo diariamente (Albuquerque; Andrade, 2001). A lâmina de água aplicada foi medida após cada irrigação em coletores instalados no centro das parcelas experimentais, e sempre posicionados logo acima do dossel da cultura, acompanhando o crescimento das plantas. Foram computadas as lâminas de água de irrigação e eventuais precipitações. Para minimizar a distorção do

padrão de aspersão, a irrigação foi aplicada em condições de vento ausente ou muito fraco.

Tabela 1. Temperaturas máxima (T Max °C) e mínima (T Min °C), evapotranspiração (mm) (ALLAN et al., 1998) e quantidade de água recebida pelas plantas (lâmina de irrigação + precipitação (mm)) durante o período experimental. Embrapa Milho e Sorgo (2019)

| Mês | T Max °C | T Min °C | ET ₀ (mm) | Lâminas de Irrigação (mm) + Precipitação (mm) | | |
|----------|----------|----------|----------------------|--|-------|-------|
| | | | | 100% | 59% | 32% |
| Abril | 23.42 | 21.82 | 79.00 | 179.0 | 171.3 | 167.2 |
| Mai | 21.68 | 20.02 | 97.05 | 106.6 | 63.4 | 41.8 |
| Junho | 19.41 | 17.41 | 89.24 | 115.9 | 50.2 | 17.4 |
| Julho | 18.26 | 16.13 | 99.93 | 115.7 | 54.5 | 0.0 |
| Agosto | 21.23 | 19.37 | 127.48 | 132.7 | 53.4 | 0.0 |
| Setembro | 25.02 | 22.89 | 129.74 | 51.3 | 21.5 | 0.0 |
| Total | | | 622.44 | 701.2 | 414.3 | 226.4 |

Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia (2022).

Análises

A arquitetura da raiz foi determinada utilizando a metodologia “Shovelomics”, descrita por Trachsel et al. (2011), com modificações. A terra foi escavada com pá ao redor da raiz, a qual foi retirada envolta em um bloco de terra. A remoção da fração solo aderida à coroa da raiz foi realizada por meio de cuidadosa lavagem com água. As raízes limpas foram avaliadas para as seguintes características: número de raízes da coroa (NRC), ângulo de crescimento das raízes da coroa (ACRC), comprimento médio de raízes da coroa (CRC) e diâmetro médio de raízes da coroa, tomado a 5 cm da inserção do caule (DRC). O ACRC é medido empregando-se transferidor feito em placa de acrílico.

Para a determinação da concentração dos macronutrientes nitrogênio (N) e fósforo (P), plantas inteiras foram coletadas, levadas à estufa de circulação forçada de ar a 65 °C até obtenção de massa constante, foram moídas em

moinho do tipo Willy, e o conteúdo destes nutrientes foi determinado de acordo com a metodologia descrita por Silva (2009).

Após a colheita, foram determinadas a massa das espigas (ME), massa dos grãos (MG), massa de 100 grãos (M100G) e a produção total de cada parcela extrapolada em quilo por hectare. Todos os dados foram corrigidos considerando o percentual de 13% de umidade base úmida.

Análise estatística

Para análise estatística dos resultados, utilizou-se a análise de variância (ANAVA) e o teste de comparação de médias Skott-Knott, a 0,05% de significância ($P \leq 0.05$), empregando-se o programa Sisvar versão 4.3 (Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, Brasil).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Características do sistema radicular

A morfologia e a arquitetura das raízes da coroa de plantas do milho híbrido DKB390 PRO3 foram influenciadas pela inoculação com RPCPs e pela quantidade de água aplicada durante o ciclo da cultura. O número de raízes da coroa (NRC) não diferiu dentro e entre os tratamentos para os regimes de irrigação de 100% e 32%. Com relação ao déficit hídrico moderado, lâmina de 59%, os inoculantes *Azospirillum brasilense* (Azos), *Bacillus* spp. (Bac) e *Azospirillum*+*Bacillus* (A+B) promoveram maior número de raízes em comparação ao tratamento sem inoculantes (Cont), sendo Azos e Bac os tratamentos que propiciaram os maiores NRC dentro as lâminas de irrigação em estudo (Tabela 2).

Raízes de plantas de milho cultivadas sob regime de irrigação plena, apresentaram menor ângulo de crescimento de raiz (ACRC) em relação à superfície do solo quando não inoculadas ou inoculadas com Bac, e consequentemente apresentaram raízes mais superficiais, conforme descrito

por Trachsel et al. (2011), em que os extremos da escala são raízes de ângulo menor (10°) e mais rasas, e as raízes de ângulo maior (90°) são mais profundas. Entretanto, o tratamento com *Azospirillum*, sozinho ou em coinoculação, contribuiu para um certo aumento no ângulo da raiz, favorecendo raízes mais profundas. Com a imposição de déficit hídrico moderado e severo, os tratamentos Cont e Bac apresentaram maiores médias de ACRC, demonstrando que Bac favoreceu o desenvolvimento de raízes um pouco mais profundas, pois apresentaram os maiores ângulos de crescimento nessas condições (Tabela 2). Raízes com ângulos rasos exploram predominantemente o solo superficial (Lynch; Brown, 2001), enquanto raízes com ângulos acentuados exploraram predominantemente camadas mais profundas do solo (Singh et al., 2010).

Tabela 2. Número de raízes da coroa (NCR), ângulo de crescimento de raízes da coroa (ACRC), comprimento de raízes da coroa (CRC) e diâmetro de raízes da coroa (DRC) de plantas de milho cultivadas em diferentes regimes de irrigação (100%, 59% e 35%) e inoculadas com *Azospirillum brasilense* (Azos), *Bacillus* sp. (Bac) e com a combinação de *Azospirillum brasilense* + *Bacillus* sp. (A+B). Embrapa Milho e Sorgo (2019).

| Inoc/Lâm | -----NRC----- | | | -----ACRC (°)----- | | |
|----------|--------------------|---------|---------|--------------------|--------|--------|
| | 100% | 59% | 32% | 100% | 59% | 32% |
| Cont | 12.25Aa | 11.00Ca | 11.25Aa | 25.0Bb | 37.5Aa | 40.0Aa |
| Azos | 13.25Ab | 14.75Aa | 11.00Ac | 37.5Aa | 30.0Aa | 35.0Aa |
| Bac | 12.00Ab | 14.50Aa | 11.25Ab | 27.5Bb | 32.5Ab | 40.0Aa |
| A+B | 11.50Ab | 13.00Ba | 11.75Ab | 35.0Aa | 20.0Bb | 22.5Bb |
| CV(%) | 7.84 | | | 7.67 | | |
| Inoc/Lâm | -----CRC (cm)----- | | | -----DRC (mm)----- | | |
| | 100% | 59% | 32% | 100% | 59% | 32% |
| Cont | 13.50Ba | 13.00Ba | 11.48Ab | 4.89Aa | 4.54Aa | 4.68Aa |
| Azos | 13.10Ba | 12.32Ba | 11.50Aa | 4.32Aa | 4.63Aa | 3.81Bb |
| Bac | 12.75Ba | 12.42Ba | 11.00Aa | 4.24Aa | 4.86Aa | 3.62Bb |
| A+B | 20.62Aa | 15.05Ab | 11.00Ab | 4.41Aa | 4.15Aa | 3.85Bb |
| CV(%) | 17.28 | | | 8.33 | | |

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na vertical ou minúscula na horizontal, não diferem entre si para o teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade ($p \leq 0.05$).

O comprimento e o diâmetro do sistema radicular são características relacionadas à performance das culturas sob estresse hídrico. A inoculação de A+B possibilitou aumento do comprimento das raízes da coroa (CRC) em plantas bem irrigadas (100%) e em plantas cultivadas sob déficit hídrico moderado (59%). Em plantas submetidas a déficit hídrico severo (32%), não houve diferença entre os tratamentos (Tabela 2).

A inoculação de rizobactérias não influenciou o diâmetro das raízes da coroa (DRC) de plantas bem irrigadas e nem daquelas cultivadas sob déficit hídrico moderado. Todos os tratamentos foram estatisticamente semelhantes nas condições de irrigação de 100% e 59%. Sob maior restrição hídrica (32%), os tratamentos Azos, Bac e A+B apresentaram raízes mais finas em comparação ao tratamento Cont (Tabela 2).

Concentração dos macronutrientes nitrogênio (A) e fósforo (B) na planta

Em plantas cultivadas sob regime de irrigação plena (100%), a inoculação com Azos, Bac e A+B promoveu maior concentração de nitrogênio (N) na parte aérea das plantas em comparação às plantas não inoculadas (Cont). Com a redução da lâmina de irrigação para 59%, não houve diferença entre os tratamentos. Já sob déficit hídrico severo, maiores concentrações de N foram encontradas nos tratamentos Cont e A+B (Fig. 1).

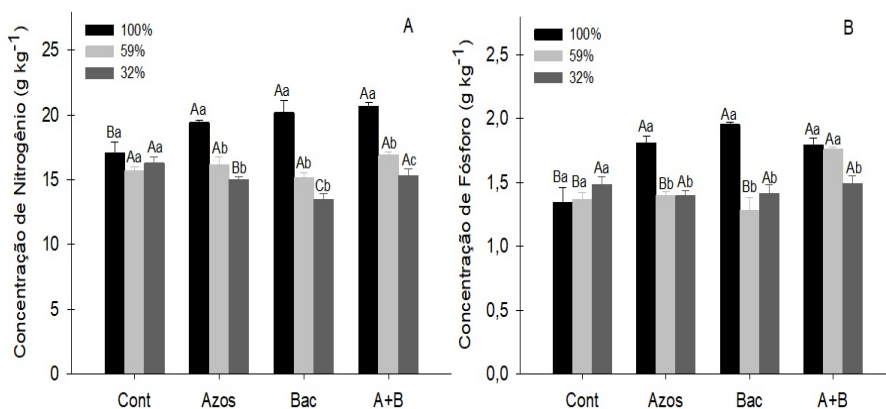


Figura 1. Concentração dos macronutrientes nitrogênio (A) e fósforo (B) nos tecidos de plantas de milho cultivadas sob diferentes regimes de irrigação (100%, 59% e

35%) e inoculadas com *Azospirillum brasilense* (Azos), *Bacillus* sp. (Bac) e com a coinoculação de *Azospirillum brasilense* + *Bacillus* sp. (A+B). Letras maiúsculas comparam os tratamentos dentro da mesma condição de irrigação. Letras minúsculas comparam os tratamentos dentro das diferentes condições de irrigação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si para o teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade ($p \leq 0.05$). Embrapa Milho e Sorgo (2019).

Com relação ao macronutriente fósforo, o uso de RPCPs também foi responsável por uma maior concentração desse elemento na parte aérea de plantas cultivadas no regime de irrigação plena (100%). O tratamento A+B manteve essa concentração alta e maior que os demais tratamentos, mesmo com a exposição ao déficit hídrico moderado (59%). Na condição de déficit hídrico severo (32%), todos os tratamentos foram estatisticamente iguais (Figura 1).

Componentes produtivos

Com relação aos atributos produtivos em plantas mantidas nos regimes de irrigação plena e déficit hídrico moderado, o tratamento com RPCPs não gerou aumento na massa de espigas (ME) em comparação ao tratamento controle não inoculado (Cont). Em plantas expostas a déficit hídrico severo, os inoculantes Azos e A+B resultaram em espigas com maior massa em relação aos demais tratamentos (Tabela 3).

Tabela 3. Massa de espigas (ME), massa grãos (MG) e massa de 100 grãos (M100G) de plantas de milho cultivadas em diferentes regimes de irrigação (100%, 59% e 32%) e inoculadas com *Azospirillum brasilense* (Azos), *Bacillus* sp. (Bac) e com a combinação de *Azospirillum brasilense* + *Bacillus* sp. (A+B). Embrapa Milho e Sorgo (2019).

| Inoc/Lâm | ME (g) | | | MG (g) | | | M100G (g) | | |
|----------|----------|----------|----------|----------|----------|---------|-----------|---------|---------|
| | 100% | 59% | 32% | 100% | 59% | 32% | 100% | 59% | 32% |
| Cont | 180.25Aa | 154.92Ab | 103.37Bc | 148.02Ba | 130.15Aa | 77.52Bb | 30.82Aa | 25.87Bb | 21.65Ac |
| Azos | 194.35Aa | 150.20Ab | 110.12Ac | 166.80Aa | 126.15Ab | 89.24Ac | 32.62Aa | 26.90Bb | 22.37Ab |
| Bac | 155.45Ba | 139.07Bb | 89.12Cc | 133.77Ba | 120.77Aa | 70.27Bb | 29.75Aa | 22.50Bb | 20.65Ab |
| A+B | 187.82Aa | 155.00Ab | 113.15Ac | 168.87Aa | 130.57Ab | 95.75Ac | 34.90Aa | 31.85Aa | 21.52Ab |
| CV(%) | 20.76 | | | 20.67 | | | 21.12 | | |

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na vertical ou minúscula na horizontal não diferem entre si para o teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade ($p \leq 0.05$).

A inoculação das sementes de milho com estirpes das rizobactérias Azos e A+B também resultou em aumento da massa de grãos (MG), tanto em plantas com irrigação plena, quanto naquelas submetidas a regime hídrico de 32%. Sob déficit hídrico moderado, não houve diferença estatística entre os tratamentos (Tabela 3).

Também não houve diferença estatística ($p < 0.05$) ente os tratamentos para massa de 100 grãos (M100G) em plantas bem irrigadas e aquelas submetidas a déficit hídrico severo. Em plantas cultivadas sob déficit hídrico moderado, o tratamento A+B foi superior aos demais para este atributo. Vale ressaltar ainda que a combinação das rizobactérias *Azospirillum*+*Bacillus*

conseguiu manter a M100G mesmo com a redução do regime de irrigação de 100% para 59% (Tabela 3).

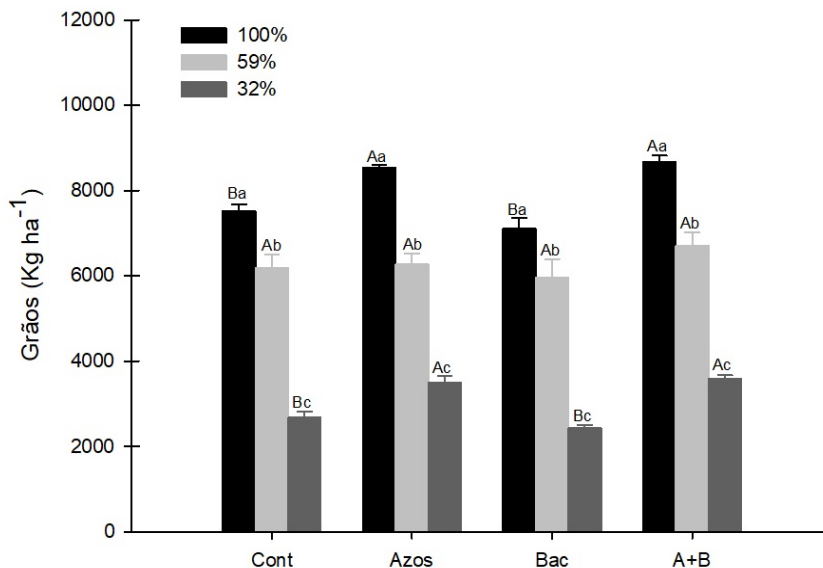


Figura 3. Rendimento de grãos de milho (Kg ha^{-1}) de plantas cultivadas em diferentes regimes de irrigação (100%, 59% e 35%) e inoculadas com *Azospirillum brasilense* (Azos), *Bacillus* sp. (Bac) e com a combinação de *Azospirillum brasilense* + *Bacillus* sp. (A+B). Letras maiúsculas comparam os tratamentos dentro da mesma condição de irrigação. Letras minúsculas comparam os tratamentos dentro das diferentes condições de irrigação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si para o teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade ($p \leq 0.05$). Embrapa Milho e Sorgo (2019).

Analisando a produção de grãos em kg ha^{-1} , notou-se que o tratamento com *Azospirillum brasilense* e a combinação *Azospirillum*+*Bacillus* geraram aumento na produção do híbrido DKB390 cultivado sob regime de irrigação plena (100%), bem como sob déficit hídrico severo (32%). Para a condição de irrigação de 59%, o uso de rizobactérias não aumentou a produção de grãos, sendo todos os tratamentos estatisticamente iguais (Fig. 3).

As raízes são as primeiras estruturas das plantas a perceberem as condições de seca que se avizinham e decretar a resposta primária, adaptando-se para maximizar a absorção de água e de nutrientes. As inoculações individuais de estirpes de *Azospirillum brasilense* e de *Bacillus*

spp. foram responsáveis pela produção de um maior número de raízes, com menor diâmetro, em milho sob déficit hídrico moderado e severo. A inoculação combinada de *Azospirillum brasilense* + *Bacillus* spp. também atuou no desenvolvimento do sistema radicular, promovendo, além de incremento no número de raízes, aumento na formação de raízes mais longas, profundas e finas, em plantas cultivadas sob déficit hídrico, proporcionando assim uma melhor exploração do solo.

Felici et al. (2008), em estudo sobre a inoculação única e a coinoculação de *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense* em *Lycopersicon esculentum*, relataram que ambas as bactérias promoveram um aumento no desenvolvimento do sistema radicular das plantas em aplicações individuais. Já as coinoculadas dessas RPCPs não geraram diferença significativa nas plantas em relação ao tratamento controle. Por outro lado, assim como observado no presente estudo, em pesquisas anteriores sobre combinações de RPCPs, a maioria dos microrganismos usados em misturas não interferiram negativamente entre si (Vestberg et al., 2004; Marimuthu et al., 2002). Pode-se sugerir então que a copresença de *Azospirillum brasilense* e *Bacillus* spp. na raiz de milho não neutraliza seus respectivos mecanismos de fitoestimulação.

Os benefícios da inoculação com *Azospirillum* estão relacionados à melhoria na aquisição de importantes recursos vegetais, como aumento da absorção de água, nitrogênio, fósforo e outros minerais (Fukami et al., 2017). O nitrogênio e o fósforo estão entre os principais elementos que a planta precisa em maiores quantidades para uma boa nutrição. O nitrogênio é um constituinte essencial de nucleotídeos, lipídios de membrana e aminoácidos. O fósforo desempenha um papel importante na fotossíntese, na respiração, no armazenamento, na transferência de energia, na divisão e no alongamento celular (Agbodjato et al., 2016).

Os resultados deste estudo mostram que o tratamento de plantas de milho com irrigação plena, com estirpes dos inoculantes Azos, Bac e A+B, aumentou a concentração de N na parte aérea das plantas em 10,9%, 18,2% e 21,2%, respectivamente, quando comparado ao controle não inoculado. Ardakani et al. (2011) relatam que inoculação de sementes de trigo com *Azospirillum brasilense* aumentou o teor de NPK da planta em 21%, 17% e 25%, respectivamente. De acordo com Marques et al. (2020), a presença

dessa mesma rizobactéria em milho irrigado proporcionou maior absorção de nutrientes e alteração na arquitetura radicular das plantas de milho, resultando em maior exploração do solo por essas raízes.

Assim como as RPCPs do gênero *Azospirillum*, a adição de inoculantes contendo estirpes de *Bacillus* spp. no solo pode acelerar a reciclagem e a disponibilidade de nutrientes (Coelho et al., 2007), além de solubilizar e mineralizar o fósforo presente na matéria orgânica e em fontes inorgânicas (Richardson et al., 2009; Oteino et al., 2015) e enriquecer biologicamente o solo. Os gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas* estão entre os microrganismos solubilizadores de fosfato mais eficientes (Tilak et al., 2005).

O uso de inoculantes também mostrou efeito positivo no acúmulo de nutrientes em plantas submetidas a seca. De acordo com os dados aqui observados, a inoculação conjunta de A+B possibilitou maiores concentrações de N e P na parte aérea das plantas cultivadas sob déficit hídrico. O estresse hídrico influencia a disponibilidade e o transporte de nutrientes do solo para as plantas, pois eles são transportados para as raízes pela água (Naylor; Coleman-Derr, 2018). No entanto, mudanças nas características do sistema radicular, como no comprimento, na espessura e no ângulo de crescimento da raiz, promovidas pelas rizobactérias, resultam em melhor capacidade de aquisição de nitrogênio e fósforo mesmo diante de condições de escassez de água (Chen et al., 2013).

Com relação às características produtivas, para alguns parâmetros como ME e M100G, não foi possível observar efeito significativo dos inoculantes quando comparados ao controle não inoculado, em plantas sob irrigação plena. Por outro lado, destacam-se a ação dos tratamentos *Azospirillum brasilense* e a combinação *Azospirillum brasilense* + *Bacillus* spp., sobre a ME e MG de plantas expostas a déficit hídrico severo. De acordo com Ohland et al. (2005), a massa de espigas e a massa de grãos são características influenciadas pela disponibilidade de nutrientes e de água durante o enchimento de grãos, logo, pode-se deduzir que os tratamentos Azos e A+B levaram a uma melhora na aquisição desses recursos pelas plantas.

Díaz-Zorita et al. (2015) evidenciaram em diversos estudos de campo, principalmente na América Latina e na Ásia, um aumento médio de 10% na produtividade de grãos de cereais em resposta à inoculação com *Azospirillum* spp. No presente estudo, a inoculação de Azos e a coinoculação

A+B resultaram em aumento nos percentuais de rendimento superiores aos citados por esses autores, sendo 13,3% e 15,2%, respectivamente, em plantas cultivadas sob irrigação plena. Mazzuchelli et al. (2014) avaliaram o efeito da inoculação de *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense* no crescimento e na produção de milho safrinha no norte do Paraná, e concluíram que a utilização de *Azospirillum brasilense* nas sementes aumentou em 21,9% a produtividade do milho, quando comparado ao tratamento controle.

CONCLUSÃO

A inoculação de sementes de milho com RPCPs é capaz de influenciar positivamente o crescimento das plantas e aumentar a produção da cultura. Sob condições ambientais desfavoráveis, como no déficit hídrico, as rizobactérias possuem um papel importante, auxiliando na adaptação e tolerância em plantas.

Em nosso estudo, foram encontrados comportamentos diferenciados entre a inoculação única e conjunta de rizobactérias em plantas, quanto às características fitométricas, nutricionais e de produção de milho. A coinoculação de estirpes de *Azospirillum brasilense* e *Bacillus* spp. se destacou na maioria das variáveis estudadas, o que mostra o alto potencial de uso combinado desses microrganismos para um melhor desenvolvimento e produção da cultura do milho.

O *Azospirillum brasilense* demonstra efeito no desenvolvimento radicular da planta como maior área de superfície e maior comprimento, aumentando assim a probabilidade de associação bem-sucedida. Este consórcio de inoculação parece funcionar bem com bactérias do gênero *Bacillus* incorporadas, auxiliando no fornecimento de outros nutrientes e contribuindo para um melhor desenvolvimento das plantas.

Embora a formulação de várias rizobactérias não adicione dificuldades técnicas significativas em comparação com a formulação de uma única bactéria, a interação desses microrganismos dentro de formulações necessita análises. Associado a isso, é importante que sejam contínuos os estudos sobre os mecanismos associados às RPCPs, as interações planta-microrganismos e a compatibilidade entre populações microbianas, a fim de

abrir caminho para aplicação em escala em nível de campo, visando manter sempre um sistema agrícola sustentável.

REFERÊNCIAS

ABREU, C. S. de; FIGUEIREDO, J. E.; OLIVEIRA, C. A.; SANTOS, V. L. dos; GOMES, E. A.; RIBEIRO, V. P.; BARROS, B. A.; LANA, U. G.; MARRIEL, I. E. Maize endophytic bacteria as mineral phosphate solubilizers. **Genetics and Molecular Research**, v. 16, n. 1, gmr16019294, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.4238/gmr16019294>.

AGBODJATO, N. A.; NOUMAVO, P. A.; ADJANOHOON, A.; AGBESSI, L.; BABA-MOUSSA, L. Synergistic effects of plant growth promoting rhizobacteria and chitosan on in vitro seeds germination, greenhouse growth, and nutrient uptake of maize (*Zea mays* L.). **Biotechnology Research International**, v. 2016, article 7830182, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1155/2016/7830182>.

ALBUQUERQUE, P. E. P. de; ANDRADE, C. de L. T. de. **Planilha eletrônica para a programação da irrigação de culturas anuais**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2001. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 10). Disponível em: https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPMS/13765/1/Circ_10.pdf. Acesso em: 25 ago. 2022.

ALI, S. K. Z.; SANDHYA, V.; GROVER, M.; RAO, L. V.; VENKATESWARLU, B. Effect of inoculation with a thermotolerant plant growth promoting *Pseudomonas putida* strain AKMP7 on growth of wheat (*Triticum* spp.) under heat stress. *Journal of Plant Interactions*, v. 6, n. 4, p. 239-246, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1080/17429145.2010.545147>.

ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; MORAES, G. O. N. de; CALVES, J. L.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711-728, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>.

ANSARY, M. H.; RAHMANI, H. A.; ARDAKANI, M. R.; PAKNEJAD, F.; HABIBI, D.; MAFAKHERI, S. Effect of *Pseudomonas* fluorescent on proline and phytohormonal status of maize (*Zea mays* L.) under water deficit stress. *Annals of Biological Research*, v. 3, n. 2, p. 1054-1062, 2012.

ARDAKANI, M. R.; MAZAHERI, D.; MAFAKHERI, S.; MOGHADDAM, A. Absorption efficiency of N, P, K through triple inoculation of wheat (*Triticum aestivum* L.) by *Azospirillum brasilense*, *Streptomyces* sp., *Glomus intraradices* and manure application. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 17, n. 2, p. 181-192, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1007%2Fs12298-011-0065-7>.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G. *Azospirillum*-plant relationships: environmental and physiological advances (1990 e 1996). **Canadian Journal of Microbiology**, v. 43, p. 103-121, 1997. DOI: <https://doi.org/10.1139/m97-015>.

BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: special emphasis on the Brazilian experience. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 77, n. 3, p. 549-579, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0001-37652005000300014>.

BHAT, M. A.; MIR, R. A.; KUMAR, V.; SHAH, A. A.; ZARGAR, S. M.; RAHMAN, S.; JAN, A. T. Mechanistic insights of CRISPR/Cas-mediated genome editing towards enhancing abiotic stress tolerance in plants. *Physiologia Plantarum*, v. 172, n. 2, p. 1255-1268, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1111/ppl.13359>.

CAMELE, I.; ELSHAFIE, H. S.; CAPUTO, L.; SAKR, S. H.; DE FEO, V. *Bacillus mojavensis*: biofilm formation and biochemical investigation of its bioactive metabolites. **Journal of Biological Research**, v. 92, n. 1, article 8296, 2019. DOI: <https://doi.org/10.4081/jbr.2019.8296>.

CASSÁN, F.; OKON, Y.; CREUS, C. M. (ed.). **Handbook for Azospirillum: technical issues and protocols**. Cham: Springer, 2015. 514 p.

CHEN, Y.; YAN, F.; CHAI, Y. R.; LIU, H. X.; KOLTER, R.; LOSICK, R.; GUO, J. H. Biocontrol of tomato wilt disease by *Bacillus subtilis* isolates from natural environments depends on conserved genes mediating biofilm formation. **Environmental Microbiology**, v. 15, n. 3, p. 848-864, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2012.02860.x>.

CHIAPPERO, J.; DEL ROSARIO CAPPELLARI, L.; ALDERETE, L. G. S.; PALERMO, T. B.; BANCHIO, E. Plant growth-promoting rhizobacteria improve the antioxidant status in *Mentha piperita* grown under drought stress leading to an enhancement of plant growth and total phenolic

content. *Industrial Crops and Products*, v. 139, article 111553, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111553>.

CHIBEBA, A. M.; GUIMARÃES, M. F.; BRITO, O. R.; NOGUEIRA, M. A.; ARAÚJO, R. S.; HUNGRIA, M. Co-inoculation of soybean with *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* promotes early nodulation. **American Journal of Plant Sciences**, v. 6, n. 10, p. 1641-1649, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2015.610164>.

CHUKWUNEME, C. F.; BABALOLA, O. O.; KUTU, F. R.; OJUADERIE, O. B. Characterization of actinomycetes isolates for plant growth promoting traits and their effects on drought tolerance in maize. **Journal of Plant Interactions**, v. 15, n. 1, p. 93-105, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1080/17429145.2020.1752833>.

COELHO, L. F.; FREITAS, S. S.; MELO, A. M. T.; AMBROSANO, G. M. B. Interação de bactérias fluorescentes do gênero *Pseudomonas* e *Bacillus* spp. com a rizosfera de diferentes plantas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, n. 6, p. 1413-1420, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-06832007000600018>.

DÍAZ-ZORITA, M.; CANIGIA, M. V. F.; BRAVO, O. A.; BERGER, A.; SATORRE, E. H. Field evaluation of extensive crops inoculated with *Azospirillum* sp. In: CASSÁN, F.; OKON, Y.; CREUS, C. M. (ed.). **Handbook for Azospirillum: technical issues and protocols**. Cham: Springer, 2015. p. 435-445.

ETESAMI, H.; ALIKHANI, H. A.; HOSSEINI, H. M. Indole-3-acetic acid and 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase: bacterial traits required in rhizosphere, rhizoplane and/or endophytic competence by beneficial bacteria. In: MAHESHWARI, D. K. (ed.). **Bacterial metabolites in sustainable agroecosystem**. Cham: Springer, 2015. p. 183-258. (Sustainable Development and Biodiversity, v. 12).

FELICI, C.; VETTORI, L.; TOFFANIN, A.; NUTI, M. Development of a strain specific genomic marker for monitoring a *Bacillus subtilis* biocontrol strain in the rhizosphere of tomato. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 65, n. 2, p. 289-298, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2008.00489.x>.

FUKAMI, J.; NOGUEIRA, M. A.; ARAÚJO, R. S.; HUNGRIA, M. Accessing inoculation methods of maize and wheat with

Azospirillum brasilense. **AMB Express**, v. 6, article 3, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13568-015-0171-y>.

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, n. 1, article 153, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13568-017-0453-7>.

FUKAMI, J.; CERZINI, P.; HUNGRIA, M. Azospirillum: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. **AMB Express**, v. 8, article 73, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0608-1>.

GAVILANES, F. Z.; ANDRADE, D. S.; ZUCARELI, C.; HORÁCIO, E. H.; YUNES, J. S.; BARBOSA, A. P.; RIBEIRO, L. A.; CRUZATTI, L. G.; MADDELA, N. R.; GUIMARÃES, M. F. Co-inoculation of *Anabaena cylindrica* with *Azospirillum brasilense* increases maize grain yield. **Rhizosphere**, v. 15, 100224, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2020.100224>.

GOMES, E. A.; SILVA, U. de C.; MARRIEL, I. E.; PAIVA, C. A. O.; LANA, U. G. de P. Rock phosphate solubilizing microorganisms isolated from maize rhizosphere soil. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 13, n. 1, p. 69-81, 2014. DOI: <https://doi.org/10.18512/1980-6477/rbms.v13n1p69-81>.

HASSAN, A. H. A.; HOZZEIN, W. N.; MOUSA, A. S. M.; RABIE, W.; ALKHALIFAH, D. H. M.; SELIM, S.; ABDELGAWAD, H. Heat stress as an innovative approach to enhance the antioxidant production in *Pseudoaerobicola* and *Bacillus* isolates. **Scientific Reports**, v. 10, 15076, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72054-y>.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, v. 331, p. 413-425, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0262-0>.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. **Biology and Fertility of Soils**, v. 49, p. 791-801, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00374-012-0771-5>.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Soybean seed co-inoculation with *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense*: a new biotechnological tool to improve yield and sustainability. **American Journal of Plant Sciences**, v. 6, n. 6, p. 811-817, 2015. DOI: <https://doi.org/10.4236/ajps.2015.66087>.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. **Banco de Dados Meteorológicos**. Disponível em: <https://bdmep.inmet.gov.br/>. Acesso em: 13 ago. 2022.

KRUASUWAN, W.; THAMCHAIPENET, A. Diversity of culturable plant growth-promoting bacterial endophytes associated with sugarcane roots and their effect of growth by co-inoculation of diazotrophs and actinomycetes. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 35, n. 4, p. 1074-1087, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00344-016-9604-3>.

LIM, J. H.; KIM, S D. Induction of drought stress resistance by multifunctional PGPR *Bacillus licheniformis* K11 in pepper. **Plant Pathology Journal**, v. 29, n. 2, p. 201-208, 2013. DOI: <https://doi.org/10.5423%2FPPJ.SI.02.2013.0021>.

LYNCH, J. P.; BROWN, K. M. Topsoil foraging: an architectural adaptation of plants to low phosphorous availability. **Plant and Soil**, v. 237, n. 2, p. 225-237, 2001.

LIRA-SALDIVAR, R.; HERNANDEZ, A.; VALDEZ, L.; CÁRDENAS, A.; IBARRA, L.; HERNÁNDEZ, M.; RUIZ, N. *Azospirillum brasilense* and *Glomus* intraradices co-inoculation stimulates growth and yield of cherry tomato under shadehouse conditions. **Phyton**, v. 83, p. 133-138, 2014.

MARIMUTHU, S.; SUBBIAN, P.; RAMAMOORTHY, V.; SAMIYAPPAN, R. Synergistic effect of combined application of *Azospirillum* and *Pseudomonas* fluorescence with inorganic fertilizer on root rot incidence and yield of cotton. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 109, n. 6, p. 569-577, 2002.

MARQUES, D. M.; MAGALHÃES, P. C.; MARRIEL, I. E.; GOMES JÚNIOR, C. C.; SILVA, A. B.; MELO, I. G.; SOUZA, T. C. de. *Azospirillum brasilense* favors morphophysiological characteristics and nutrient accumulation in maize cultivated under two water regimes. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 19, e1152, 2020. DOI: <https://doi.org/10.18512/1980-6477/rbms>.

MAZZUCHELLI, R. de C. L.; SOSSAI, B. F.; ARAÚJO, F. F. de. Inoculação de *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. **Colloquium Agrariae**, v. 10, n. 2, p. 40-47, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.5747/ca.2014.v10.n2.a106>.

NAYLOR, D.; COLEMAN-DERR, D. Drought stress and root-associated bacterial communities. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, article 2223, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02223>.

OHLAND, R. A. A.; SOUZA, L. C. F. de; HERNANI, L. C.; MARCHETTI, M. E.; GONÇALVES, M. C. Culturas de cobertura do solo e adubação nitrogenada no milho em plantio direto. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 3, p. 538-544, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542005000300005>.

OTEINO, N.; LALLY, R. D.; KIWANUKA, S.; LLOYD, A.; RYAN, D.; GERMAINE, K. J.; DOWLING, D. N. Plant growth promotion induced by phosphate solubilizing endophytic *Pseudomonas* isolates. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, article 745, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00745>.

PARK, Y. G.; MUN, B. G.; KANG, S. M.; HUSSAIN, A.; SHAHZAD, R.; SEO, C. W.; KIM, A. Y.; LEE, S. U.; OH, K. Y.; LEE, D. Y.; LEE, I. J.; YUN, B. W. *Bacillus aryabhatai* SRB02 tolerates oxidative and nitrosative stress and promotes the growth of soybean by modulating the production of phytohormones. **PLoS ONE**, v. 12, n. 3, e0173203, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173203>.

PEREIRA, S. I. A.; ABREU, D.; MOREIRA, H.; VEGA, A.; CASTRO, P. M. L. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) improve the growth and nutrient use efficiency in maize (*Zea mays* L.) underwater deficit conditions. **Heliyon**, v. 6, n. 10, e05106, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05106>.

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.

RICHARDSON, A. E.; BAREA, J. M. MCNEILL, A. M.; PRIGENT-COMBARET, C. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant

growth promotion by microorganisms. **Plant Soil**, v. 321, p. 301-339, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11104-009-9895-2>.

RODRIGUES, E. P.; SOARES, C. P.; GALVÃO, P. G.; IMADA, E. L.; SIMÕES-ARAÚJO, J. L.; ROUWS, L. F. M.; OLIVEIRA, A. L. M. de; VIDAL, M. S.; BALDANI, J. I. Identification of genes involved in indole-3-acetic acid biosynthesis by *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5 strain using transposon mutagenesis. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, article 1572, 2016. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01572>.

SANTOS, M. S.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Microbial inoculants: reviewing the past, discussing the present and previewing an outstanding future for the use of beneficial bacteria in agriculture. **AMB Express**, v. 9, article 205, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13568-019-0932-0>.

SALEHI-LISAR, S. Y.; BAKHSHAYESHAN-AGDAM, H. Drought stress in plants: causes, consequences, and tolerance. In: HOSSAIN, M.; WANI, S.; BHATTACHARJEE, S.; BURRITT, D.; TRAN, L. S. (ed.). **Drought stress tolerance in plants**. Cham: Springer, 2016. v. 1, p. 1-16.

SILVA, F. C. da (ed.). **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. rev. ampl. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2009. 627 p.

SINGH, V.; VAN OESTEROM, E. J.; JORDAN, D. R.; MESSINA, C. D.; COOPER, M.; HAMMER, G. L. Morphological and architectural development of root systems in sorghum and maize. **Plant and Soil**, v. 333, p. 287-299, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11104-010-0343-0>.

SUBRAMANIAN, S.; SMITH, D. L. Bacteriocins from the rhizosphere microbiome-from an agriculture perspective. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, article 909, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00909>.

TILAK, K. V. B. R.; RANGANAYAKI, N.; PAL, K. K.; DE, R.; SAXENA, A. K. Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria. **Current Science**, v. 89, n. 1, p. 136-150, 2005.

TIMMUSK, S.; ISLAM, A.; ABD, E. L. D.; LUCIAN, C.; TANILAS, T.; KÄNNASTE, A.; BEHERS, L.; NEVO, E.; SEISENBAEVA, G.; STENSTRÖN, E.; NIINEMETS, U. Drought-tolerance of wheat improved by rhizosphere bacteria from harsh environments: enhanced biomass production and

reduced emissions of stress volatiles. **PLoS One**, v. 9, n. 5, e96086, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096086>.

TRACHSEL, S.; KAEPLER, S. M.; BROWN, K. M.; LYNCH, J. P. Shovelomics: high throughput phenotyping of maize (*Zea mays* L.) root architecture in the field. **Plant and Soil**, v. 341, p. 75-87, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11104-010-0623-8>.

VESTBERG, M.; KUKKONEN, S.; SAARI, K.; PRIKKA, P.; HUTTUNEN, J.; TAINIO, L.; DEVOS, N.; WEEKERS, F.; KEVERS, C.; THONART, P.; LEMOINE, M. C.; CORDIER, C.; ALABOUVETTE, C.; GIANINAZZI, S. Microbial inoculation for improving the growth and health of micropropagated strawberry. **Applied Soil Ecology**, v. 27, n. 3, p. 243-258, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2004.05.006>.

VURUKONDA, S. S. K. P.; VARDHARAJULA, S.; SHRIVASTAVA, M.; SKZ, A. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. **Microbiological Research**, v. 184, p. 13-24, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.12.003>.

YEGORENKOVA, I. V.; TREGUBOVA, K. V.; BURYGIN, G. L.; MATORA, L. Y.; IGNATOV, V. V. Assessing the efficacy of co-inoculation of wheat seedlings with the associative bacteria *Paenibacillus polymyxa* 1465 and *Azospirillum brasilense* Sp245. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 62, n. 3, p. 279-285, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1139/cjm-2015-0647>.

ZAFAR-UL-HYE, M.; FAROOQ, M. H.; ZAHIR, Z. F.; HUSSAIN, M.; HUSSAIN, A. Application of ACC-deaminase containing rhizobacteria with fertilizer improves maize production under drought and salinity stress. **International Journal of Agriculture and Biology**, v. 16, n. 3, p. 591-596, 2014.

Literatura Recomendada

ALLEN, R.; PEREIRA, L. S.; RAES, D.; SMITH, M. **Crop evapotranspiration-guidelines for computing crop water requirements**. Roma: FAO, 1998. 300 p. (FAO. Irrigation and drainage paper, 56).

ALAHMAD, S.; EL HASSOUNI, K.; BASSI, F. M.; DINGLASAN, E.; YOUSSEF, C.; QUARRY, G.; AKSOY, A.; MAZZUCOTELLI, E.; JUHÁSZ, A.; ABLE, J. A.; CHRISTOPHER, J.; VOSS-FELS, K. P.; HICKEY, L. T. A major root architecture QTL responding to water limitation in durum wheat. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, article 436, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00436>.

BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. E. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth: a critical assessment. **Advances in Agronomy**, v. 108, p. 77-136, 2010. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(10\)08002-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(10)08002-8).

BATOOL, T.; ALI, S.; SELEIMAN, M. F.; NAVEED, N. H.; ALI, A.; AHMED, K.; ABID, M.; RIZWAN, M.; SHAHID, M. R.; ALOTAIBI, M.; AL-ASHKAR, I.; MUBUSHAR, M. Plant growth promoting rhizobacteria alleviates drought stress in potato in response to suppressive oxidative stress and antioxidant enzymes activities. **Scientific Reports**, v. 10, article 16975, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73489-z>.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1/2, p. 248-254, 1976. DOI: <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>.

BULEGON, L. G.; GUIMARÃES, V. F.; LAURETH, J. C. U. *Azospirillum brasilense* affects the antioxidant activity and leaf pigment content of *Urochloa ruziziensis* under water stress. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v. 46, n. 3, p. 343-349, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1590/1983-40632016v46a41489>.

CASSÁN, F.; VANDERLEYDEN, J.; SPAEPEN, S. Physiological and agronomical aspects of phytohormone production by model plant-growthpromoting rhizobacteria (PGPR) belonging to the genus *Azospirillum*. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 33, n. 2, p. 440-459, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00344-013-9362-4>.

CHANDRA, P.; WUNNAVA, A.; VERMA, P.; CHANDRA, A.; SHARMA, R. K. Strategies to mitigate the adverse effect of drought stress on crop plants: influences of soil bacteria: A review. **Pedosphere**, v. 31, n. 3, p. 496-509, 2021. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(20\)60092-3](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(20)60092-3).

GUIGNARD, M. S.; LEITCH, A. R.; ACQUISTI, C.; EIZAGUIRRE, C.; ELSER, J. J.; DAG, O.; HESSEN, D. O.; JEYASINGH, P. D.; NEIMAN, M.; RICHARDSON, A. E.; SOLTIS, P. S.; SOLTIS, D. E.; STEVENS, C. J.; TRIMMER, M.; WEIDER, L. J.; WOODWARD, G.; LEITCH, I. J. Impacts of nitrogen and phosphorus: from genomes to natural ecosystems and agriculture. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 5, article 70, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fevo.2017.00070>.

HAVIR, E. A.; MCHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiology**, v. 84, n. 2, p. 450-455, 1987. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.84.2.450>.

KAUSHAL, M.; WANI, S. Rhizobacterial-plant interactions: strategies ensuring plant growth promotion under drought and salinity stress. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 231, p. 68-78, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2016.06.031>.

LAXA, M.; LIEBTHAL, M.; TELMAN, W.; CHIBANI, K.; DIETZ, K. J. The role of the plant antioxidant system in drought tolerance. **Antioxidants**, v. 8, n. 4, article 94, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox8040094>.

LIN, J.; WANG, G. Doubled CO₂ could improve the drought tolerance better in sensitive cultivars than in tolerant cultivars in spring wheat. **Plant Science**, v. 163, n. 3, p. 627-637, 2002. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00173-5](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00173-5).

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, v. 22, n. 5, p. 867-880, 1981. DOI: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232>.

NGUMBI, E.; KLOEPPER, J. Bacterial mediated drought tolerance: current and future prospects. **Applied Soil Ecology**, v. 105, p. 109-125, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.04.009>.

NOTUNUNU, I.; MOLELEKI, L.; ROOPNARAIN, A.; ADELEKE, R. Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on the molecular responses of maize under drought and heat stresses: a review. **Pedosphere**, v. 32, n. 1, p. 90-106, 2022. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(21\)60051-6](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(21)60051-6).

ROSIER, A.; MEDEIROS, F. H. V.; BAIS, H. P. Defining plant growth promoting rhizobacteria molecular and biochemical networks in beneficial plant-microbe interactions. **Plant and Soil**, v. 428, p. 35-55, 2018.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s11104-018-3679-5>.

Embrapa

Milho e Sorgo



Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento

