



Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal no Semiárido

TOLERÂNCIA À SECA E ABSORÇÃO DE NUTRIENTES EM HÍBRIDOS DE MILHO BIOINOCULADOS

MARCOS LOPES DE CAMPOS

2025

MARCOS LOPES DE CAMPOS

**TOLERÂNCIA À SECA E ABSORÇÃO DE NUTRIENTES EM
HÍBRIDOS DE MILHO BIOINOCULADOS**

Tese apresentada à Universidade Estadual de Montes Claros, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal no Semiárido, área de concentração em Produção Vegetal, para obtenção do título de Doutor.

Orientador
Prof. Dr. Ignacio Aspiazú

JANAÚBA - MG
2025

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

Campos, Marcos Lopes de

C186t Tolerância à seca e absorção de nutrientes em híbridos de milho bioinoculados [manuscrito] / Marcos Lopes de Campos – 2025. 107 p.

Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal no Semiárido, Universidade Estadual de Montes Claros – Janaúba, 2025.

Orientador: Prof. Dr. Ignácio Aspiazú.

1. Milho. 2. Hibridação vegetal. 3. Plantas Efeito da seca. 4. Rizobactéria. I. Aspiazú, Ignácio. II. Universidade Estadual de Montes Claros. III. Título.

CDD. 633.15

Catálogo: Joyce Aparecida Rodrigues de Castro - Bibliotecária CRB 6/2445

MARCOS LOPES DE CAMPOS

TOLERÂNCIA À SECA E ABSORÇÃO DE NUTRIENTES EM HÍBRIDOS DE MILHO BIOINOCULADOS

Tese apresentada à Universidade Estadual de Montes Claros como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal no Semiárido, área de concentração em Produção Vegetal, para obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 26 de fevereiro de 2025

Prof. Dr. Ignacio Aspiazú
UNIMONTES (Orientador)

Dra. Isabel Regina Prazeres de Souza
EMBRAPA Milho e Sorgo (Coorientadora)

Dr. Paulo César Magalhães
EMBRAPA Milho e Sorgo (Coorientador)

Dr. Camilo de Lelis Teixeira de Andrade
EMBRAPA Milho e Sorgo (Conselheiro)

Prof. Dr. Samy Pimenta
UNIMONTES (Conselheiro)

**JANAÚBA – MG
2025**



Documento assinado eletronicamente por **Ignacio Aspiazú, Professor(a)**, em 26/02/2025, às 18:36, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 47.222, de 26 de julho de 2017](#).



Documento assinado eletronicamente por **Samy Pimenta, Professor de Educação Superior**, em 26/02/2025, às 18:42, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 47.222, de 26 de julho de 2017](#).



Documento assinado eletronicamente por **Camilo de Lelis Teixeira de Andrade, Usuário Externo**, em 27/02/2025, às 07:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 47.222, de 26 de julho de 2017](#).



Documento assinado eletronicamente por **Paulo César Magalhães, Usuário Externo**, em 27/02/2025, às 08:11, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 47.222, de 26 de julho de 2017](#).



Documento assinado eletronicamente por **Isabel Regina Prazeres de Souza, Usuário Externo**, em 05/03/2025, às 20:14, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 47.222, de 26 de julho de 2017](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.mg.gov.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **108444323** e o código CRC **43B4AA4E**.

Referência: Processo nº 2310.01.0028128/2024-16

SEI nº 108444323

*A Deus, autor e consumidor da minha fé;
Aos meus pais, por alicerçarem meu caráter e me incentivarem ao aprendizado;
À minha família e amigos, pelo sustento em oração e amparo ao longo desta jornada.
Dedico.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sua totalidade em minha vida e suprimento de todas as minhas necessidades;
À Universidade Estadual de Montes Claros – UNIMONTES e ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal no Semiárido – PPGPVS, pela minha formação acadêmica e profissional;
Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível superior – Capes e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG, pelo apoio financeiro e concessão de bolsas;
À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa, pela parceria e apoio a pesquisa;
Aos meus professores, por transmitirem o conhecimento, compartilharem da amizade e inspirarem-me ao saber, crescimento e desenvolvimento profissional;
À banca examinadora, pelas colaborações, disponibilidade e conhecimento agregado;
Aos Profs. Dr. Ignacio Aspiazú e Dr. Abner José de Carvalho, pelas orientações, ensinamentos e amizade compartilhada ao longo de toda a minha jornada acadêmica;
Ao Prof. Dr. Samy Pimenta e ao Dr. Pablo Fernando Santos Alves por todo auxílio e apoio;
Ao Prof. Dr. Marcos Koiti Kondo (*in memoriam*) pelo legado profissional, amizade e ensinamentos;
Aos funcionários e servidores da UNIMONTES, EMBRAPA e MGS, pela disponibilidade, presteza e amizade;
Aos amigos do Grupo de Estudo e Pesquisa em Grandes Culturas e Plantas Daninhas (GCPD), pela amizade e contribuições científicas;
Aos meus pais e família, por me ampararem em amor, incentivo e virtudes;
Aos amigos de Turmalina-MG e àqueles que me acolheram em Janaúba-MG;
A todos que me sustentaram em oração, intercedendo pela minha vida, me mantendo firme;
Àqueles que de alguma forma participaram comigo e me ajudaram na conquista deste apogeu.

Gratidão!

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	viii
GENERAL ABSTRACT	ix
INTRODUÇÃO GERAL	x
REFERÊNCIAS	xii
CAPÍTULO I – TOLERÂNCIA À SECA EM HÍBRIDOS DE MILHO BIOINOCULADOS	18
Introdução.....	21
Material e Métodos.....	22
Resultados e Discussão	26
Conclusões	40
Agradecimentos.....	41
Referências	41
CAPÍTULO II – ABSORÇÃO DE NUTRIENTES EM HÍBRIDOS DE MILHO BIOINOCULADOS	44
Introdução.....	47
Material e Métodos.....	48
Resultados e Discussão	52
Conclusões	62
Agradecimentos.....	62
Referências	63
CAPÍTULO III – ARQUITETURA RADICULAR DE HÍBRIDOS DE MILHO BIOINOCULADOS	66
Introdução.....	69
Material e Métodos.....	70
Resultados e Discussão	74
Conclusões	83
Agradecimentos.....	83
Referências	83
CAPÍTULO IV – EFICIÊNCIA FOTOSSINTÉTICA DE HÍBRIDOS DE MILHO BIOINOCULADOS	87
Introdução.....	90
Material e Métodos.....	91
Resultados e Discussão	95
Conclusões	104
Agradecimentos.....	104
Referências	104
CONCLUSÕES GERAIS	107

RESUMO GERAL¹

CAMPOS, Marcos Lopes de. **Tolerância à seca e absorção de nutrientes em híbridos de milho bioinoculados**. 2025. 107 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal no Semiárido) – Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba – MG.

As mudanças climáticas, especialmente a seca, representam uma ameaça crescente à produção agrícola e à segurança alimentar global. Para mitigar seus impactos, as rizobactérias promotoras de crescimento (PGPR) surgem como uma alternativa sustentável para estimular o crescimento vegetal e aumentar a tolerância ao estresse. No entanto, sua eficácia em campo ainda apresenta desafios. Este estudo propõe avaliar a interação entre PGPR, híbridos de milho, disponibilidade hídrica e adubação nitrogenada em cobertura, utilizando o sistema *line-source*, com ênfase nas respostas radiculares, nutricionais, fisiológicas e produtivas. O experimento foi conduzido no esquema de parcelas subsubdivididas, com a associação de híbridos e rizobactérias nas parcelas, gradiente de irrigação nas subparcelas e adubação nitrogenada em cobertura nas subsubparcelas, com quatro repetições. Os diferentes níveis de restrição hídrica apresentam efeitos cumulativos, impactando progressivamente a arquitetura radicular, a absorção de nutrientes e a eficiência fotossintética, o que reflete diretamente na dinâmica dos componentes de produção e na produtividade do milho. A associação de PGPR e adubação nitrogenada em cobertura é capaz de modular parâmetros da arquitetura radicular e da eficiência fotossintética, favorecendo a absorção de nutrientes e aumentando a tolerância das plantas à seca. Essas descobertas contribuem para a compreensão dos impactos da restrição hídrica no milho, e da eficácia da associação com PGPR e adubação nitrogenada em cobertura, na modulação da absorção de nutrientes e na tolerância à seca em condições de campo.

Palavras-chave: *Zea mays* L. Rizobactérias promotoras de crescimento (PGPR). Déficit hídrico. Sistema de irrigação *line-source*.

¹**Comitê orientador:** Prof. Dr. Ignacio Aspiazú – UNIMONTES (Orientador); Dra. Isabel Regina Prazeres de Souza – EMBRAPA (Coorientadora); Dr. Paulo César Magalhães – EMBRAPA (Coorientador); Dr. Camilo de Lelis Teixeira de Andrade – EMBRAPA (Conselheiro); Prof. Dr. Samy Pimenta – UNIMONTES (Conselheiro).

GENERAL ABSTRACT¹

CAMPOS, Marcos Lopes de. **Drought tolerance and nutrient uptake in bioinoculated maize hybrids**. 2025. 107 p. Thesis (Doctor's degree in Crop Production in the Semiarid) – State University of Montes Claros, Janaúba – MG.

The climate changes, especially drought, represents an increasing threat to agricultural production and global food security. To mitigate its impacts, plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) emerge as a sustainable alternative to stimulate plant growth and increase stress tolerance. However, their effectiveness in the field still presents challenges. This study aims to evaluate the interaction between PGPR, maize hybrids, water availability, and top dressing nitrogen fertilization, using the line-source system, with an emphasis on root, nutritional, physiological, and productive responses. The experiment was conducted in a split-split plot design, with the association of hybrids and rhizobacteria in the main plots, an irrigation gradient in the subplots, and top dressing nitrogen fertilization in the subsubplots, with four replications. The different levels of water restriction have cumulative effects, progressively impacting root architecture, nutrient absorption, and photosynthetic efficiency, which directly reflects on the dynamics of production components and maize productivity. The association of PGPR and top dressing nitrogen fertilization is capable of modulating root architecture and photosynthetic efficiency parameters, favoring nutrient absorption and increasing plant drought tolerance. These findings contribute to understanding the impacts of water restriction on maize and the effectiveness of the association with PGPR and top dressing nitrogen fertilization in modulating nutrient uptake and drought tolerance under field conditions.

Keywords: *Zea mays* L. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). Water deficit. Line-source irrigation system.

¹**Guidance Committee:** Prof. Dr. Ignacio Aspiazú – UNIMONTES (Advisor); Dr. Isabel Regina Prazeres de Souza – EMBRAPA (Co-advisor); Dr. Paulo César Magalhães – EMBRAPA (Co-advisor); Dr. Camilo de Lelis Teixeira de Andrade – EMBRAPA (Counselor); Prof. Dr. Samy Pimenta – UNIMONTES (Counselor).

INTRODUÇÃO GERAL

Acabar com a fome no mundo é um dos principais objetivos do desenvolvimento sustentável (HOSSAIN *et al.*, 2023; WIEBE *et al.*, 2021). No entanto, as frequentes alterações climáticas surgem como uma ameaça significativa ao rendimento das lavouras em todo o planeta (MOHAMMED *et al.*, 2022; SATO *et al.*, 2024; SELEIMAN *et al.*, 2021). Isso representa um desafio potencial para a produção de culturas de importância social e econômica, como o milho, em todo o mundo e, particularmente, em regiões áridas e semiáridas (BELTRAN-PEÑA; ROSA; D'ODORICO, 2020; SAAD-ALLAH *et al.*, 2022).

Um evento climático que ilustra esse cenário é a seca. Evidenciada por precipitações reduzidas, mudanças na frequência e no padrão de distribuição das chuvas, além de aumentos globais na temperatura e baixa umidade do solo, a seca é um dos principais fatores responsáveis pelo declínio substancial da produtividade das culturas (NGUYEN; THOMPSON; COSTELLO, 2023; PRODHAN *et al.*, 2022; TOMASELLA *et al.*, 2023; YIMER *et al.*, 2024). Portanto, representa uma ameaça à produção de alimentos e, conseqüentemente, à segurança alimentar, levando à necessidade de reconsiderar as práticas agrícolas adotadas (FAROOQ *et al.*, 2023; MARENGO *et al.*, 2022; TIMMUSK *et al.*, 2023).

Nos últimos anos, o número de pesquisas focadas na promoção do crescimento vegetal, na aquisição de nutrientes, na proteção contra pragas e doenças, e na tolerância a diversos estresses abióticos, com base na utilização de microrganismos benéficos, aumentou significativamente (BOUREMANI *et al.*, 2023; KUMAWAT; RAZDAN; SAHARAN, 2022; MARQUES *et al.*, 2023; MOHANTY *et al.*, 2021; NAGRALE *et al.*, 2023). Desde então, o uso de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (PGPRs) tem se destacado como uma das principais alternativas para uma agricultura sustentável (ABDELAAL *et al.*, 2021; AGUNBIADE *et al.*, 2024; GU *et al.*, 2024; KAUR; PANDOVE, 2023).

As PGPRs são um grupo de bactérias que colonizam a rizosfera, associando-se ao sistema radicular das plantas, tanto na superfície das raízes, quanto em interações endofíticas (GROVER *et al.*, 2021; VANDANA *et al.*, 2021). Essas bactérias têm a capacidade de facilitar o crescimento das plantas de forma direta ou indireta em condições de estresse, beneficiando a produção agrícola por meio de uma variedade de mecanismos únicos ou combinados (ANDRADE *et al.*, 2023; BARBOSA *et al.*, 2022; GÓMEZ-GODÍNEZ *et al.*, 2023; SINGH *et al.*, 2023). Comumente, os efeitos mais citados na literatura referem-se à fixação biológica de nitrogênio (FBN), solubilização de fosfato, síntese de fitormônios, produção de sideróforos, atividades antioxidantes, produção de biofilme, biorremediação e indução de resistência

sistêmica a estresses abióticos e bióticos (CHIEB; GACHOMO, 2023; HASAN *et al.*, 2024; KUMAR *et al.*, 2024; SAEED *et al.*, 2021; SANTOYO *et al.*, 2021; VOCCIANTE *et al.*, 2022).

Embora seja uma técnica promissora, a adoção generalizada de bioinoculantes à base de PGPRs enfrenta gargalos e desafios, especialmente em condições de campo (BASU *et al.*, 2021; FERRAREZI *et al.*, 2022; IQBAL *et al.*, 2023; VRIES *et al.*, 2020). Na maioria dos casos, cepas selecionadas em condições controladas de laboratório e/ou de casa de vegetação apresentam resultados inconsistentes em campo, não conseguindo expressar plenamente sua capacidade funcional de atenuar estresses (DÍAZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2025; HETT *et al.*, 2023; ROMÃO *et al.*, 2022). Dessa forma, é fundamental o desenvolvimento de estratégias aprimoradas que explorem as potencialidades das PGPRs em benefício da agricultura.

Por requerer avaliações complexas e multifatoriais, muitas vezes, faz-se necessário um projeto e design experimental muito robusto para quantificar os efeitos dos inoculantes microbianos (O'CALLAGHAN; BALLARD; WRIGHT, 2022). Nesse contexto, um método experimental aplicável para avaliar a resposta das culturas à disponibilidade hídrica, associada ou não a outros fatores de produção, como fertilizantes e/ou cultivares, é o gradiente de irrigação pelo sistema *line-source* (HANKS *et al.*, 1976; HANKS *et al.*, 1980). Esse sistema é composto por uma linha de aspersores regularmente espaçados, que distribuem água em doses decrescentes na direção perpendicular à tubulação, criando diferentes níveis de irrigação para a cultura (HANKS *et al.*, 1976; MENDONÇA *et al.*, 1999; OLIVEIRA *et al.*, 2021; RAO *et al.*, 2013). Sua principal vantagem é a otimização do espaço experimental, permitindo a visualização dos efeitos do regime hídrico e suas interações com outros tratamentos na produtividade e demais componentes de produção (HANKS *et al.*, 1980).

Logo, as possibilidades ofertadas pelo sistema *line-source* emergem como uma estratégia que pode ser particularmente útil e inovadora para investigar como a disponibilidade hídrica, nutricional e os bioinoculantes interagem para mitigar estresses abióticos, como a seca, em condições de campo, melhorando a eficiência na absorção de nutrientes e a produtividade das plantas. Entretanto, não há relatos na literatura explorando essas associações no sistema em questão para o cultivo do milho, o que revela uma oportunidade promissora para avanços na agricultura sustentável.

Diante do exposto, objetivou-se, com este trabalho, determinar as respostas radiculares, nutricionais, fisiológicas e produtivas de híbridos de milho associados a rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica e adubação nitrogenada em cobertura, no sistema *line-source*.

REFERÊNCIAS

- ABDELAAL, K.; ALKAHTANI, M.; ATTIA, K.; HAFEZ, Y.; KIRÁLY, L.; KUNSTLER, A. The role of plant growth-promoting bacteria in alleviating the adverse effects of drought on plants. **Biology**, v. 10, n. 6, p. 1-23, 2021. DOI: 10.3390/biology10060520. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8230635/>. Acesso em: 7 abr. 2024.
- AGUNBIADE, V. F.; FADIJI, A. F.; AGBODJATO, N. A.; BABALOLA, O. O. Isolation and Characterization of Plant-Growth-Promoting, Drought-Tolerant Rhizobacteria for Improved Maize Productivity. **Plants**, v. 13, n. 10, p. 1-27, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants13101298>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2223-7747/13/10/1298>. Acesso em: 7 abr. 2024.
- ANDRADE, L. A.; SANTOS, C. H. B.; FREZARIN, E. T.; SALES, L. R.; RIGOBELLO, E. C. Plant growth-promoting rhizobacteria for sustainable agricultural production. **Microorganisms**, v. 11, n. 4, p. 1-16, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms11041088>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-2607/11/4/1088>. Acesso em: 7 abr. 2024.
- BARBOSA, J. Z.; ROBERTO, L. A.; HUNGRIA, M.; CORRÊA, R. S.; MAGRI, E.; CORREIA, T. C. Meta-analysis of maize responses to *Azospirillum brasilense* inoculation in Brazil: Benefits and lessons to improve inoculation efficiency. **Applied Soil Ecology**, v. 170, p. 104276, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.104276>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0929139321003991>. Acesso em: 7 abr. 2024.
- BASU, A.; PRASAD, P.; NARAYAN, S. D.; KALAM, S.; SAYYED, R. Z.; REDDY, M. S.; ENSHAY, H. E. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as green bioinoculants: recent developments, constraints, and prospects. **Sustainability**, v. 13, n. 3, p. 1-20, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/su13031140>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2071-1050/13/3/1140>. Acesso em: 7 abr. 2024.
- BELTRAN-PENÑA, A.; ROSA, L.; D'ODORICO, P. Global food self-sufficiency in the 21st century under sustainable intensification of agriculture. **Environmental Research Letters**, v. 15, n. 9, p. 1-11, 2020. DOI: 10.1088/1748-9326/ab9388. Disponível em: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1748-9326/ab9388/meta>. Acesso em: 7 abr. 2024.
- BOUREMANI, N.; CHERIF-SILINI, H.; SILINI, A.; BOUKET, A. C.; LUPTAKOVA, L.; ALENEZI, F. N.; BARANOV, O.; BELBAHRI, L. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): A rampart against the adverse effects of drought stress. **Water**, v. 15, n. 3, p. 1-35, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/w15030418>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4441/15/3/418>. Acesso em: 7 abr. 2024.
- CHIEB, M.; GACHOMO, E. W. The role of plant growth promoting rhizobacteria in plant drought stress responses. **BMC Plant Biology**, v. 23, n. 407, p. 1-23, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12870-023-04403-8>. Disponível em: <https://bmcpplantbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12870-023-04403-8>. Acesso em: 7 abr. 2024.

DÍAZ-RODRÍGUEZ, A. M.; COTA, F. I. P.; CHÁVEZ, L. A. C.; ORTEGA, L. F. G.; ALVARADO, M. I. E.; SANTOYO, G.; SANTOS-VILLABOLOS, S. Microbial Inoculants in Sustainable Agriculture: Advancements, Challenges, and Future Directions. **Plants**, v. 14, n. 2, p. 1-19, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants14020191>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2223-7747/14/2/191>. Acesso em: 7 abr. 2024.

FAROOQ, A.; FAROOQ, N.; AKBAR, H.; HASSAN, Z. U.; GHEEWALA, S. H. A critical review of climate change impact at a global scale on cereal crop production. **Agronomy**, v. 13, n. 1, p. 1-19, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/agronomy13010162>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4395/13/1/162>. Acesso em: 7 abr. 2024.

FERRAREZI, J. A.; CARVALHO-ESTRADA, P. A.; BATISTA, B. D.; ANICETO, R. M.; TSCHOEKE, B. A. P.; ANDRADE, P. A. M.; LOPES, B. M.; BONATELLI, M. L.; ODISI, E. J.; AZEVEDO, J. L.; QUECINE, M. C. Effects of inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria from the Brazilian Amazon on the bacterial community associated with maize in field. **Applied Soil Ecology**, v. 170, p. 1-14, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.104297>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0929139321004200>. Acesso em: 7 abr. 2024.

GÓMEZ-GODÍNEZ, L. J.; AGUIRRE-NOYOLA, J. L.; MARTÍNEZ-ROMERO, E.; ARTEAGA-GARIBARY, R. I.; IRETA-MORENO, J.; RUVALCABA-GÓMEZ, J. M. A look at plant-growth-promoting bacteria. **Plants**, v. 12, n. 8, p. 1-17, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants12081668>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2223-7747/12/8/1668>. Acesso em: 7 abr. 2024.

GROVER, M.; BODHANKAR, S.; SHARMA, A.; SHARMA, P.; SINGH, J., NAIN, L. PGPR mediated alterations in root traits: way toward sustainable crop production. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 4, p. 1-28, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.618230>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/sustainable-food-systems/articles/10.3389/fsufs.2020.618230/full>. Acesso em: 7 abr. 2024.

GU, Z.; HU, C.; GAN, Y.; ZHOU, J.; TIAN, G.; GAO, L. Role of Microbes in Alleviating Crop Drought Stress: A Review. **Plants**, v. 13, n. 3, p. 1-15, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants13030384>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2223-7747/13/3/384>. Acesso em: 7 abr. 2024.

HANKS, R. J.; KELLER, J.; RASMUSSEN, V. P.; WILSON, G. D. Line source sprinkler for continuous variable irrigation-crop production studies. **Soil Science Society of America Journal**, v. 40, n. 3, p. 426-429, 1976. DOI: 10.2136/sssaj1976.03615995004000030033x. Disponível em: <https://access.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2136/sssaj1976.03615995004000030033x>. Acesso em: 7 abr. 2024.

HANKS, R. J.; SISSON, D. V.; HURST, R. L.; HUBBARD, K. G. Statistical analysis of results from irrigation experiments using the line-source sprinkler system. **Soil Science Society of America Journal**, v. 44, n. 4, p. 886-888, 1980. DOI:10.2136/sssaj1980.03615995004400040048x. Disponível em: <https://access.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2136/sssaj1980.03615995004400040048x>. Acesso em: 7 abr. 2024.

HASAN, A.; TABASSUM, B.; HASHIM, M.; KHAN, N. Role of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as a plant growth enhancer for sustainable agriculture: A review.

Bacteria, v. 3, n. 2, p. 59-75, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/bacteria3020005>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2674-1334/3/2/5>. Acesso em 7: abr. 2024.

HETT, J.; DÖRING, T. F.; BEVIVINO, A.; NEUHOFF, D. Impact of microbial consortia on organic maize in a temperate climate varies with environment but not with fertilization. **European Journal of Agronomy**, v. 144, p. 1-14, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eja.2023.126743>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1161030123000114>. Acesso em 7: abr. 2024.

HOSSAIN, M. A.; HOSSAIN, M. S.; AKTER, M. Challenges faced by plant growth-promoting bacteria in field-level applications and suggestions to overcome the barriers. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 126, n. 2, p. 102029, 2023. DOI:10.1016/j.pmpp.2023.102029. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S088557652300084X>. Acesso em: 7 abr. 2024.

IQBAL, S.; IQBAL, M. A.; LI, C.; IQBAL, A.; ABBAS, R. N. Overviewing drought and heat stress amelioration—from plant responses to microbe-mediated mitigation. **Sustainability**, v. 15, n. 2, p. 1-20, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/su15021671>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2071-1050/15/2/1671>. Acesso em: 7 abr. 2024.

KAUR, J.; PANDOVE, G. Understanding the beneficial interaction of plant growth promoting rhizobacteria and endophytic bacteria for sustainable agriculture: a bio-revolution approach. **Journal of Plant Nutrition**, v. 46, n. 12, p. 3569-3597, 2023. DOI:10.1080/01904167.2023.2206425. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/01904167.2023.2206425>. Acesso em: 7 abr. 2024.

KUMAR, A.; NAROJU, S. P.; KUMARI, N.; ARSEY, S.; KUMAR, D.; GUBRE, D. F.; ROYCHOWDHURY, A.; TYAGI, S.; SAINI, P. The Role of Drought Response Genes and Plant Growth Promoting Bacteria on Plant Growth Promotion under Sustainable Agriculture: A Review. **Microbiological Research**, v. 286, p. 127827, 2024. DOI: 10.1016/j.micres.2024.127827. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39002396/>. Acesso em: 7 abr. 2024.

KUMAWAT, K. C.; RAZDAN, N.; SAHARAN, K. Rhizospheric microbiome: Bio-based emerging strategies for sustainable agriculture development and future perspectives. **Microbiological Research**, v. 254, p. 1-21, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126901>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S094450132100207X>. Acesso em: 7 abr. 2024.

MARENGO, J. A.; GALDOS, M. V.; CHALINOR, A.; CUNHA, A. P.; MARIN, F. R.; VIANNA, M. S.; ALVALA, R. C. S.; ALVES, L. M.; MORAES, O. L.; BENDER, F. Drought in Northeast Brazil: A review of agricultural and policy adaptation options for food security. **Climate Resilience and Sustainability**, v. 1, n. 1, p. 1-20, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1002/cli2.17>. Disponível em: <https://rmets.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cli2.17>. Acesso em: 7 abr. 2024.

MARQUES, D. M.; MAGALHÃES, P. C.; MARRIEL, I. E.; GOMES JÚNIOR, C. C.; SILVA, A. B.; SILVA, N. T. A.; SOUZA, T. C. *Azospirillum brasilense* reduces the effects of water stress and increases maize yield in irrigated areas with high soil nitrogen doses. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 42, n. 7, p. 4263-4274, 2023. DOI: 10.1007/s00344-022-10889-

7. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00344-022-10889-7>. Acesso em: 7 abr. 2024.

MENDONÇA, F. C.; MEDEIROS, R. D.; BOTREL, T. A.; FRIZZONE, J. A. Adubação nitrogenada do milho em um sistema de irrigação por aspersão em linha. **Scientia Agricola**, v. 56, n. 4, p. 1035-1044, 1999. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-90161999000500004>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/sa/a/QTWFGLVYSDWjMJS7pZN6pdn/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 7 abr. 2024.

MOHAMMED, S.; ALSAFADI, K.; ENARUVBE, G. O.; BASHIR, B.; ELBELTAGI, A.; SZÉLES, A.; ALSALMAN, A.; HARSANYI, E. Assessing the impacts of agricultural drought (SPI/SPEI) on maize and wheat yields across Hungary. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 1-19, 2022. DOI: [10.1038/s41598-022-12799-w](https://doi.org/10.1038/s41598-022-12799-w). Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35614172/>. Acesso em: 7 abr. 2024.

MOHANTY, P.; SINGH, P. K.; CHAKRABORTY, D.; MISHRA, S.; PATTANAIK, R. Insight into the role of PGPR in sustainable agriculture and environment. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 5, p. 1-12, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.667150>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/sustainable-food-systems/articles/10.3389/fsufs.2021.667150/full>. Acesso em: 7 abr. 2024.

NAGRALE, D. T.; CHAURASIA, A.; KUMAR, S.; GAWANDE, S. P.; HIREMANI, N. S.; SHANKAR, R.; GOKTE-NARKEDKAR, N.; RENU, PRASAD, Y. G. PGPR: the treasure of multifarious beneficial microorganisms for nutrient mobilization, pest biocontrol and plant growth promotion in field crops. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 39, n. 4, p. 100, 2023. DOI: [10.1007/s11274-023-03536-0](https://doi.org/10.1007/s11274-023-03536-0). Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36792799/>. Acesso em: 7 abr. 2024.

NGUYEN, H.; THOMPSON, A.; COSTELLO, C. Impacts of historical droughts on maize and soybean production in the southeastern United States. **Agricultural Water Management**, v. 281, p. 1-12, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2023.108237>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378377423001026>. Acesso em: 7 abr. 2024.

O'CALLAGHAN, M.; BALLARD, R. A.; WRIGHT, D. Soil microbial inoculants for sustainable agriculture: Limitations and opportunities. **Soil Use and Management**, v. 38, n. 3, p. 1340-1369, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1111/sum.12811>. Disponível em: <https://bsssjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/sum.12811>. Acesso em: 7 abr. 2024.

OLIVEIRA, I. C. M.; ANDRADE, C. L. T.; BORGES JÚNIOR, J. C. F.; SIMEÃO, R. M.; SILVA, A. P. C. M. Technical feasibility of using suboptimal irrigation in maize cropping. **Crop and Pasture Science**, v. 72, n. 5, p. 348-360, 2021. DOI: [10.1071/CP20383](https://doi.org/10.1071/CP20383). Disponível em: <https://www.publish.csiro.au/CP/CP20383>. Acesso em: 7 abr. 2024.

PRODHAN, F. A.; ZHANG, J.; SHARMA, T. P. P.; NANZAD, L.; ZHANG, D.; SEKA, A. M.; AHMED, N.; HASAN, S. S.; HOQUE, M. Z.; MOHANA, H. P. Projection of future drought and its impact on simulated crop yield over South Asia using ensemble machine learning approach. **Science of The Total Environment**, v. 807, n. 3, p. 151029, 2022. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2021.151029](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151029). Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34673078/>. Acesso em: 7 abr. 2024.

RAO, S. S.; REGAR, P. L.; TANWAR, S. P. S.; SINGH, Y. V. Wheat yield response to line source sprinkler irrigation and soil management practices on medium-textured shallow soils of arid environment. **Irrigation Science**, v. 31, p. 1185-1197, 2013. DOI:10.1007/s00271-012-0398-1. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00271-012-0398-1>. Acesso em: 7 abr. 2024.

ROMÃO, I. R.; SANTOS, A. S. R.; VELASCO, L.; MARTÍNEZ-FERRI, E.; VILCHEZ, J. I.; MANZANERA, M. Seed-Encapsulation of Desiccation-Tolerant Microorganisms for the Protection of Maize from Drought: Phenotyping Effects of a New Dry Bioformulation. **Plants**, v. 11, n. 8, p. 1-17, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants11081024>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2223-7747/11/8/1024>. Acesso em: 7 abr. 2024.

SAAD-ALLAH, K. M.; NESSEM, A. A.; EBRAHIM, M. K. H.; GAD, D. Evaluation of drought tolerance of five maize genotypes by virtue of physiological and molecular responses. **Agronomy**, v. 12, n. 1, p. 1-19, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/agronomy12010059>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4395/12/1/59>. Acesso em: 7 abr. 2024.

SAEED, Q.; XIUKANG, W.; HAIDER, F. U.; KUCERIK, J.; MUMTAZ, M. Z.; HOLATKO, J.; NASEEM, M.; KINTL, A.; EJAZ, M.; NAVEED, M.; BRTNICKY, M.; MUSTAFA, A. Rhizosphere bacteria in plant growth promotion, biocontrol, and bioremediation of contaminated sites: a comprehensive review of effects and mechanisms. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 19, p. 1-41, 2021. DOI: 10.3390/ijms221910529. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34638870/>. Acesso em: 7 abr. 2024.

SANTOYO, G.; URTIS-FLORES, C. A.; LOEZA-LARA, P. D.; OROZCO-MOSQUEDA, M. C.; GLICK, B. R. Rhizosphere colonization determinants by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). **Biology**, v. 10, n. 6, p. 1-18, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/biology10060475>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-7737/10/6/475>. Acesso em: 7 abr. 2024.

SATO, H.; MIZOI, J.; SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Complex plant responses to drought and heat stress under climate change. **The Plant Journal**, v. 117, n. 6, p. 1873-1892, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1111/tpj.16612>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/tpj.16612>. Acesso em: 7 abr. 2024.

SELEIMAN, M. F.; AL-SUHAIBANI, N.; ALI, N.; AKMAL, M.; ALOTAIBI, M.; REFAY, Y.; DINDAROGLU, T.; ABDUL-WAJID, H. H.; BATTAGLIA, M. L. Drought stress impacts on plants and different approaches to alleviate its adverse effects. **Plants**, v. 10, n. 2, p. 1-25, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants10020259>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2223-7747/10/2/259>. Acesso em: 7 abr. 2024.

SINGH, A.; YADAV, V. K.; CHUNDAWAT, R. S.; SOLTANE, R.; AWWAD, N. S.; IBRAHIUM, H. A.; YADAV, K. K.; VICAS, S. I. Enhancing plant growth promoting rhizobacterial activities through consortium exposure: a review. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 11, p. 1-17, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1099999>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/bioengineering-and-biotechnology/articles/10.3389/fbioe.2023.1099999/full>. Acesso em: 7 abr. 2024.

TIMMUSK, S.; PALL, T.; RAZ, S.; FETSIUKH, A.; NEVO, E. The potential for plant growth-promoting bacteria to impact crop productivity in future agricultural systems is linked to understanding the principles of microbial ecology. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, p. 1-9, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1141862>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2023.1141862/full>. Acesso em: 7 abr. 2024.

TOMASELLA, J.; CUNHA, A. P. M. A.; SIMÕES, P. A.; ZERI, M. Assessment of trends, variability and impacts of droughts across Brazil over the period 1980–2019. **Natural Hazards**, v. 116, n. 2, p. 2173-2190, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11069-022-05759-0>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11069-022-05759-0>. Acesso em: 7 abr. 2024.

VANDANA, U. K.; RAJKUMARI, J.; SINGHA, P. L.; SATISH, L.; ALAVILLI, H.; SUDHEER, D. V. N. P.; CHAHAN, S.; RATNALA, R.; SATTURU, V.; MAZUMDER, P. B.; PANDEY, P. The endophytic microbiome as a hotspot of synergistic interactions, with prospects of plant growth promotion. **Biology**, v. 10, n. 2, p. 1-29, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/biology10020101>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-7737/10/2/101>. Acesso em: 7 abr. 2024.

VOCCIANTE, M.; GRIFONI, M.; FUSINI, D.; PETRUZZELLI, G.; FRANCHI, E. The role of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) in mitigating plant's environmental stresses. **Applied Sciences**, v. 12, n. 3, p. 1-16, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/app12031231>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-3417/12/3/1231>. Acesso em: 7 abr. 2024.

VRIES, F. T.; GRIFFITHS, R. I.; KNIGHT, C. G.; NICOLITCH, O.; WILLIAMS, A. Harnessing rhizosphere microbiomes for drought-resilient crop production. **Science**, v. 368, n. 6488, p. 270-274, 2020. DOI: [10.1126/science.aaz5192](https://doi.org/10.1126/science.aaz5192). Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.aaz5192>. Acesso em: 18 jul. 2025.

WIEBE, K.; SULSER, T. B.; DUNSTON, S.; ROSEGRANT, M. W.; FUGLIE, K.; WILLENBOCKEL, D.; NELSON, G. C. Modeling impacts of faster productivity growth to inform the CGIAR initiative on Crops to End Hunger. **PLoS One**, v. 16, n. 4, p. 1-28, 2021. DOI: [10.1371/journal.pone.0249994](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249994). Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33857244/>. Acesso em: 7 abr. 2024.

YIMER, E. A.; TRIFT, L. D.; LOBKOWICZ, I.; VILLANI, L.; NOSSENT, J.; GRIENSVEN, A. The underexposed nature-based solutions: A critical state-of-art review on drought mitigation. **Journal of Environmental Management**, v. 352, p. 1-28, 2024. DOI: [10.1016/j.jenvman.2023.119903](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.119903). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301479723026919>. Acesso em: 7 abr. 2024.

CAPÍTULO - I

TOLERÂNCIA À SECA EM HÍBRIDOS DE MILHO BIOINOCULADOS

Tese redigida em formato de artigo científico, conforme as normas de publicação da Revista Caatinga.

TOLERÂNCIA À SECA EM HÍBRIDOS DE MILHO BIOINOCULADOS

RESUMO - Objetivou-se com este trabalho determinar as respostas produtivas de híbridos de milho associados à rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica e adubação nitrogenada em cobertura, no sistema *line-source*. O experimento foi conduzido no esquema de parcelas subsubdivididas, com a associação dos híbridos e rizobactérias nas parcelas, gradiente de irrigação nas subparcelas e adubação nitrogenada em cobertura na subsubparcela, com quatro repetições. Os dados foram submetidos a análise multivariada de variáveis canônicas (VC), com o intuito de selecionar as variáveis de maior influência no estudo. As variáveis selecionadas pela VC foram submetidas a análise de variância ($p < 0,05$). Quando significativos, os efeitos das associações foram estudados pelo agrupamento de Scott-knott ($p < 0,05$), os efeitos do gradiente de irrigação pela análise de regressão e os da adubação nitrogenada em cobertura pelo teste “F” ($p < 0,05$). De maneira geral, os resultados demonstraram que o uso dos bioinoculantes como estratégia de tolerância à seca não pode ser desassociado da escolha do híbrido e da adubação nitrogenada em cobertura. Os tratamentos compostos pelo híbrido DKB 390 PRO 3 apresentaram melhor desempenho produtivo. Os diferentes níveis de restrição hídrica e a adubação nitrogenada em cobertura alteram a dinâmica dos componentes de produção e a produtividade do milho.

Palavras-chave: *Zea mays* L. Déficit hídrico. Irrigação subótima. Rizobactérias promotoras de crescimento (PGPR).

DROUGHT TOLERANCE IN BIOINOCULATED MAIZE HYBRIDS

ABSTRACT - The objective of this work was to determine the productive responses of maize hybrids associated with growth-promoting rhizobacteria at different levels of water deficit and top dressing nitrogen fertilization in the line-source system. The experiment was conducted in a sub-subdivided plot design, with associations of contrasting hybrids and growth-promoting rhizobacteria in the plots, irrigation gradient in the subplots, and top dressing nitrogen fertilization in the subsubplots, with four replications. The data were subjected to multivariate analysis of canonical variables (VC), with the intention of selecting the variables with the greatest influence on the study. The variables selected by VC were subjected to analysis of variance ($p < 0.05$). When significant, the effects of associations were studied by Scott-knott grouping ($p < 0.05$), the effects related to irrigation gradient by regression analysis, and the effects of top dressing nitrogen fertilization by the "F" test ($p < 0.05$). Overall, the results showed that the use of bioinoculants as a drought tolerance strategy cannot be dissociated from the choice of hybrid and top dressing nitrogen fertilization. Treatments composed of the DKB 390 PRO 3 hybrid showed better productive performance. Different levels of water deficit and top dressing nitrogen fertilization alter the dynamics of production components and maize productivity.

Keywords: *Zea mays* L. Water deficit. Suboptimal irrigation. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR).

INTRODUÇÃO

As mudanças climáticas em curso estão levando à escassez hídrica em áreas cultivadas ao redor do mundo, especialmente, nas regiões áridas e semiáridas (SAAD-ALLAH *et al.*, 2022). Nessas regiões, a baixa pluviosidade e a distribuição irregular da chuva reduzem significativamente a produção agrícola e limitam o cultivo de espécies de importância social e econômica, como o milho (DESOKY *et al.*, 2021; YANG *et al.*, 2022). Em última análise, coloca em risco a segurança alimentar e a produção animal e bioenergética (CHUKWUDI; KUTU; MAVENGHAMA, 2021).

Para enfrentar este desafio, o uso de bioinoculantes tem sido amplamente estudado e debatido na comunidade científica, sendo considerado uma técnica promissora para mitigar os efeitos do estresse hídrico e minimizar as perdas produtivas (ROMÃO *et al.*, 2022). Essa abordagem baseia-se na utilização de microrganismos, a exemplo das rizobactérias, que colonizam a rizosfera, estabelecendo uma relação benéfica com as plantas.

As mesmas, dispõem de mecanismos diretos e indiretos de promoção de crescimento, como a produção de enzimas e fitormônios, a mineralização de nutrientes, a solubilização de fosfato e a fixação de nitrogênio (KUMAR *et al.*, 2024; ROCHA *et al.*, 2023; SOUSA *et al.*, 2021). Dessa forma, destacando-se como uma estratégia aprimorada para convivência com a seca.

No entanto, o sucesso do uso de bioinoculantes está condicionado a vários fatores, entre os quais se destacam os ambientais, como temperatura, tipo de solo, disponibilidade de água e nutrientes, pH e salinidade (BASU *et al.*, 2021). Fatores estes que também influenciam no nível de estresse da planta.

Um método experimental aplicável à avaliação das respostas das culturas à disponibilidade hídrica é o do gradiente de irrigação pelo sistema *line-source*, pois permite quantificar a relação entre a produtividade e a oferta de água (HANKS *et al.*, 1980; OLIVEIRA *et al.*, 2021). Contudo, não há relatos na literatura da sua utilização em experimentos que associem, adicionalmente, rizobactérias promotoras de crescimento ao milho.

Neste sentido, objetivou-se com este trabalho determinar as respostas produtivas de híbridos de milho associados a rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica e adubação nitrogenada em cobertura, no sistema *line-source*.

MATERIAL E MÉTODOS

Caracterização experimental

O experimento foi conduzido na Estação Experimental da Embrapa Milho e Sorgo, no município de Sete Lagoas, MG, Brasil. A área experimental está situada nas coordenadas geográficas: latitude 19° 27' 20" S, longitude 44° 10' 21" O e altitude de 725 m. O clima da região é subtropical, caracterizado por verões quentes e chuvosos e invernos secos, do tipo Cwa, segundo a classificação de Köppen (ALVARES *et al.*, 2013). A experimentação foi conduzida no período seco (abril a setembro) (Figura 1).

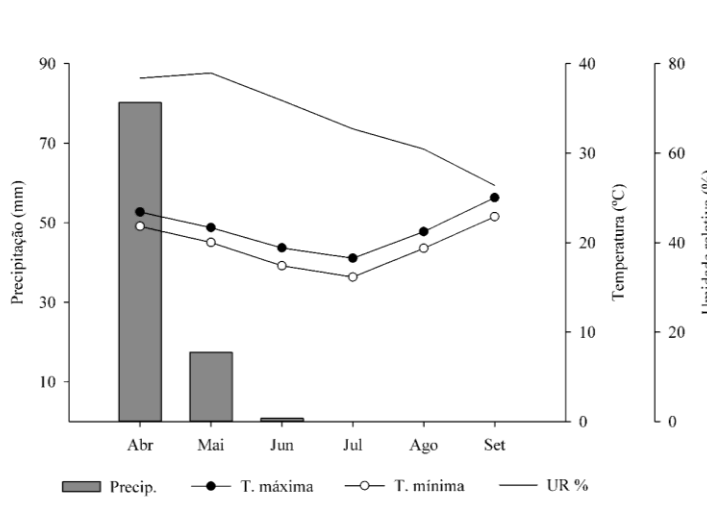


Figura 1. Distribuição mensal da precipitação, das temperaturas máxima e mínima (°C) e da umidade relativa do ar (%) durante o período experimental.

O solo da área experimental é classificado como Latossolo Vermelho Distrófico Argiloso, cujas principais características químicas na profundidade de 0-20 cm são: pH em água: 6,0; matéria orgânica: 3,22 dag kg⁻¹; SB: 6,04 cmol_c dm⁻³; H+Al: 4,09 cmol_c dm⁻³; CTC: 10,13 cmol_c dm⁻³; V%: 59%; m%: 0,82; P: 13,34 mg dm⁻³; K: 13,34 mg dm⁻³; Ca: 5,18 cmol_c dm⁻³; Mg: 0,83 cmol_c dm⁻³; Al: 0,05 cmol_c dm⁻³; Cu: 2,05 mg dm⁻³; Fe: 20,39 mg dm⁻³; Zn: 6,64 mg dm⁻³ e Mn: 5,54 mg dm⁻³.

Delineamento experimental e tratamentos

O experimento foi conduzido no esquema de parcelas subsubdivididas, com quatro repetições. As parcelas corresponderam a associações de híbridos contrastantes e rizobactérias promotoras de crescimento. As subparcelas corresponderam ao gradiente de irrigação, seguindo a conformação experimental de irrigação por aspersão em linha ou *line-source* (HANKS *et al.*, 1976; HANKS *et al.*, 1980). Já a subsubparcela, correspondeu a condição de adubação, em que,

um lado do experimento recebeu adubação nitrogenada no plantio e em cobertura e o outro lado apenas a de plantio (Figura 2).

As parcelas experimentais foram compostas por quatro fileiras com 4,25 m de comprimento, espaçadas de 0,7 m entre si, perfazendo uma área total de 11,9 m². Para avaliação do experimento, foram consideradas as duas linhas centrais de cada parcela experimental, perfazendo uma área útil de 5,95 m².

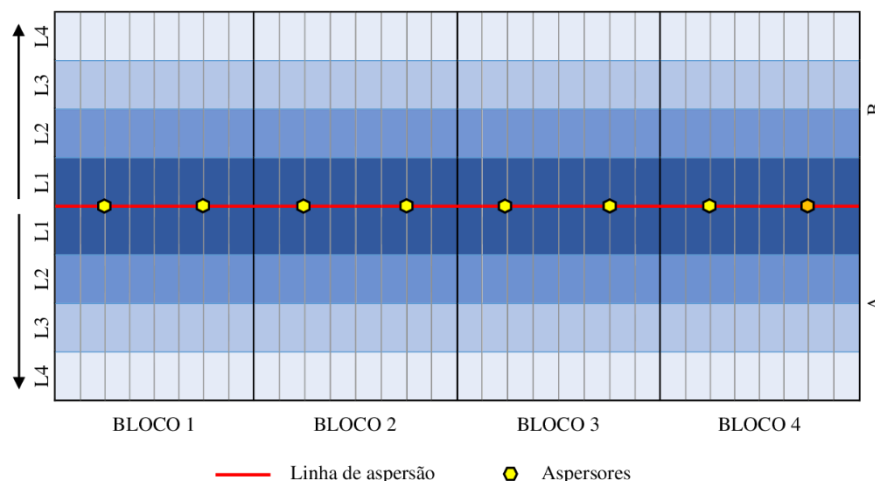


Figura 2. Desenho experimental: Gradiente de irrigação (L1; L2; L3 e L4); A = Com adubação nitrogenada em cobertura; B = Sem adubação nitrogenada em cobertura.

Dois híbridos contrastantes quanto à tolerância ao déficit hídrico compuseram as associações com os bioinoculantes: DKB 390 PRO 3 (tolerante [H1]) e P30F53 VYHR (sensível [H2]), inoculados com *Azospirillum brasilense* (Az), *Bacillus* spp. (Bc), ou coinoculados com ambos (Az + Bc). Os inoculantes utilizados são pertencentes à Coleção de Microrganismos Multifuncionais e Fitopatogênicos (CMMF) da Embrapa Milho e Sorgo, sendo obtidos a partir da mistura de duas estirpes homólogas de *Azospirillum brasilense* (E11 e E26), de estirpes de *Bacillus* spp. (*Bacillus safensis* – PSI06 e *Bacillus pumilus* – PSI02) e da mistura das estirpes de *Azospirillum brasilense* com *Bacillus* spp., todos na proporção 1:1.

As associações de híbridos contrastantes quanto à tolerância ao déficit hídrico e rizobactérias promotoras de crescimento foram codificadas em: H1= testemunha DKB 390 PRO 3; H1+Az= DKB 390 PRO 3 inoculado com *A. brasilense*; H1+Bc= DKB 390 PRO 3 inoculado com *Bacillus* spp.; H1 + Az + Bc= DKB 390 PRO 3 coinoculado com *A. brasilense* e *Bacillus* spp.; H2= testemunha P30F53 VYHR; H2+Az= P30F53 VYHR inoculado com *A. brasilense*; H2+Bc= P30F53 VYHR inoculado com *Bacillus* spp.; H2 + Az + Bc= P30F53 VYHR coinoculado com *A. brasilense* e *Bacillus* spp.

O gradiente de irrigação foi composto por quatro lâminas de água, em que L1 representa a lâmina com irrigação plena, enquanto de L2 a L4 a restrição hídrica aumentou gradativamente, totalizando, ao final do ciclo, uma lâmina de água acumulada de 701,26 mm (L1), 593,49 mm (L2), 414,29 mm (L3) e 226,62 mm (L4).

Instalação e condução do experimento

Devido à necessidade de o plantio ser manual, o preparo do solo foi realizado no sistema semidireto, isto é, sem revolvimento do solo, com o sulco de plantio e a adubação feitos por meio de máquina. A formulação da adubação de plantio foi recomendada com base na análise química do solo e a necessidade da cultura, utilizando 400 kg ha⁻¹ da formulação 8-28-16 (NPK) mais 20 kg ha⁻¹ de FTE.

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

O plantio do milho foi realizado manualmente no sulco, com a colocação de duas sementes a cada 0,2 m. O desbaste do excesso de plantas foi efetuado quando estas apresentavam de três a quatro folhas totalmente expandidas, resultando em uma população final de 71.428 plantas ha⁻¹.

A adubação nitrogenada em cobertura foi realizada exclusivamente no lado A (Figura 1), com a aplicação de 118 kg ha⁻¹ de nitrogênio (N), de forma parcelada, utilizando ureia. O parcelamento ocorreu no estágio fenológico V6, quando as plantas apresentavam seis folhas totalmente expandidas, e no estágio fenológico V8, com as plantas apresentando oito folhas totalmente expandidas.

Os demais tratos culturais envolveram o controle de plantas daninhas, pragas e doenças, conforme a necessidade e recomendações para a cultura (GALVÃO *et al.*, 2017).

Utilizou-se o sistema de irrigação por aspersão, contendo aspersores Rain Bird modelo 14070, espaçados 9 x 18 m, sendo 9 metros longitudinalmente e 18 metros de alcance lateralmente, considerando o plantio transversal à linha central de irrigação. A área experimental foi irrigada empregando três linhas laterais até o estabelecimento da cultura. Quando as plantas estavam no estágio fenológico V6, foram removidas as linhas laterais de irrigação, deixando apenas a linha central, iniciando, assim, o sistema de irrigação *line-source*

(HANKS *et al.*, 1976; HANKS *et al.*, 1980). Esse arranjo permitiu a distribuição de água em doses decrescentes, perpendiculares à linha de irrigação, criando um gradiente hídrico.

O manejo da irrigação foi feito com o auxílio de planilha eletrônica (ALBUQUERQUE; ANDRADE, 2001), utilizando o coeficiente de cultura adaptado de Allen *et al.* (1998). Para minimizar derivas e/ou distorções no padrão de aspersão, provocadas pelo vento, a irrigação foi realizada sempre no início da manhã.

A água aplicada foi quantificada após cada irrigação, utilizando coletores instalados no centro das parcelas experimentais, sempre posicionados acima do dossel da cultura, de forma a acompanhar o crescimento das plantas. As precipitações ocasionais ocorridas durante o período experimental também foram registradas por meio de uma estação climatológica próxima.

Características avaliadas

As características avaliadas foram: altura de planta (AP), altura de inserção de espiga (AE), comprimento de espiga (CE), diâmetro de espiga (DE), número de fileiras de grãos por espiga (NF), número de grãos por fileira (NGF), massa de espiga (ME), massa de grãos por espiga (MG), massa de 100 grãos (M100), índice de espiga (IE), produtividade de grãos (PROD), índice de colheita (IC) e a eficiência do uso da água (EUA).

A AP foi determinada pela medição do comprimento do colmo do nível do solo até a última folha completamente expandida. Já a AE, foi medida a partir da superfície do solo até o ponto de inserção da primeira espiga no colmo. Para essas medidas de altura, foram avaliadas duas plantas representativas da área útil de cada parcela durante o estágio de maturação fisiológica dos grãos, com resultados expressos em metros (m).

Para a determinação das características de espigas, foram colhidas aleatoriamente dez espigas em cada parcela. O CE foi tomado da base da espiga até o ápice, com o auxílio de uma régua graduada, sendo os resultados expressos em cm. O DE foi obtido medindo-se a porção central das espigas, com um paquímetro, e os valores foram expressos em mm.

O NF e o NGF foram obtidos pela simples contagem visual, em uma amostragem de dez espigas de cada parcela. Já a ME foi obtida pesando individualmente as dez espigas despalhadas. Posteriormente, as espigas foram debulhadas em debulhador estacionário, sendo realizada a pesagem individual dos grãos de cada espiga, obtendo-se a MG, com resultados expressos em g.

A M100 foi obtida por meio da média de três sub amostras de cem grãos tomadas ao acaso de cada parcela. O IE foi tomado a partir da razão entre o número total de espigas colhidas na área útil e o estande de plantas na mesma área.

A PROD foi determinada por meio da pesagem dos grãos oriundos das espigas da área útil de cada parcela, corrigindo-se os valores encontrados para 13% de umidade e transformando-os para kg ha^{-1} . Já o IC foi obtido pela relação entre a massa seca dos grãos e a massa seca total da planta.

A eficiência do uso da água (EUA) foi calculada pela razão da produtividade do híbrido (PROD), em kg ha^{-1} , e a lâmina de água total acumulada (LA), em mm: $\text{EUA} = \text{PROD}/\text{LA}$. Os resultados foram expressos em $\text{kg ha}^{-1} \text{ mm}^{-1}$.

Análises estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de variância multivariada (MANOVA), utilizando a função *manova* do pacote *stats*, recorrendo ao teste de Pillai a um nível de 5% de significância ($p < 0,05$). Após confirmada a ausência de multicolinearidade, procedeu-se à análise de variáveis canônicas (VC), utilizando o pacote *candisc* (FRIENDLY; FOX, 2017), a fim de selecionar as variáveis de maior influência no estudo. Essa seleção considerou características cujos escores canônicos apresentaram valores absolutos superiores a 0,75.

Seguindo as pressuposições de normalidade e homoscedasticidade, as variáveis selecionadas pela VC foram submetidas à análise de variância de parcelas subsubdivididas ($p < 0,05$). Quando significativos, os efeitos dos tratamentos, com associações de híbridos contrastantes e rizobactérias promotoras de crescimento, foram estudados pelo agrupamento de Scott-knott ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$). Os efeitos referentes ao gradiente de irrigação (L1 a L4) foram estudados pela análise de regressão e os efeitos da adubação nitrogenada em cobertura foram comparados pelo teste “F” a 5% de significância ($p < 0,05$). A escolha do modelo estatístico de regressão foi baseada na significância dos parâmetros. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o Software R (R Core Team [R], 2018).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise multivariada de variáveis canônicas (VC) explicou 91,76% da variação total observada (Figura 3). A matriz de vetores próprios mostra a proporção da variância total explicada e suas correlações com as características analisadas. Assim, fornece insights sobre como as variáveis contribuem para as relações observadas nos dados e ajuda a identificar as características mais influentes dentro da estrutura canônica. A variável canônica 1 (VC1) explicou 81,11% da variação total, tendo como características de maior contribuição relativa a

M100, MG, ME, AP, PROD e o DE. Já a variável canônica 2 (VC2) explicou 10,65% da variação total, sendo a EUA e o NF as características de maior importância relativa (Figura 3).

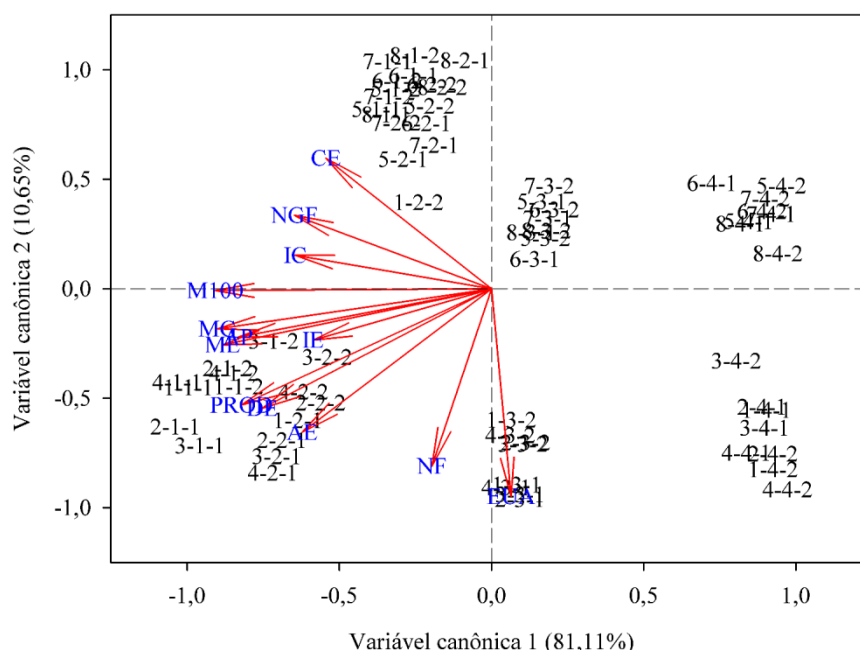


Figura 3. Análise multivariada de variáveis canônicas (VC) de híbridos de milho associados à rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica e adubação nitrogenada em cobertura. O conjunto de três números representa as combinações de tratamentos, indicadas na seguinte ordem: associações com os bioinoculantes (1= H1; 2= H1+Az; 3= H1+Bc; 4= H1+Az+Bc; 5= H2; 6= H2+Az; 7= H2+Bc; 8= H2+Az+Bc), lâmina de água aplicada (1= L1; 2= L2; 3= L3; 4= L4) e presença (1) ou ausência (2) de adubação nitrogenada em cobertura.

Observa-se que, as correlações positivas são responsáveis pela discriminação dos tratamentos localizados à direita da VC1 e na parte superior da VC2. Já as correlações negativas são responsáveis por discriminar os tratamentos situados à esquerda de VC1 e na parte inferior de VC2 (Figura 3). Os resultados biplot demonstraram uma divisão discernível entre grupos de tratamentos conforme os diferentes níveis de restrição hídrica aplicados. A proximidade dos tratamentos com os respectivos vetores de correlação das variáveis sugere as características em que estes apresentam maior afinidade. Neste sentido, é possível perceber que os tratamentos submetidos a uma maior restrição hídrica estão em sentido oposto às variáveis produtivas, o que, presumivelmente, demonstra maior comprometimento destas, culminando em baixos rendimentos (Figura 3).

A partir das variáveis selecionadas na VC, foi realizada a análise de variância ($p < 0,05$). Esta revelou que houve efeito significativo da interação entre híbridos de milho associados à rizobactérias promotoras de crescimento (H), lâmina de irrigação (L) e adubação nitrogenada

em cobertura (A) para as características PROD e EUA (Tabela 1). Ademais, foi verificada interação significativa de H x L para AP, DE e ME, de H x A para AP, ME e MG e de L x A para AP, DE, ME, MG. A M100 apresentou apenas efeitos isolados de H, L e A simultaneamente e o NF efeito isolado de H (Tabela 1).

Tabela 1. Resumo da análise de variância de caracteres agrônômicos de híbridos de milho associados a rizobactérias promotoras de crescimento (H), em diferentes níveis de restrição hídrica (L) e adubação nitrogenada em cobertura (A).

FV	Quadrado médio								
	GL	AP	DE	NF	ME	MG	M100	PROD	EUA
Bloco	3	0,09**	5,80 ^{ns}	0,03 ^{ns}	1042,84 ^{ns}	606,08 ^{ns}	13,18 ^{ns}	0,67 ^{ns}	5,99 ^{ns}
Associações (H)	7	0,11**	160,95**	7,06**	4992,69**	2875,23**	28,98*	79,74**	289,58**
Resíduo 1	21	0,01	3,05	0,26	734,24	549,00	8,07	0,88	6,20
Lâminas (L)	3	1,07**	340,40**	0,37 ^{ns}	47736,41**	42820,21**	1383,04**	206,61**	226,24**
H*L	21	0,01**	3,68**	0,27 ^{ns}	424,12*	321,01 ^{ns}	5,78 ^{ns}	8,75**	11,07**
Resíduo 2	72	0,00	1,69	0,23	235,31	208,27	7,96	0,54	3,49
Adubação (A)	1	0,00 ^{ns}	25,53**	0,03 ^{ns}	2683,63**	1702,44**	127,58**	6,95**	3,95 ^{ns}
H*A	7	0,01**	2,18 ^{ns}	0,19 ^{ns}	648,85**	672,40**	13,40 ^{ns}	4,20**	14,16**
L*A	3	0,02**	10,12**	0,06 ^{ns}	904,47**	779,80*	10,81 ^{ns}	5,29**	35,17**
H*L*A	21	0,00 ^{ns}	2,53 ^{ns}	0,13 ^{ns}	226,00 ^{ns}	147,50 ^{ns}	7,55 ^{ns}	1,70**	5,18*
Resíduo 3	96	0,00	2,49	0,21	223,22	208,83	7,87	0,55	2,92
Média		2,44	46,16	16,50	138,62	117,44	27,40	5,43	11,67
CV1 %		3,93	3,78	3,10	19,55	19,95	10,37	17,32	21,33
CV2 %		2,68	2,81	2,88	11,07	12,29	10,30	13,53	16,01
CV3 %		2,28	3,42	2,77	10,78	12,31	10,24	13,60	14,64

Não significativo $p > 0,05$ (^{ns}); significativo a 1% $p < 0,01$ (**); significativo a 5% $p < 0,05$ (*) pelo teste F. FV = fonte de variação; GL = graus de liberdade; CV = coeficiente de variação. AP = altura de planta; DE = diâmetro de espiga; NF = número de fileiras de grãos por espiga; ME = massa de espiga; MG = massa de grãos por espiga; M100 = massa de 100 grãos; PROD = produtividade de grãos; EUA = eficiência do uso da água.

O desdobramento da interação H * L * A, para produtividade de grãos, revelou que, tanto os tratamentos dos híbridos associados a rizobactérias promotoras de crescimento, quanto as lâminas de irrigação e a adubação nitrogenada em cobertura influenciaram no desempenho produtivo do milho. Em condições ideais de irrigação (L1), o grupo de tratamentos com o híbrido DKB 390 PRO 3 (H1, H1+Az, H1+Bc e H1+Az+Bc) apresentou maior produtividade em comparação ao grupo com o híbrido P30F53 VYHR (H2, H2+Az, H2+Bc e H2+Az+Bc), em ambos os níveis de adubação nitrogenada em cobertura. Os tratamentos com o híbrido DKB 390 PRO 3 apresentaram maior produtividade quando submetidos à adubação nitrogenada em cobertura, enquanto os tratamentos com o híbrido P30F53 VYHR não mostraram diferença estatística em relação à adubação (Tabela 2).

Na lâmina 2 (L2), com adubação nitrogenada em cobertura e na 3 (L3), com e sem adubação nitrogenada em cobertura, verifica-se que o grupo de tratamentos com o híbrido DKB 390 PRO 3 apresentou produtividade maior do que aquele com o híbrido P30F53 VYHR. Já na

lâmina 2, sem adubação nitrogenada em cobertura, as duas testemunhas (H1 e H2) juntamente com os tratamentos H2+Az e H2+Az+Bc, apresentaram uma produtividade aquém aos grupos com os tratamentos H1+Az, H1+Bc, H1+Az+Bc, e H2+Bc (Tabela 2). A adubação nitrogenada em cobertura influenciou significativamente na produtividade do milho nos tratamentos H1, H1+Bc e H2+Az+Bc na lâmina 2, e no H1+Az na lâmina 3. Para os demais tratamentos, não foram verificadas diferenças estatísticas (Tabela 2).

Tabela 2. Produtividade de grãos (PROD) de híbridos de milho associados a rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica (L) e adubação nitrogenada em cobertura (A: com e sem). t ha⁻¹.

L	A	Associações							
		H1	H1+Az	H1+Bc	H1+Az+Bc	H2	H2+Az	H2+Bc	H2+Az+Bc
L1	com	9,60Aa	10,36Aa	9,66Aa	10,25Aa	4,76Ba	4,06Ba	4,29Ba	4,30Ba
	sem	8,41Ab	8,87Ab	7,85Ab	8,52Ab	4,61Ba	4,34Ba	4,60Ba	3,95Ba
L2	com	8,91Aa	9,26Aa	9,47Aa	9,26Aa	5,04Ba	4,43Ba	4,74Ba	2,87Cb
	sem	4,10Cb	8,31Aa	8,10Ab	8,44Aa	4,60Ca	4,55Ca	5,49Ba	4,15Ca
L3	com	6,98Aa	7,57Aa	6,89Aa	7,39Aa	4,50Ba	4,60Ba	4,34Ba	4,77Ba
	sem	6,44Aa	6,43Ab	6,92Aa	6,56Aa	4,91Ba	5,01Ba	4,21Ba	4,90Ba
L4	com	2,93Aa	3,08Aa	3,01Aa	3,20Aa	2,17Ba	1,62Ba	2,31Ba	2,38Ba
	sem	3,47Aa	3,36Aa	2,95Aa	3,69Aa	2,56Aa	2,57Aa	2,70Aa	2,86Aa

Médias seguidas por mesma letra maiúscula na linha (associações) não diferem entre si pelo agrupamento de Scott-Knott ($p < 0,05$). Médias seguidas por mesma letra minúscula na coluna (adubação) não diferem entre si pelo teste F ($p < 0,05$).

Na L2, embora o tratamento H2+Bc não tenha alcançado os mesmos resultados dos tratamentos H1+Az, H1+Bc e H1+Az+Bc, o fato de ter superado o H1 (testemunha do híbrido tolerante sem inoculação) evidencia que a combinação com *Bacillus* spp. pode ter contribuído para mitigar os efeitos da restrição hídrica sobre os rendimentos. Contudo, com o aumento da restrição hídrica, esse efeito benéfico não se manteve, sugerindo que sua eficácia é limitada a determinados níveis de déficit hídrico (Tabela 2).

Na lâmina de maior restrição hídrica (L4), com adubação nitrogenada em cobertura, o grupo de tratamentos com o híbrido DKB 390 PRO 3 foi mais produtivo do que o com o P30F53 VYHR. No entanto, sem a adubação nitrogenada em cobertura, o desempenho entre estes foi estatisticamente semelhante. Além disso, a adubação nitrogenada em cobertura não influenciou a produtividade ao analisar o desdobramento das associações de híbridos contrastantes e rizobactérias promotoras de crescimento dentro da lâmina de maior restrição hídrica (Tabela 2).

Estes resultados demonstram a grande influência do material genético utilizado sobre os rendimentos observados. Isto pois, a testemunha (controle) do híbrido DKB 390 PRO 3 (tolerante) agrupou-se estatisticamente com os tratamentos inoculados e coinoculados que

também utilizaram esse híbrido, mas diferiu significativamente dos tratamentos conduzidos com o híbrido P30F53 VYHR (sensível). A sobreposição produtiva de um material genético em relação ao outro sob condições de estresse hídrico pode ocorrer devido a diferenças nas atividades osmorregulatórias, antioxidantes e metabólicas, bem como à presença de genes responsivos ao estresse (SAAD-ALLAH *et al.*, 2022). Fatores estes que, podem agir em benefício da planta para tolerância à seca.

Em condições ideais de irrigação (L1), o grupo de tratamentos compostos pelo híbrido DKB 390 PRO 3 apresentou maior eficiência de uso da água (EUA) do que aquele com o híbrido P30F53 VYHR. O mesmo ocorreu na L3 e, ainda, na L2 e L4 quando se realizou adubação nitrogenada em cobertura. Este comportamento segue uma tendência semelhante ao observado para a produtividade. Já em relação à adubação nitrogenada em cobertura, houve influência da mesma na EUA nos tratamentos H1+Bc e H1+Az+Bc na L1, H1 na L2, H1+Az na L3 e H2+Az na L4 (Tabela 3).

Tabela 3. Eficiência de uso da água (EUA) de híbridos de milho associados a rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica (L) e adubação nitrogenada em cobertura (A: com e sem). kg ha⁻¹ mm⁻¹.

L	A	Associações							
		H1	H1+Az	H1+Bc	H1+Az+Bc	H2	H2+Az	H2+Bc	H2+Az+Bc
1	com	13,69Aa	14,77Aa	13,77Aa	14,62Aa	6,78Ba	5,79Ba	6,12Ba	6,14Ba
	sem	12,00Aa	12,64Aa	11,20Ab	12,15Ab	6,57Ba	6,19Ba	6,55Ba	5,63Ba
2	com	15,00Aa	15,61Aa	15,96Aa	15,60Aa	8,49Ba	7,47Ba	7,98Ba	4,83Ca
	sem	6,91Bb	14,00Aa	13,66Aa	14,22Aa	7,74Ba	7,66Ba	9,25Ba	6,98Ba
3	com	16,85Aa	18,28Aa	16,62Aa	17,85Aa	10,87Ba	11,09Ba	10,47Ba	11,51Ba
	sem	15,55Aa	15,52Ab	16,69Aa	15,83Aa	11,84Ba	12,10Ba	10,17Ba	11,83Ba
4	com	12,93Aa	13,61Aa	13,27Aa	14,11Aa	9,56Ba	7,13Cb	10,21Ba	10,52Ba
	sem	15,31Aa	14,82Aa	13,02Ba	16,29Aa	11,31Ba	11,35Ba	11,91Ba	12,63Ba

Médias seguidas por mesma letra maiúscula na linha (associações) não diferem entre si pelo agrupamento de Scott-Knott ($p < 0,05$). Médias seguidas por mesma letra minúscula na coluna (adubação) não diferem entre si pelo teste F ($p < 0,05$).

Entender essa dinâmica dos diferentes níveis de restrição hídrica e o efeito associado da adubação na produtividade e eficiência de uso da água no milho pode gerar estratégias sustentáveis para preservar seu potencial produtivo em condições de seca (LI *et al.*, 2020). Na prática, para a convivência das culturas agrícolas com a seca, é de fundamental importância alcançar índices elevados de EUA (ZHENG *et al.*, 2020). Ou seja, conversão ideal de unidades de água em unidades de produção, quando submetidas ao déficit hídrico.

Ainda assim, aumentar a produtividade do milho ou manter sua produtividade elevada em condições deficitárias de água é um grande desafio. Visto que, as restrições hídricas diminuem a atividade fotossintética das plantas e, consequentemente, a fixação e o enchimento

dos grãos, resultando em um declínio dos rendimentos agrícolas (SHAO *et al.*, 2021). Neste cenário, a utilização de microrganismos benéficos surge como potencial atenuador do estresse hídrico, tendo em vista que são capazes de induzir as plantas a produzirem substâncias osmorreguladoras e, assim, agir sinergicamente, contribuindo para a tolerância à seca (ARAUJO *et al.*, 2023).

Pelo desdobramento de L dentro de cada nível de H e A, verifica-se que a lâmina de água aplicada foi determinante para a produtividade de grãos (Figura 4). Quando se realizou adubação nitrogenada em cobertura, com exceção do H2+Az+Bc, os demais tratamentos apresentaram comportamento quadrático, ou seja, aumento da produtividade com o aumento da lâmina de água até um ponto de máxima de 743,73 (H1), 752,92 (H1+Az), 738,96 (H1+Bc), 777,23 (H1+Az+Bc), 577,26 (H2), 533,73 (H2+Az) e 553,92 mm (H2+Bc). Essas lâminas representaram, respectivamente, produtividades máximas de 9,59; 10,26; 9,80; 10,27; 5,09; 4,85 e 4,78 t ha⁻¹. A análise de regressão para o tratamento H2+Az+Bc foi não significativa (Figura 4A).

Na ausência da adubação nitrogenada em cobertura, os tratamentos H1+Az, H1+Bc, H1+Az+Bc, H2, H2+Az, H2+Bc e H2+Az+Bc apresentaram efeito quadrático com aumento de produtividade até uma lâmina de 808,98; 602,97; 725,94; 542,70; 521,19; 582,86 e 498,07 mm, o que representou, respectivamente, uma produtividade máxima de 9,07; 8,18; 8,62; 5,03; 5,06; 5,07 e 4,78 t ha⁻¹. Já a testemunha H1 apresentou comportamento linear crescente com o aumento da lâmina de água (Figura 4B).

Esses resultados evidenciam que o uso do sistema *line-source* pode ser uma estratégia promissora para simular o comportamento dos híbridos de milho associados à utilização de bioinoculantes em diferentes níveis de restrição hídrica. Portanto, essa abordagem pode ajudar na implementação de economia de água sem comprometer significativamente o rendimento da cultura (OLIVEIRA *et al.*, 2021). No entanto, para que isso aconteça, os resultados do presente trabalho mostram-se condicionados ao material genético utilizado e a uma adubação nitrogenada em cobertura eficiente.

Os impactos observados nos rendimentos da cultura em decorrência dos níveis de restrição hídrica eram esperados. Uma vez que, são considerados de caráter cumulativo e multidimensional, podendo decorrer de alterações nos atributos morfológicos, fisiológicos, bioquímicos e moleculares da planta (SELEIMAN *et al.*, 2021).

A EUA também foi afetada pelos diferentes níveis de restrição hídrica (Figura 4). Quando se realizou a adubação nitrogenada em cobertura, os tratamentos H1, H1+Az, H1+Bc, H1+Az+Bc, H2 e H2+Az apresentaram efeito quadrático, com o ponto máximo de lâmina em

469,43; 470,50; 472,84; 462,73; 383,67; 432,79 mm, respectivamente. Essas lâminas representam uma EUA máxima de 16,56; 17,68; 16,82; 17,37; 10,63 e 10,34 kg ha⁻¹ mm⁻¹, respectivamente. Em contrapartida, os tratamentos H2+Bc e H2+Az+Bc apresentaram efeito linear decrescente, ou seja, menor EUA com o aumento da lâmina de água aplicada (Figura 4C).

Na ausência da adubação nitrogenada em cobertura, os tratamentos H1, H1+Az+Bc, H2, H2+Bc e H2+Az+Bc apresentaram comportamento linear decrescente para a EUA. Já os tratamentos H1+Bc e H2+Az tiveram um efeito quadrático, com aumento da EUA até as lâminas 431,22 e 309,45 mm, o que equivale a um valor máximo de 16,24 e 11,83 kg ha⁻¹ mm⁻¹, respectivamente. A análise de regressão para H1+Az foi não significativa (Figura 4D).

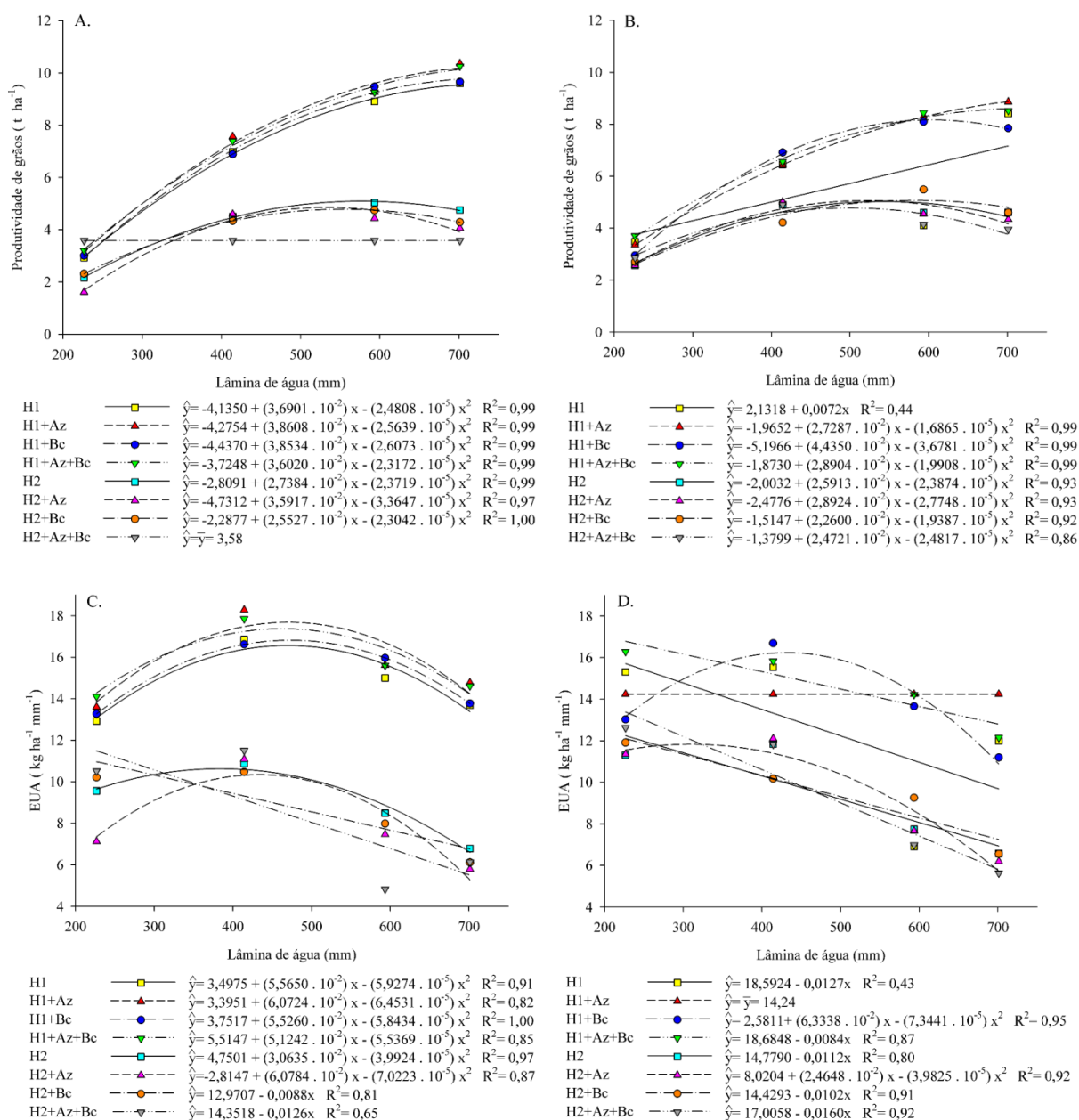


Figura 4. A. Produtividade de grãos (PROD) com adubação nitrogenada em cobertura; B. Produtividade de grãos (PROD) sem adubação nitrogenada em cobertura; C. Eficiência de uso da água (EUA) com adubação nitrogenada em cobertura; D. Eficiência de uso da água (EUA) sem adubação nitrogenada em cobertura, em híbridos de milho associados a rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica.

Esses resultados contribuem para a compreensão da conversão da quantidade de água utilizada em produção e da influência das fontes de variação estudadas para otimização desta. Além de ser um parâmetro importante para a convivência das culturas agrícolas com a seca, a EUA pode auxiliar na gestão da irrigação, com ênfase no uso racional dos recursos hídricos disponíveis e na redução da pegada hídrica de produção (MEKONNEN *et al.*, 2020).

Estudando o desdobramento de H dentro de cada nível de L, foi possível perceber que nas lâminas 1,2 e 3, o grupo composto de tratamentos com o híbrido DKB 390 PRO 3 apresentou maior AP do que aquele com o híbrido P30F53 VYHR (Tabela 4). E também na L4, o híbrido DKB390 PRO 3 no grupo com os tratamentos H1+Bc e H1+Az+Bc apresentou plantas mais altas que os demais. Esses resultados indicam uma possível influência da inoculação de *Bacillus* spp. e da coinoculação de *Azospirillum brasiliense* + *Bacillus* spp. no crescimento das plantas de DKB 390 PRO 3 quando submetidas a uma lâmina de irrigação com maior restrição hídrica. Conforme Ribeiro *et al.* (2022), essa influência pode estar relacionada à melhor adaptação proporcionada pelos microrganismos às plantas em condições estressadas, por meio de diversos mecanismos (diretos e indiretos), incluindo a solubilização e absorção de nutrientes essenciais e a síntese de fitormônios.

Tabela 4. Altura de planta (AP), diâmetro de espiga (DE) e massa de espiga (ME) de híbridos de milho associados a rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica (L) e adubação nitrogenada em cobertura.

	L	Associações							
		H1	H1+Az	H1+Bc	H1+Az+Bc	H2	H2+Az	H2+Bc	H2+Az+Bc
AP (m)	1	2,58A	2,54A	2,53A	2,57A	2,47B	2,45B	2,50B	2,48B
	2	2,54A	2,55A	2,56A	2,60A	2,49B	2,44B	2,49B	2,48B
	3	2,54A	2,49A	2,51A	2,55A	2,44B	2,41B	2,46B	2,43B
	4	2,28B	2,30B	2,36A	2,38A	2,14D	2,18C	2,11D	2,23C
DE (mm)	1	50,67A	49,80A	48,57B	49,53A	45,78C	44,69C	45,25C	45,55C
	2	49,83A	49,52A	49,26A	50,72A	45,80B	45,44B	45,90B	45,07B
	3	48,32A	48,17A	47,97A	48,36A	45,97B	45,49B	43,99C	45,43B
	4	45,31A	45,41A	44,24A	45,99A	39,77B	40,04B	40,15B	41,16B
ME (g)	1	176,34A	171,41A	156,24B	169,58A	143,21C	130,76C	136,29C	138,08C
	2	175,91A	172,94A	164,33A	182,71A	147,17B	142,35B	153,38B	137,28B
	3	149,70A	148,50A	143,00A	151,01A	142,48A	141,25A	127,30A	143,50A
	4	113,00A	106,17A	97,86B	113,86A	87,74B	87,34B	88,82B	96,20B

Médias seguidas por mesma letra na linha (associações) não diferem entre si pelo agrupamento de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Em condições ótimas de irrigação (L1), o grupo com os tratamentos H1, H1+Az e H1+Az+Bc, que possuem o híbrido DKB 390 PRO3, apresentou maior diâmetro (DE) e massa de espiga (ME) do que os demais (Tabela 4). E também nas demais lâminas (L2, L3 e L4), o grupo de tratamentos com o híbrido DKB 390 PRO 3 apresentou maior DE do que aqueles com o híbrido P30F53 VYHR. Para este primeiro grupo, também se verificou maior ME na lâmina 2. Já na lâmina 3, a ME foi semelhante entre os tratamentos, e na lâmina de maior restrição hídrica (L4), H1, H1+Az e H1+Az+Bc formaram um grupo com maior ME que os demais (Tabela 4).

Entre materiais genéticos contrastantes, os mais sensíveis à seca tendem a sofrer impactos mais expressivos nos componentes de rendimento sob déficit hídrico, resultando em uma maior redução na produtividade de grãos. Especialmente, quando a restrição hídrica ocorre em fases críticas de desenvolvimento e produção, que vão desde a pré-floração até o enchimento dos grãos (SAH *et al.*, 2020).

O desdobramento de L dentro de cada nível de H evidenciou influência significativa da lâmina de água aplicada na AP, DE e ME. As três variáveis apresentaram um comportamento quadrático para os oito tratamentos. A AP aumentou até uma lâmina de 593,38; 614,10; 580,67; 578,04; 578,38; 588,49; 588,65 e 608,44 mm, o que representou, respectivamente, uma altura de 2,58; 2,55; 2,55; 2,60; 2,50; 2,46; 2,53 e 2,48 m (Figura 5A).

O DE aumentou até uma lâmina de 843,92; 709,69; 583,24; 622,23; 558,20; 538,20; 613,97 e 572,10 mm, o que equivale, respectivamente, a um diâmetro de 50,88; 49,79; 49,16; 50,04; 46,66; 46,09; 45,66 e 45,83 mm (Figura 5B).

Já a ME aumentou até as lâminas de 735,75; 673,58; 606,86; 633,22; 563,29; 531,46; 584,93 e 544,93 mm, correspondendo, respectivamente, a uma massa de 178,08; 172,79; 161,57; 175,24; 151,82; 147,87; 146,05 e 146,02 g (Figura 5C).

Esses resultados corroboram para o entendimento da influência dos diferentes níveis de água aplicados sobre os componentes de produção do milho. Logo, podem fornecer informações relevantes para o racionamento e otimização dos recursos hídricos disponíveis em períodos de seca, visando à manutenção da produção (ZOU *et al.*, 2021).

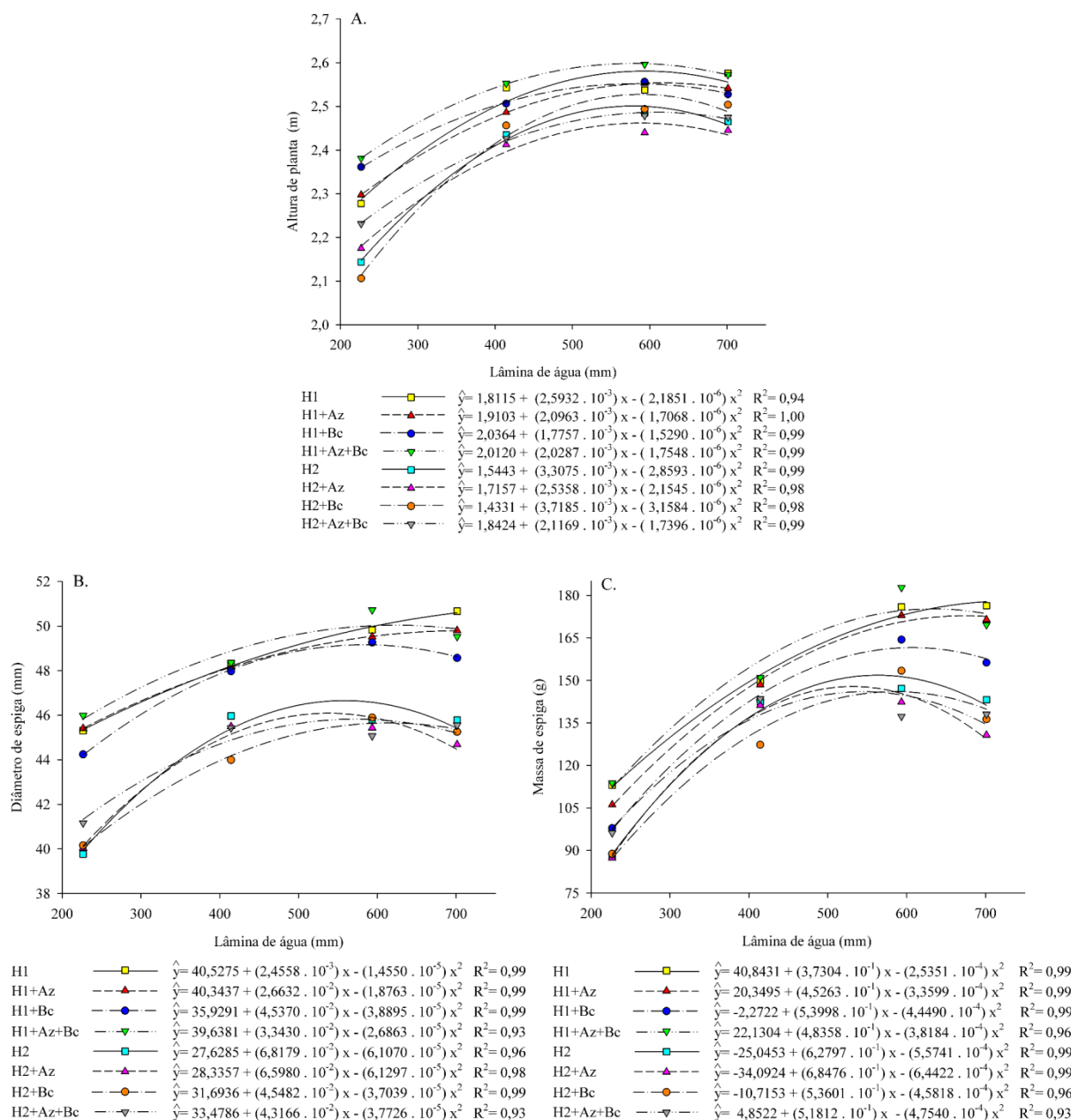


Figura 5. A. Altura de planta (AP); B. Diâmetro de espiga (DE); C. Massa de espiga (ME) de híbridos de milho associados a rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica e adubação nitrogenada em cobertura.

Ao analisar o desdobramento de H dentro de cada nível de A, constatou-se uma maior AP para o tratamento H1+Az+Bc em relação aos demais, quando se realizou adubação nitrogenada em cobertura (Tabela 5). Na ausência da adubação nitrogenada em cobertura, o grupo de tratamentos composto pelo híbrido DKB 390 PRO 3 apresentou plantas mais altas. Além disso, foi verificada menor ME e MG para o grupo de tratamentos com o híbrido P30F53 VYHR, quando se realizou adubação nitrogenada em cobertura. Já na ausência da adubação nitrogenada em cobertura, H1, H1+Az e H1+Az+Bc formaram um grupo com maior ME e MG que os

demais (Tabela 5). A AP não apresentou variações significativas quanto à adubação nitrogenada em cobertura para os tratamentos H1, H1+Az, H1+Bc, H1+Az+Bc, H2. Além disso, a ME e a MG não diferiram quanto a esta para H1, H2, H2+Az, H2+Bc e H2+Az+Bc. Por outro lado, H2+Az e H2+Az+Bc demonstram maior AP, e H1+Az, H1+Bc e H1+Az+Bc maior ME e MG, quando realizada a adubação nitrogenada em cobertura (Tabela 5).

Tabela 5. Altura de planta (AP), massa de espiga (ME), massa de grãos por espiga (MG) e número de fileiras de grãos por espiga (NF) de híbridos de milho associados a rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica e adubação nitrogenada em cobertura (A: c= com; s= sem).

A		Associações							
		H1	H1+Az	H1+Bc	H1+Az+Bc	H2	H2+Az	H2+Bc	H2+Az+Bc
AP	c	2,47Ba	2,48Ba	2,48Ba	2,54Aa	2,40Ca	2,39Ca	2,36Db	2,42Ca
	s	2,50Aa	2,46Aa	2,49Aa	2,51Aa	2,37Ca	2,35Cb	2,43Ba	2,38Cb
ME	c	158,64Aa	156,86Aa	147,31Ba	163,69Aa	131,24Ca	123,50Ca	123,58Ca	130,02Ca
	s	148,84Aa	142,65Ab	133,41Bb	144,89Ab	129,06Ba	127,35Ba	129,32Ba	127,52Ba
MG	c	133,02Aa	131,64Aa	124,83Aa	138,76Aa	111,49Ba	104,71Ba	106,16Ba	109,53Ba
	s	124,64Aa	119,85Ab	111,29Bb	120,85Ab	110,03Ba	108,71Ba	114,52Ba	108,99Ba

Médias seguidas por mesma letra maiúscula na linha (associações) não diferem entre si pelo agrupamento de Scott-Knott ($p<0,05$). Médias seguidas por mesma letra minúscula na coluna (adubação) não diferem entre si pelo teste F ($p<0,05$).

Esses resultados demonstram que, indiferente à condição de adubação, o DKB 390 PRO 3 apresenta plantas mais altas. Além disso, quando submetido à adubação nitrogenada em cobertura, esse híbrido apresentou maior massa de espigas e de grãos do que o P30F53 VYHR. Por outro lado, na ausência dessa adubação, o tratamento H1+Bc se equipara ao grupo com menor ME e MG (Tabela 5). No geral, isso implica que, para essas variáveis, o material genético, modulado pela adubação nitrogenada em cobertura, teve maior influência nos resultados do que a inoculação em si. Apesar do potencial dos bioinoculantes para promover benefícios às plantas, nem sempre eles conseguem expressar plenamente sua eficácia em condições de campo (DÍAZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2025).

Estudando o desdobramento de L dentro de cada nível de A, foi possível identificar um efeito quadrático da lâmina de água sobre a AP, DE, ME e MG. Quando realizada a adubação nitrogenada em cobertura, a AP atingiu uma máxima de 2,55 m, com uma lâmina de 581,91 mm, enquanto na ausência de adubação de cobertura foi de 2,52 m, com uma lâmina de 603,02 mm (Figura 6A). Esses resultados podem indicar uma influência da adubação nitrogenada em cobertura no crescimento das plantas e otimização dos recursos hídricos disponíveis. Visto que, mesmo com uma quantidade inferior de água aplicada, as plantas que receberam adubação nitrogenada em cobertura alcançaram uma altura maior (Figura 6A).

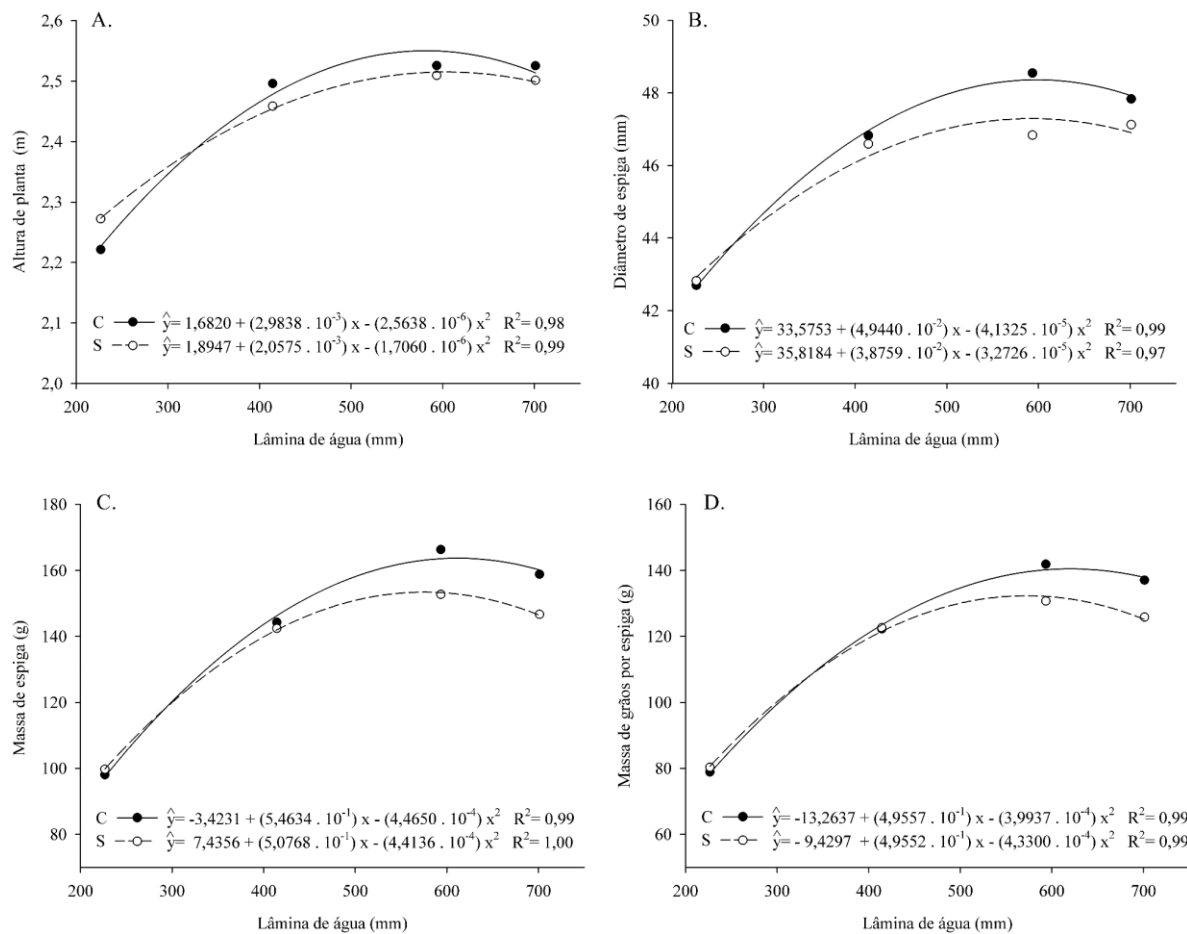


Figura 6. A. Altura de planta (AP); B. Diâmetro de espiga (DE); C. Massa de espiga (ME); D. Massa de grãos por espiga (MG) de híbridos de milho associados a rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica e adubação nitrogenada em cobertura. ● = com adubação nitrogenada em cobertura; ○ = sem adubação nitrogenada em cobertura.

O DE, quando realizada a adubação nitrogenada em cobertura, apresentou o valor máximo de 48,36 mm, em uma lâmina de 598,19 mm, e na ausência dessa adubação, o máximo foi de 47,29 mm, numa lâmina de 592,17 mm (Figura 6B). A ME, quando realizada adubação nitrogenada em cobertura, alcançou valor máximo de 163,70 g, em uma lâmina de 611,80 mm, enquanto na ausência dessa adubação, o máximo foi de 153,43 g, em uma lâmina de 575,13 mm (Figura 6C). A MG, com a adubação nitrogenada em cobertura, apresentou o máximo de 140,47 g, com uma lâmina de 620,44 mm, e sem adubação nitrogenada em cobertura, a máxima foi de 132,34 g, com uma lâmina de 572,19 mm (Figura 6D).

O que se verifica é que, embora os componentes de rendimento da cultura sejam geralmente responsivos à quantidade de água fornecida, eles podem flutuar substancialmente, dependendo do suprimento de outros fatores de produção, como a disponibilidade de nutrientes

(ZOU *et al.*, 2021; GRZEBISZ *et al.*, 2022). Consequentemente, podendo exercer influência direta na produtividade da cultura, especialmente em condições de seca.

Ao realizar o desdobramento de A dentro de cada nível de L, foi possível constatar que a adubação nitrogenada em cobertura propiciou maior diâmetro de espigas na L2, maior massa de espigas e de grãos na L1 e L2 e maior altura de plantas na L3. Para as demais lâminas, a adubação nitrogenada em cobertura não resultou em incrementos significativos das variáveis em questão (Figura 6).

Para o grupo de tratamentos com o híbrido DKB 390 PRO 3, a M100 variou de 27,69 a 28,94 g, superando o grupo com o híbrido P30F53 VYHR, cuja variação foi de 25,97 a 26,93 g. Além do mais, foi possível observar uma M100 5,02% maior quando realizada a adubação nitrogenada em cobertura.

A lâmina de água também teve influência significativa na M100 do milho, mostrando um efeito quadrático. Ou seja, à medida que a disponibilidade de água aumentou, a M100 também aumentou, atingindo um pico de 30,72 g, com uma lâmina de água aplicada de 621,31 mm (Figura 7).

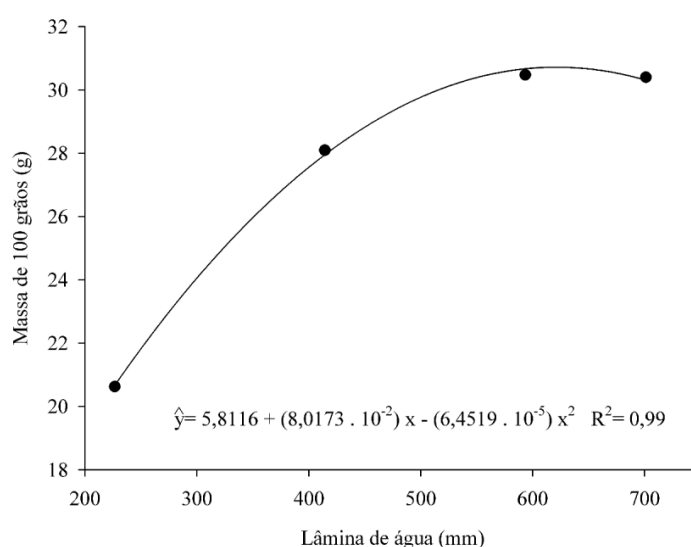


Figura 7. Massa de 100 grãos (M100) de híbridos de milho associados a rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica e adubação nitrogenada em cobertura.

Em relação ao NF, o grupo de tratamentos com o híbrido DKB 390 PRO 3 apresentou variação média de 16,80 a 17,04 fileiras, superando o grupo de tratamentos com o híbrido P30F53 VYHR, cuja variação média foi de 15,92 a 16,22 fileiras.

É consensual a influência da escolha do material genético no sucesso produtivo da cultura. No entanto, a exploração desse potencial depende essencialmente do fornecimento de água e nutrientes, pois são fatores limitantes ao rendimento (GRZEBISZ *et al.*, 2022). Neste sentido, embora seja evidente o melhor desempenho dos tratamentos com o híbrido DKB 390 PRO 3, não se deve analisá-lo de maneira isolada, sem considerar a influência da adubação, a restrição hídrica aplicada e o condicionamento gerado pelos bioinoculantes.

Complementarmente, os resultados do presente estudo estimulam pesquisas futuras a investigarem a especificidade de rizobactérias promotoras de crescimento à diferentes híbridos de milho e os possíveis impactos do manejo produtivo na atuação dessas. Esta linha de investigação pode fornecer insights valiosos sobre quais materiais genéticos são mais promissores para se beneficiar da inoculação e/ou coinoculação e como as práticas de manejo podem favorecer esse processo. Por conseguinte, contribuindo na identificação de condições ideais para a inoculação, otimização da produtividade e tolerância da cultura à seca.

Apesar dos esforços de pesquisa dedicados à inoculação com rizobactérias promotoras de crescimento, sua eficácia, especialmente em nível de campo, tem sido uma barreira para a adoção generalizada dos bioinoculantes na agricultura (BASU *et al.*, 2021; FERRAREZI *et al.*, 2022; VRIES *et al.*, 2020). Muitas vezes, observam-se inconsistências nos resultados entre ensaios realizados em condições controladas e de campo. Isso geralmente ocorre devido a fatores ambientais que refreiam a capacidade dos microrganismos de colonizar a rizosfera e traduzir seus benefícios em maiores rendimentos de grãos (DÍAZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2025).

Além do mais, como verificado no presente trabalho, nem sempre os efeitos da inoculação são explícitos, tornando-os difíceis de mensurar e muitas vezes impossíveis de se dissociar de outros fatores que estão frequentemente interligados. Neste sentido, são necessários estudos mais abrangentes sobre as interações das rizobactérias com os fatores ambientais e de produção, seus efeitos nas plantas e a sobrevivência a longo prazo dos inoculantes, visando aprimorar seu potencial para tornar os sistemas de produção agrícola mais sustentáveis e resilientes à seca (FRENCH *et al.*, 2021).

CONCLUSÕES

Os diferentes níveis de restrição hídrica no sistema *line-source* e a adubação nitrogenada em cobertura alteram a dinâmica dos componentes de produção e a produtividade do milho associado à rizobactérias promotoras de crescimento.

A escolha do híbrido a ser utilizado para inoculação exerce uma forte influência no desempenho produtivo do milho sob diferentes níveis de restrição hídrica e adubação nitrogenada em cobertura.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – Código de Financiamento 001; à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG); ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsas e à Embrapa Milho e Sorgo pelo suporte técnico e científico.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, P. E. P.; ANDRADE, C. L. T. **Planilha eletrônica para a programação da irrigação de culturas anuais**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2001. 14 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular técnica, 10).

ALLEN, R. G. *et al.* **Crop evapotranspiration: guidelines for computing crop water requirements**. Rome: FAO, 1998. 300p. (FAO. Irrigation and drainage paper, 56).

ALVARES, C. A. *et al.* Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711-728, 2013.

ARAÚJO, J. L. *et al.* Beneficial microorganisms affect soil microbiological activity and corn yield under deficit irrigation. **Agriculture**, v. 13, n. 6, p. 1-19, 2023.

BASU, A. *et al.* Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as green bioinoculants: recent developments, constraints, and prospects. **Sustainability**, v. 13, n. 3, p. 1-20, 2021.

CHUKWUDI, U. P.; KUTU, F. R.; MAVENGAHAMA, S. Heat stress effect on the grain yield of three drought-tolerant maize varieties under varying growth conditions. **Plants**, v. 10, n. 8, p. 1-15, 2021.

DESOKY, E. M. *et al.* Exogenously used 24-epibrassinolide promotes drought tolerance in maize hybrids by improving plant and water productivity in an arid environment. **Plants**, v. 10, n. 2, p. 1-24, 2021.

DÍAZ-RODRÍGUEZ, A. M. *et al.* Microbial Inoculants in Sustainable Agriculture: Advancements, Challenges, and Future Directions. **Plants**, v. 14, n. 2, p. 1-19, 2025.

FERRAREZI, J. A. *et al.* Effects of inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria from the Brazilian Amazon on the bacterial community associated with maize in field. **Applied Soil Ecology**, v. 170, p. 1-14, 2022.

FRENCH, E. *et al.* Emerging strategies for precision microbiome management in diverse agroecosystems. **Nature plants**, v. 7, n. 3, p. 256-267, 2021.

FRIENDLY, M.; FOX, J. **Candisc**: visualizing generalized canonical discriminant and canonical correlation analysis (Version R package version 0.6-5). 2017.

GALVÃO, J.C.C.; BORÉM, A.; PIMENTEL, M.A. **Milho**: do plantio à colheita. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 2017. 382 p.

GRZEBISZ, W. *et al.* Soil fertility clock—crop rotation as a paradigm in nitrogen fertilizer productivity control. **Plants**, v. 11, n. 21, p. 1-29, 2022.

HANKS, R. J. *et al.* Line source sprinkler for continuous variable irrigation-crop production studies. **Soil Science Society of America Journal**, v.40, n.3, p.426-429, 1976.

HANKS, R.J. *et al.* Statistical analysis of results from irrigation experiments using the line-source sprinkler system. **Soil Science Society of America Journal**, v. 44, n. 4, p. 886-888, 1980.

KUMAR, A. *et al.* The Role of Drought Response Genes and Plant Growth Promoting Bacteria on Plant Growth Promotion under Sustainable Agriculture: A Review. **Microbiological Research**, v. 286, p. 127827, 2024.

LI, C. *et al.* Effect of irrigation and fertilization regimes on grain yield, water and nitrogen productivity of mulching cultivated maize (*Zea mays* L.) in the Hetao Irrigation District of China. **Agricultural Water Management**, v. 232, p. 1-12, 2020.

MEKONNEN, M. M. *et al.* Water productivity benchmarks: The case of maize and soybean in Nebraska. **Agricultural Water Management**, v. 234, p. 1-9, 2020.

OLIVEIRA, I. C. M. *et al.* Technical feasibility of using suboptimal irrigation in maize cropping. **Crop and Pasture Science**, v. 72, n. 5, p. 348-360, 2021.

R CORE TEAM. R: a language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2018.

RIBEIRO, V. P. *et al.* Co-inoculation with tropical strains of *Azospirillum* and *Bacillus* is more efficient than single inoculation for improving plant growth and nutrient uptake in maize. **Archives of Microbiology**, v. 204, n. 2, p. 1-16, 2022.

ROCHA, D. N. S. *et al.* Physiological, biochemical, and growth aspects in corn inoculated with endophytic bacteria under saline stress. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 18, n. 1, p. 1-9, 2023.

ROMÃO, I. R. *et al.* Seed-Encapsulation of Desiccation-Tolerant Microorganisms for the Protection of Maize from Drought: Phenotyping Effects of a New Dry Bioformulation. **Plants**, v. 11, n. 8, p. 1-17, 2022.

SAAD-ALLAH, K. M. *et al.* Evaluation of drought tolerance of five maize genotypes by virtue of physiological and molecular responses. **Agronomy**, v. 12, n. 1, p. 1-19, 2022.

SAH, R. P. *et al.* Impact of water deficit stress in maize: Phenology and yield components. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 2944, 2020.

SELEIMAN, M. F. *et al.* Drought stress impacts on plants and different approaches to alleviate its adverse effects. **Plants**, v. 10, n. 2, p. 1-25, 2021.

SHAO, R. *et al.* Soil water deficit suppresses development of maize ear by altering metabolism and photosynthesis. **Environmental and Experimental Botany**, v. 192, p. 1-10, 2021.

SOUSA, S. M. *et al.* Tropical Bacillus strains inoculation enhances maize root surface area, dry weight, nutrient uptake and grain yield. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 40, n. 2, p. 867-877, 2021.

VRIES, F. T. *et al.* Harnessing rhizosphere microbiomes for drought-resilient crop production. **Science**, v. 368, n. 6488, p. 270-274, 2020.

YANG, Y. *et al.* Effects and evaluations of water stress on growth development and yield of maize during critical growth periods in arid and semi-arid regions. **Journal of Arid Meteorology**, v. 40, n. 6, p. 1059-1067, 2022.

ZHENG, H. *et al.* Water productivity of irrigated maize production systems in Northern China: a meta-analysis. **Agricultural Water Management**, v. 234, p. 1-7, 2020.

ZOU, Y. *et al.* Deficit irrigation improves maize yield and water use efficiency in a semi-arid environment. **Agricultural Water Management**, v. 243, p. 1-8, 2021.

CAPÍTULO - II

ABSORÇÃO DE NUTRIENTES EM HÍBRIDOS DE MILHO BIOINOCULADOS

Tese redigida em formato de artigo científico, conforme as normas de publicação da Revista Caatinga.

ABSORÇÃO DE NUTRIENTES EM HÍBRIDOS DE MILHO BIOINOCULADOS

RESUMO - Objetivou-se com este trabalho determinar as respostas nutricionais de híbridos de milho associados a rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica e adubação nitrogenada em cobertura, no sistema *line-source*. O experimento foi conduzido no esquema de parcelas subsubdivididas, com a associação dos híbridos e rizobactérias nas parcelas, gradiente de irrigação nas subparcelas e adubação nitrogenada em cobertura na subsubparcela, com quatro repetições. Os dados foram submetidos a análise multivariada de variáveis canônicas (VC), com o intuito de selecionar os nutrientes de maior influência no estudo. Os elementos selecionados pela VC foram submetidos a análise de variância ($p < 0,05$). Quando significativos, os efeitos das associações foram estudados pelo agrupamento de Scott-knott ($p < 0,05$), os efeitos do gradiente de irrigação pela análise de regressão e os da adubação nitrogenada em cobertura pelo teste “F” ($p < 0,05$). De maneira geral, observou-se que o uso de bioinoculantes, bem como os diferentes níveis de restrição hídrica e adubação nitrogenada em cobertura alteraram a dinâmica de aquisição de nutrientes pelo milho. A adubação nitrogenada em cobertura aumenta os teores de N, P, K, S, Cu e Zn sob diferentes lâminas de água, otimizando a absorção de nutrientes em condições de restrição hídrica.

Palavras-chave: *Zea mays* L. Análise foliar. Avaliação nutricional. Estresse hídrico.

NUTRIENT UPTAKE IN BIOINOCULATED MAIZE HYBRIDS

ABSTRACT - The objective of this work was to determine the nutritional responses of maize hybrids associated with growth-promoting rhizobacteria under different levels of water restriction and top dressing nitrogen fertilization in the line-source system. The experiment was conducted in a sub-subdivided plot design, with associations of contrasting hybrids and growth-promoting rhizobacteria in the plots, irrigation gradient in the subplots, and top dressing nitrogen fertilization in the subsubplots, with four replications. The data were subjected to multivariate analysis of canonical variables (VC), with the aim of selecting the nutrients with the greatest influence on the study. The elements selected by VC were subjected to analysis of variance ($p < 0.05$). When significant, the effects of associations were studied by Scott-knott grouping ($p < 0.05$), the effects related to irrigation gradient by regression analysis, and the effects of top dressing nitrogen fertilization by the “F” test ($p < 0.05$). In general, it was observed that the use of bioinoculants, as well as different levels of water restriction and nitrogen fertilization in top dressing, altered the dynamics of nutrient uptake by maize. Top dressing nitrogen fertilization increases the contents of N, P, K, S, Cu, and Zn under different water levels, optimizing nutrient uptake under water restricted conditions.

Keywords: *Zea mays* L. Leaf Analysis. Nutritional Assessment. Water stress.

INTRODUÇÃO

A crescente demanda por alimentos, as mudanças climáticas em curso e a escassez de recursos hídricos representam desafios significativos para a sustentabilidade agrícola e a segurança alimentar do planeta (TIAN *et al.*, 2021). No cultivo do milho (*Zea mays* L.), um dos cereais mais produzidos e consumidos globalmente, a disponibilidade de água e nutrientes é essencial para manter a produtividade, especialmente em regiões propensas à seca (SOARES; PAÇO; ROLIM, 2023).

Nesse contexto, o uso de bioinoculantes tem emergido como uma estratégia promissora para melhorar a eficiência na absorção de nutrientes pelas plantas e a tolerância a condições adversas, como o déficit hídrico (AGUNBIADE *et al.*, 2024; PEREIRA *et al.*, 2020). Compostos por microrganismos benéficos, como rizobactérias promotoras de crescimento, interagem com as plantas e colonizam suas raízes, promovendo o crescimento, melhorando a mineralização e a absorção de nutrientes, além de aumentar a tolerância ao estresse hídrico por meio de múltiplos mecanismos (ANDRADE *et al.*, 2023; BHAT *et al.*, 2023; RIBEIRO *et al.*, 2022).

No entanto, a eficácia desses bioinoculantes pode variar conforme suas especificidades, as condições do solo, do ambiente e a disponibilidade de água para as plantas (BASU *et al.*, 2021). Portanto, compreender as interações entre diferentes híbridos milho, bioinoculantes, níveis de restrição hídrica e de nutrientes pode ser fundamental para o desenvolvimento de práticas agrícolas mais sustentáveis para a cultura.

Por se tratarem de avaliações complexas e multifatoriais, como é o caso, faz-se necessária a utilização de métodos e desenhos experimentais que otimizem o trabalho, reduzam a área necessária e simplifiquem a interpretação dos resultados (O'CALLAGHAN; BALLARD; WRIGHT, 2022). Pensando nisso, alguns pesquisadores têm utilizado o sistema de irrigação *line-source* para formar gradientes de irrigação em áreas experimentais reduzidas, combinando outros fatores perpendiculares ao tratamento com os níveis de água (HANKS *et al.*, 1980; OLIVEIRA *et al.*, 2021). Entretanto, não há relatos na literatura sobre a aplicação desse sistema associado a bioinoculantes e níveis de adubação nitrogenada em cobertura no cultivo do milho.

Neste sentido, objetivou-se com este trabalho determinar as respostas nutricionais de híbridos de milho associados a rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica e adubação nitrogenada em cobertura, no sistema *line-source*.

MATERIAL E MÉTODOS

Caracterização experimental

O experimento foi conduzido na Estação Experimental da Embrapa Milho e Sorgo, no município de Sete Lagoas, MG, Brasil. A área experimental está situada nas coordenadas geográficas: latitude 19° 27' 20" S, longitude 44° 10' 21" O e altitude de 725 m. O clima da região é subtropical, caracterizado por verões quentes e chuvosos e invernos secos, do tipo Cwa, segundo a classificação de Köppen (ALVARES *et al.*, 2013). A experimentação foi conduzida no período seco (abril a setembro) (Figura 1).

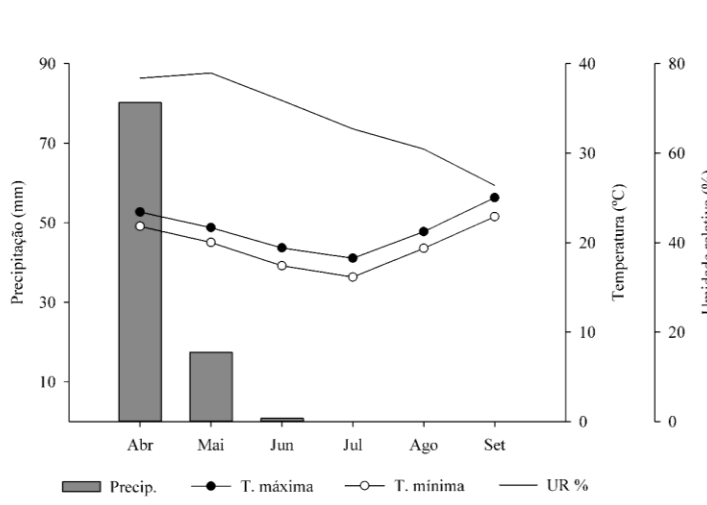


Figura 1. Distribuição mensal da precipitação, das temperaturas máxima e mínima (°C) e da umidade relativa do ar (%) durante o período experimental.

O solo da área experimental é classificado como Latossolo Vermelho Distrófico Argiloso, cujas principais características químicas na profundidade de 0-20 cm são: pH em água: 6,0; matéria orgânica: 3,22 dag kg⁻¹; SB: 6,04 cmol_c dm⁻³; H+Al: 4,09 cmol_c dm⁻³; CTC: 10,13 cmol_c dm⁻³; V%: 59%; m%: 0,82; P: 13,34 mg dm⁻³; K: 13,34 mg dm⁻³; Ca: 5,18 cmol_c dm⁻³; Mg: 0,83 cmol_c dm⁻³; Al: 0,05 cmol_c dm⁻³; Cu: 2,05 mg dm⁻³; Fe: 20,39 mg dm⁻³; Zn: 6,64 mg dm⁻³ e Mn: 5,54 mg dm⁻³.

Delineamento experimental e tratamentos

O experimento foi conduzido no esquema de parcelas subsubdivididas, com quatro repetições. As parcelas corresponderam a associações de híbridos contrastantes e rizobactérias promotoras de crescimento. As subparcelas corresponderam ao gradiente de irrigação, seguindo a conformação experimental de irrigação por aspersão em linha ou *line-source* (HANKS *et al.*, 1976; HANKS *et al.*, 1980). Já a subsubparcela, correspondeu a condição de adubação, em que,

um lado do experimento recebeu adubação nitrogenada no plantio e em cobertura e o outro lado apenas a de plantio (Figura 2).

As parcelas experimentais foram compostas por quatro fileiras com 4,25 m de comprimento, espaçadas de 0,7 m entre si, perfazendo uma área total de 11,9 m². Para avaliação do experimento, foram consideradas as duas linhas centrais de cada parcela experimental, perfazendo uma área útil de 5,95 m².

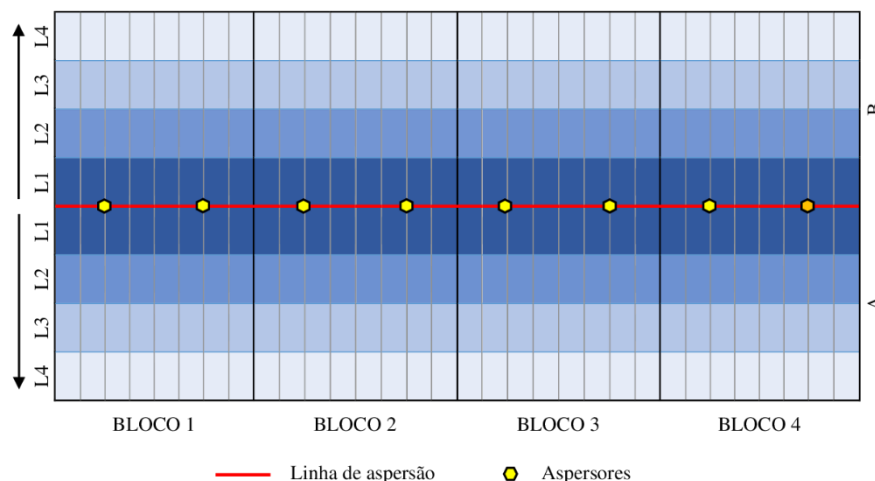


Figura 2. Desenho experimental: Gradiente de irrigação (L1; L2; L3 e L4); A = Com adubação nitrogenada em cobertura; B = Sem adubação nitrogenada em cobertura.

Dois híbridos contrastantes quanto à tolerância ao déficit hídrico compuseram as associações com os bioinoculantes: DKB 390 PRO 3 (tolerante [H1]) e P30F53 VYHR (sensível [H2]), inoculados com *Azospirillum brasilense* (Az), *Bacillus* spp. (Bc), ou coinoculados com ambos (Az + Bc). Os inoculantes utilizados são pertencentes à Coleção de Microrganismos Multifuncionais e Fitopatogênicos (CMMF) da Embrapa Milho e Sorgo, sendo obtidos a partir da mistura de duas estirpes homólogas de *Azospirillum brasilense* (E11 e E26), de estirpes de *Bacillus* spp. (*Bacillus safensis* – PSI06 e *Bacillus pumilus* – PSI02) e da mistura das estirpes de *Azospirillum brasilense* com *Bacillus* spp., todos na proporção 1:1.

As associações de híbridos contrastantes quanto à tolerância ao déficit hídrico e rizobactérias promotoras de crescimento foram codificadas em: H1= testemunha DKB 390 PRO 3; H1+Az= DKB 390 PRO 3 inoculado com *A. brasilense*; H1+Bc= DKB 390 PRO 3 inoculado com *Bacillus* spp.; H1 + Az + Bc= DKB 390 PRO 3 coinoculado com *A. brasilense* e *Bacillus* spp.; H2= testemunha P30F53 VYHR; H2+Az= P30F53 VYHR inoculado com *A. brasilense*; H2+Bc= P30F53 VYHR inoculado com *Bacillus* spp.; H2 + Az + Bc= P30F53 VYHR coinoculado com *A. brasilense* e *Bacillus* spp.

O gradiente de irrigação foi composto por quatro lâminas de água, em que L1 representa a lâmina com irrigação plena, enquanto de L2 a L4 a restrição hídrica aumentou gradativamente, totalizando, ao final do ciclo, uma lâmina de água acumulada de 701,26 mm (L1), 593,49 mm (L2), 414,29 mm (L3) e 226,62 mm (L4).

Instalação e condução do experimento

Devido à necessidade de o plantio ser manual, o preparo do solo foi realizado no sistema semidireto, isto é, sem revolvimento do solo, com o sulco de plantio e a adubação feitos por meio de máquina. A formulação da adubação de plantio foi recomendada com base na análise química do solo e a necessidade da cultura, utilizando 400 kg ha⁻¹ da formulação 8-28-16 (NPK) mais 20 kg ha⁻¹ de FTE.

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

O plantio do milho foi realizado manualmente no sulco, com a colocação de duas sementes a cada 0,2 m. O desbaste do excesso de plantas foi efetuado quando estas apresentavam de três a quatro folhas totalmente expandidas, resultando em uma população final de 71.428 plantas ha⁻¹.

A adubação nitrogenada em cobertura foi realizada exclusivamente no lado A (Figura 1), com a aplicação de 118 kg ha⁻¹ de nitrogênio (N), de forma parcelada, utilizando ureia. O parcelamento ocorreu no estágio fenológico V6, quando as plantas apresentavam seis folhas totalmente expandidas, e no estágio fenológico V8, com as plantas apresentando oito folhas totalmente expandidas.

Os demais tratos culturais envolveram o controle de plantas daninhas, pragas e doenças, conforme a necessidade e recomendações para a cultura (GALVÃO *et al.*, 2017).

Utilizou-se o sistema de irrigação por aspersão, contendo aspersores Rain Bird modelo 14070, espaçados 9 x 18 m, sendo 9 metros longitudinalmente e 18 metros de alcance lateralmente, considerando o plantio transversal à linha central de irrigação. A área experimental foi irrigada empregando três linhas laterais até o estabelecimento da cultura. Quando as plantas estavam no estágio fenológico V6, foram removidas as linhas laterais de irrigação, deixando apenas a linha central, iniciando, assim, o sistema de irrigação *line-source*

(HANKS *et al.*, 1976; HANKS *et al.*, 1980). Esse arranjo permitiu a distribuição de água em doses decrescentes, perpendiculares à linha de irrigação, criando um gradiente hídrico.

O manejo da irrigação foi feito com o auxílio de planilha eletrônica (ALBUQUERQUE; ANDRADE, 2001), utilizando o coeficiente de cultura adaptado de Allen *et al.* (1998). Para minimizar derivas e/ou distorções no padrão de aspersão, provocadas pelo vento, a irrigação foi realizada sempre no início da manhã.

A água aplicada foi quantificada após cada irrigação, utilizando coletores instalados no centro das parcelas experimentais, sempre posicionados acima do dossel da cultura, de forma a acompanhar o crescimento das plantas. As precipitações ocasionais ocorridas durante o período experimental também foram registradas por meio de uma estação climatológica próxima.

Diagnose foliar

Foram avaliados os teores dos macronutrientes nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S) e dos micronutrientes cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn).

Por ocasião do aparecimento da inflorescência feminina (emissão do estilo-estigma – estágio fenológico R1), foi retirada aleatoriamente a parte aérea de uma planta representativa por parcela para a realização da diagnose foliar. Ao todo, foram amostradas 256 plantas. As amostras coletadas foram acondicionadas em sacos de papel devidamente identificados e colocadas para secar em estufa com ventilação forçada de ar a 65 °C até atingirem massa constante. Após a secagem, o material foi moído em moinho tipo Willey, utilizando peneira de malha fina, para posterior análise química.

Os teores de N, P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn e Zn, foram determinados conforme os métodos descritos por Silva (2009). Os teores de macronutrientes foram expressos em g kg⁻¹ e os de micronutrientes em mg kg⁻¹.

Análises estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de variância multivariada (MANOVA), utilizando a função *manova* do pacote *stats*, recorrendo ao teste de Pillai a um nível de 5% de significância ($p < 0,05$). Após confirmada a ausência de multicolinearidade, procedeu-se à análise de variáveis canônicas (VC), utilizando o pacote *candisc* (FRIENDLY; FOX, 2017), a fim de selecionar os elementos de maior influência no estudo. Essa seleção considerou aqueles cujos escores canônicos apresentaram valores absolutos superiores a 0,60.

Seguindo as pressuposições de normalidade e homoscedasticidade, as variáveis selecionadas pela VC foram submetidas à análise de variância de parcelas subsubdivididas ($p < 0,05$). Quando significativos, os efeitos dos tratamentos, com associações de híbridos contrastantes e rizobactérias promotoras de crescimento, foram estudados pelo agrupamento de Scott-knott ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$). Os efeitos referentes ao gradiente de irrigação (L1 a L4) foram estudados pela análise de regressão e os efeitos da adubação nitrogenada em cobertura foram comparados pelo teste “F” a 5% de significância ($p < 0,05$). A escolha do modelo estatístico de regressão foi baseada na significância dos parâmetros.

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o Software R (R Core Team [R], 2018).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de VC explicou 66,31% da variação total observada. A matriz de vetores próprios mostra a proporção da variância total explicada e suas correlações com as características analisadas. Sendo que, a variável canônica 1 (VC1) explicou 49,12% da variação total, tendo como maior contribuição relativa os teores de N, P, K, S, Cu e Zn. Já a variável canônica 2 (VC2), explicou (17,19%) da variação total, sendo o Ca o elemento de maior importância relativa (Figura 3). O comprimento dos vetores indica os elementos mais importantes no estudo para diferenciar os tratamentos.

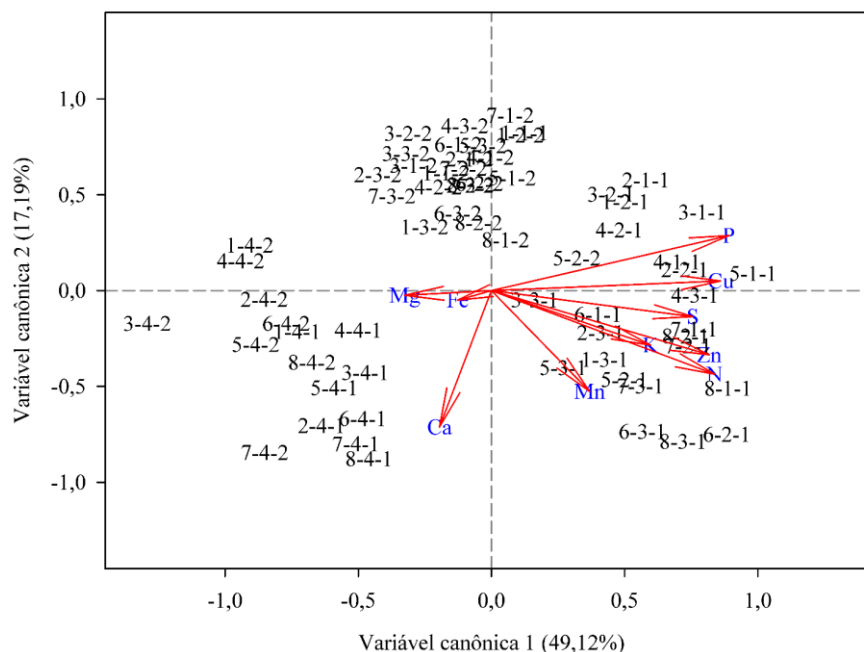


Figura 3. Análise multivariada de variáveis canônicas (VC) de híbridos de milho associados à rizobactérias promotoras de crescimento em diferentes níveis de restrição hídrica e adubação nitrogenada em cobertura. O conjunto de três números representa as combinações de tratamentos, indicadas na seguinte ordem: associações com os bioinoculantes (1= H1; 2= H1+Az; 3= H1+Bc; 4= H1+Az+Bc; 5= H2; 6= H2+Az; 7= H2+Bc; 8= H2+Az+Bc), lâmina de água aplicada (1= L1; 2= L2; 3=L3; 4= L4) e presença (1) ou ausência (2) de adubação nitrogenada em cobertura.

Observa-se que, as correlações positivas são responsáveis pela discriminação dos tratamentos localizados à direita da VC1 e na parte superior da VC2. Já as correlações negativas são responsáveis por discriminar os tratamentos situados à esquerda de VC1 e na parte inferior de VC2 (Figura 3). Os resultados biplot demonstraram uma diferenciação entre grupos de tratamentos conforme os diferentes níveis de restrição hídrica. A proximidade dos tratamentos com os respectivos vetores de correlação sugere os elementos em que estes apresentam maior afinidade. Neste sentido, foi possível perceber que os tratamentos submetidos a uma maior restrição hídrica (L4) estão em sentido oposto aos autovetores dos nutrientes N, P, K, S, Mn, Cu e Zn. Isso significa dizer que em condições de déficit hídrico a absorção desses nutrientes pode ser comprometida. Em contrapartida, na mesma condição, a absorção de Ca, Mg e Fe teve comportamento distinto a estes (Figura 3).

Entende-se que a disponibilidade reduzida de água limita a capacidade da planta em absorver nutrientes essenciais e inibe a atividade fotossintética, comprometendo seu crescimento, desenvolvimento e, conseqüentemente, sua produtividade (ELSHAMLY; NASSAR, 2023; VENNAM *et al.*, 2023). Portanto, compreender a dinâmica de comportamento

do milho frente aos diferentes níveis de água no solo e à adubação nitrogenada em cobertura, pode ser uma estratégia interessante para se criar um ambiente hídrico e nutricional favorável à sua produção (LI *et al.*, 2020).

A partir dos elementos selecionados na VC, foi realizada a análise de variância ($p < 0,05$). Não foi observado efeito significativo da interação entre híbridos de milho associados à rizobactérias promotoras de crescimento (H), lâmina de irrigação (L) e adubação nitrogenada em cobertura (A) para nenhum dos nutrientes em estudo. Ademais foi verificada interação significativa de H x L para o teor de N, Ca e Cu, de L x A para os teores de N, P, K, S, Cu e Zn e de H x A para o teor de Cu (Tabela 1).

Tabela 2. Resumo da análise de variância de macronutrientes (N, P, Ca, K e S) e micronutrientes (Cu e Zn) em híbridos de milho associados à rizobactérias promotoras de crescimento (H), em diferentes níveis de restrição hídrica (L) e adubação nitrogenada em cobertura (A).

FV	GL	Quadrado médio						
		N	P	K	Ca	S	Cu	Zn
Bloco	3	0,04 ^{ns}	0,34 ^{ns}	6,99 ^{ns}	0,39 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,12 ^{ns}	52,46*
Associações (H)	7	0,16*	0,09 ^{ns}	33,75**	0,61**	0,03 ^{ns}	0,25 ^{ns}	51,65*
Resíduo 1	21	0,05	0,14	6,37	0,14	0,02	0,13	15,80
Lâmina (L)	3	0,83**	6,80**	43,45**	2,40**	0,20**	8,87**	263,73**
H*L	21	0,05*	0,04 ^{ns}	5,02 ^{ns}	0,20*	0,02 ^{ns}	0,21**	11,70 ^{ns}
Resíduo 2	72	0,03	0,06	4,58	0,10	0,01	0,09	8,98
Adubação (A)	1	9,75**	1,63**	68,00**	0,06 ^{ns}	0,73**	3,27**	816,24**
H*A	7	0,06 ^{ns}	0,02 ^{ns}	4,45 ^{ns}	0,23 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,34*	15,17 ^{ns}
L*A	3	0,36**	0,50**	16,51*	0,31 ^{ns}	0,05*	0,64**	25,41*
H*L*A	21	0,02 ^{ns}	0,04 ^{ns}	5,75 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,20 ^{ns}	10,06 ^{ns}
Resíduo 3	96	0,04	0,07	4,26	0,15	0,01	0,12	8,39
Média		17,40	1,51	10,21	2,59	0,87	2,90	16,40
CV1 %		13,19	24,51	24,71	14,46	16,19	12,33	24,24
CV2 %		9,71	15,73	20,96	12,11	11,72	10,31	18,27
CV3 %		11,26	17,61	20,21	15,09	14,05	12,03	17,66

Não significativo $p > 0,05$ (^{ns}); significativo a 1% $p < 0,01$ (**); significativo a 5% $p < 0,05$ (*) pelo teste F.

De maneira geral, os tratamentos com híbridos contrastantes associados a rizobactérias promotoras de crescimento, bem como as lâminas de irrigação e a adubação nitrogenada em cobertura, influenciaram na absorção de nutrientes pelo milho.

No desdobramento de H dentro de cada nível de L, observou-se que, na lâmina com maior restrição hídrica (L4), não houve diferença significativa entre os tratamentos quanto à absorção de N, Ca e Cu. Além do mais, não houve diferença estatística entre os tratamentos quanto ao teor de N e Cu na lâmina 1 e 3, respectivamente (Tabela 2).

Na lâmina com maior disponibilidade hídrica (L1), o grupo com os tratamentos H2 e H2+Az+Bc apresentou maior teor de Ca, enquanto o teor de Cu foi menor no grupo composto

pelos tratamentos H1 e H2+Az. Na lâmina 2 (L2), o grupo com os tratamentos H1+Az, H2, H2+Az, H2+Bc e H2+Az+Bc apresentou maior teor de N e Ca, enquanto o teor de Cu foi menor no tratamento H1+Bc se comparado ao grupo com os demais tratamentos. Já na lâmina 3 (L3), o teor de N foi maior para o grupo composto com os tratamentos H2+Az e H2+Az+Bc e o teor de Ca menor no tratamento H1+Az+Bc em relação ao grupo com demais tratamentos (Tabela 2).

Tabela 2. Teor de N, Ca e Cu em híbridos de milho associados à rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica (L) e adubação nitrogenada em cobertura.

	L	Associações							
		H1	H1+Az	H1+Bc	H1+Az+Bc	H2	H2+Az	H2+Bc	H2+Az+Bc
N (g/kg)	1	16,89A	17,66A	17,78A	18,79A	18,70A	17,84A	18,39A	19,28A
	2	17,33B	18,78A	16,34B	16,79B	20,21A	19,30A	18,34A	19,04A
	3	17,16B	16,61B	15,99B	17,59B	16,84B	18,44A	17,41B	19,03A
	4	14,56A	14,80A	15,93A	15,93A	16,50A	16,78A	16,13A	15,79A
Ca (g/kg)	1	2,11B	2,16B	2,22B	2,35B	2,57A	2,35B	2,30B	2,57A
	2	2,42B	2,70A	2,16B	2,45B	2,89A	2,88A	2,64A	2,70A
	3	2,74A	2,62A	2,69A	2,23B	2,72A	2,67A	2,68A	2,85A
	4	2,72A	2,77A	2,75A	2,52A	2,75A	2,83A	3,08A	2,93A
Cu (mg/kg)	1	2,56B	2,95A	3,05A	2,98A	3,22A	2,65B	3,00A	3,13A
	2	3,30A	3,40A	2,79B	3,25A	3,22A	3,22A	3,25A	3,25A
	3	3,05A	3,16A	2,93A	3,17A	3,13A	3,14A	2,99A	3,18A
	4	2,36A	2,38A	2,29A	2,26A	2,17A	2,38A	2,56A	2,58A

Médias seguidas por mesma letra na linha (associações) não diferem entre si pelo agrupamento de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Diversos autores defendem que o uso de bioinoculantes pode melhorar a absorção de nutrientes e a tolerância à seca pelo milho, configurando uma estratégia promissora para promover o crescimento das plantas e mitigar perdas ambientais associadas ao déficit hídrico (AGUNBIADE *et al.*, 2024; DIAS *et al.*, 2023; PEREIRA *et al.*, 2020; RIBEIRO *et al.*, 2022). Entretanto, neste estudo, os tratamentos com rizobactérias promotoras de crescimento não demonstraram efeito significativo na absorção de nutrientes sob a lâmina crítica de irrigação (Tabela 2).

O que frequentemente acontece é que os bioinoculantes mais promissores em laboratório apresentam eficácia variável em condições de campo (BASU *et al.*, 2021; FERRAREZI *et al.*, 2022; VRIES *et al.*, 2020). Esse fenômeno pode ser atribuído às pressões ambientais e seletivas na rizosfera, além de fatores edáficos e do próprio genótipo do hospedeiro (POPPELIERS; SÁNCHEZ-GIL; JONGE, 2023). Dessa forma, demanda-se resiliência nos estudos e pesquisas para promover um microbioma favorável ao desempenho das plantas,

garantindo benefícios persistentes e satisfatórios à produção agrícola em diferentes condições (O'CALLAGHAN; BALLARD; WRIGHT, 2022).

Nessa perspectiva, idealiza-se que os bioinoculantes sobrevivam no solo, apresentem compatibilidade com a cultura em foco e interajam com a microflora nativa na rizosfera e com fatores abióticos, sem comprometer suas atividades de importância ecológica para as plantas (BASU *et al.*, 2021).

O desdobramento de L dentro de cada nível de H mostrou influência significativa da lâmina de água aplicada no teor de N, Ca e Cu (Figura 4). A mudança observada no padrão de absorção de nutrientes, à medida que a disponibilidade de água é limitada pelo gradiente de irrigação, pode comprometer tanto o crescimento, quanto a produtividade das plantas.

Os tratamentos H1, H1+Az, H2+Az e H2+Az+Bc apresentaram comportamento quadrático para o teor de N, com aumento desse elemento até uma lâmina de 543,67; 629,29; 514,43 e 579,58 mm, o que representou, respectivamente, teores de 17,55; 18,11; 19,04 e 19,48 g kg⁻¹. Os tratamentos H1+Az+Bc, H2 e H2+Bc apresentaram efeito linear crescente, enquanto a análise de regressão para tratamento H1+Bc não foi significativa (Figura 4A).

O teor de Ca aumentou até uma lâmina de 327,46 mm para o tratamento H1, representando 2,77 g kg⁻¹ desse elemento. Já os tratamentos H1+Az, H1+Bc e H2+Bc apresentaram comportamento linear decrescente. Para os demais tratamentos, a análise de regressão foi não significativa (Figura 4B).

Já o teor de Cu apresentou comportamento quadrático para os oito tratamentos. O mesmo aumentou até uma lâmina de 489,94; 522,14; 629,76; 529,34; 578,83; 489,81; 554,01 e 545,26 mm, o que representou, respectivamente, teores de 3,26; 3,36; 2,98; 3,31; 3,31; 3,27; 3,17 e 3,28 mg kg⁻¹ (Figura 4C).

Segundo Branquinho, Rolim e Teixeira (2021), a intensidade do estresse, a cultura em questão, a adoção de estratégias aprimoradas e as adaptações das plantas para conviver com ele podem influenciar diretamente os aumentos ou reduções das necessidades líquidas de irrigação. Nesse contexto, o sistema de irrigação *line-source* mostrou-se eficiente para elucidar os efeitos do gradiente de irrigação na absorção de nutrientes pelo milho.

Uma das principais causas do impacto na absorção e translocação de nutrientes das raízes para as demais partes da planta, com o aumento da restrição hídrica, é o comprometimento no transporte de elementos via fluxo de massa, o que afeta todos os seus processos fisiológicos e metabólicos (BHATTACHARYA *et al.*, 2021).

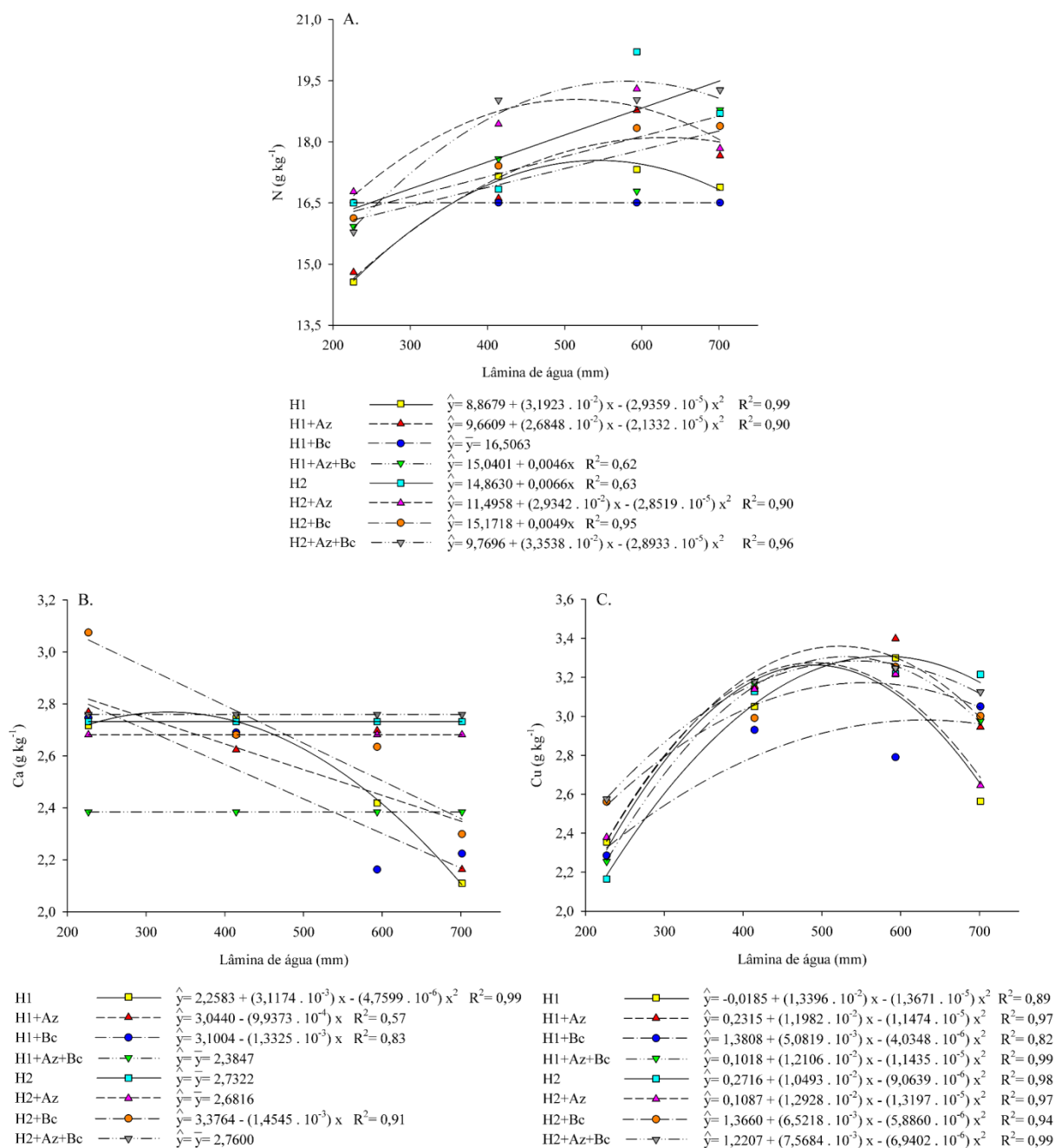


Figura 4. A. Teor de nitrogênio (N); B. cálcio (Ca); C. cobre (Cu) em híbridos de milho associados à rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica e adubação nitrogenada em cobertura.

Para além de modificar as características do solo e dificultar a mobilidade e o acesso aos nutrientes, o déficit hídrico desencadeia alterações morfofisiológicas nas plantas, reduzindo o potencial osmótico, a fotossíntese e o equilíbrio hormonal, além de aumentar o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (BALBAA *et al.*, 2022; VRIES *et al.*, 2020). Esses fatores, combinados, tendem a limitar o desempenho das culturas. Portanto, visando à manutenção da produtividade das lavouras de forma eficiente e sustentável, o planejamento de longo prazo dos

sistemas agrícolas deve incluir medidas aprimoradas de mitigação e adaptação às mudanças climáticas (SOARES; PAÇO; ROLIM, 2023).

Conforme apresentado neste trabalho, a adoção de estratégias nutricionais, a seleção de materiais genéticos e o uso de microrganismos despontam como alternativas promissoras para atenuar as limitações hídricas e promover a racionalização do uso da água. No entanto, são indispensáveis estudos mais detalhados que avaliem e quantifiquem as contribuições de cada uma dessas estratégias, tanto de forma isolada quanto em suas interações, no aprimoramento da absorção de nutrientes e na tolerância à seca em híbridos de milho.

Ao analisar o desdobramento de H dentro de cada nível de A, constatou-se maior teor de Cu para o grupo de tratamentos H1+Az, H2+Bc e H2+Az+Bc em relação aos demais, quando se realizou adubação nitrogenada em cobertura. Já na ausência dessa adubação, não foram constatadas diferenças estatísticas entre os tratamentos (Tabela 3).

O desdobramento de A dentro de cada nível de H permitiu verificar que o teor Cu foi maior nos tratamentos H1+Az, H1+Bc, H2+Az, H2+Bc e H2+Az+Bc quando realizada adubação nitrogenada em cobertura. Para os demais tratamentos, a realização da adubação nitrogenada em cobertura não surtiu efeito (Tabela 3).

Tabela 3. Teor de Cu (mg/kg) em híbridos de milho associados à rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica e adubação nitrogenada em cobertura (A).

		Associações							
		H1	H1+Az	H1+Bc	H1+Az+Bc	H2	H2+Az	H2+Bc	H2+Az+Bc
Cu	com	2,81Ba	3,19Aa	2,95Ba	2,95Ba	2,89Ba	2,97Ba	3,15Aa	3,22Aa
	sem	2,83Aa	2,75Ab	2,58Ab	2,87Aa	2,97Aa	2,72Ab	2,75Ab	2,85Ab

Médias seguidas por mesma letra maiúscula na linha (associações) não diferem entre si pelo agrupamento de Scott-Knott ($p < 0,05$). Médias seguidas por mesma letra minúscula na coluna (adubação) não diferem entre si pelo teste F ($p < 0,05$).

Esses resultados sugerem que, o N pode ter atuado como mediador chave nas interações planta-microrganismos, promovendo relacionamentos simbióticos que aumentam a disponibilidade de nutrientes e a tolerância a estresses abióticos (ZAYED *et al.*, 2023). Esse efeito pode ser atribuído, por exemplo, à produção de sideróforos quelantes, que formam complexos estáveis com íons metálicos essenciais, elevando sua solubilidade e biodisponibilidade para absorção pelas plantas (NAZ *et al.*, 2024).

Galindo *et al.* (2022), ao estudarem os efeitos da aplicação de N integrada à inoculação de sementes de milho com *Azospirillum brasilense* no cerrado brasileiro, relatam que essa prática pode aumentar o lucro operacional da lavoura em até 11%. Portanto, que, mesmo na presença de diferentes níveis de aplicação de N, a inoculação com *A. brasilense* pode ser uma

tecnologia importante para melhorar o manejo nutricional (planta-solo), o que pode promover uma produção de milho mais sustentável em condições deficitárias.

Estudando o desdobramento de L dentro de cada nível de A, foi possível identificar os efeitos das lâminas de água sobre os teores de N, P, K, S, Cu e Zn. Quando realizada a adubação nitrogenada em cobertura, o teor de N atingiu um máximo de $20,70 \text{ g kg}^{-1}$, com uma lâmina de 608,12 mm. Já na ausência dessa adubação, a análise de variância foi não significativa (Figura 5A).

O teor de P, quando realizada a adubação nitrogenada em cobertura, atingiu uma máxima de $1,88 \text{ g kg}^{-1}$, com uma lâmina de 623,13 mm, enquanto na ausência da adubação nitrogenada em cobertura foi de $1,62 \text{ g kg}^{-1}$, com uma lâmina de 557,72 mm (Figura 5B).

O teor de K, quando realizada a adubação nitrogenada em cobertura, atingiu uma máxima de $11,64 \text{ g kg}^{-1}$, com uma lâmina de 600,46 mm. Já na ausência dessa adubação, a análise de variância foi não significativa (Figura 5C).

O teor de S, quando realizada a adubação nitrogenada em cobertura, atingiu uma máxima de $0,98 \text{ g kg}^{-1}$, com uma lâmina de 567,53 mm. Já na ausência dessa adubação, a análise de variância foi não significativa (Figura 5D).

O teor de Cu, quando realizada a adubação nitrogenada em cobertura, atingiu uma máxima de $3,42 \text{ mg kg}^{-1}$, com uma lâmina de 527,84 mm, enquanto na ausência da adubação nitrogenada em cobertura foi de $3,04 \text{ mg kg}^{-1}$, com uma lâmina de 530,66 mm (Figura 5E).

O teor de Zn, quando realizada a adubação nitrogenada em cobertura, atingiu uma máxima de $20,45 \text{ mg kg}^{-1}$, com uma lâmina de 516,89 mm, enquanto na ausência da adubação nitrogenada em cobertura foi de $15,82 \text{ mg kg}^{-1}$, em uma lâmina de 633,05 mm (Figura 5F).

Esses resultados podem indicar uma influência da adubação nitrogenada em cobertura na absorção de nutrientes e otimização dos recursos hídricos disponíveis às plantas em condições deficitárias. Visto que, as plantas que receberam adubação nitrogenada em cobertura alcançaram melhores teores de nutrientes (Figura 5).

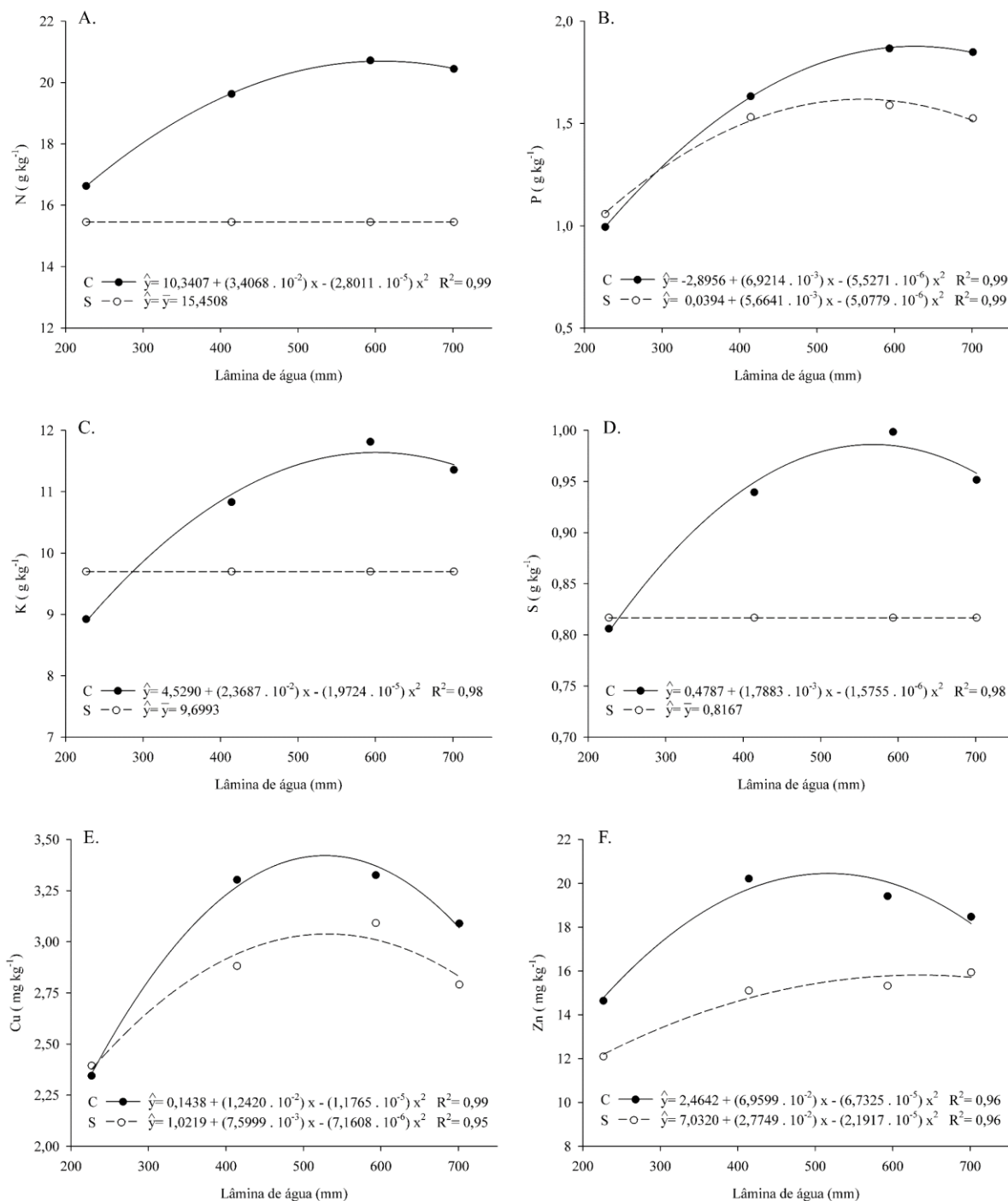


Figura 3. A. Teor de nitrogênio (N); B. fósforo (P); C. potássio (K); D. enxofre (S); E. cobre (Cu); F. zinco (Zn) em híbridos de milho associados à rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica e adubação nitrogenada em cobertura. ● = com adubação nitrogenada em cobertura; ○ = sem adubação nitrogenada em cobertura.

Segundo Araus *et al.* (2020), a relação entre a disponibilidade de água e a fertilização nitrogenada constitui uma rede complexa de interações regulatórias que impacta quase todos os processos fisiológicos das plantas, conferindo ao metabolismo do N um papel central durante o estresse hídrico. Isso pois, para sobreviver à seca e manter o crescimento, as plantas adotam

estratégias adaptativas que otimizam a absorção e o transporte de nutrientes, regulam os processos fotossintéticos e promovem a síntese de solutos e proteínas que contêm compostos de N, como aminoácidos, amidas e betaínas (RAFIQUE *et al.*, 2021).

Além disso, como o N é requerido em quantidades proporcionalmente maiores pelas plantas, sua absorção pode influenciar a captação de outros íons devido ao mecanismo de equilíbrio cátion-ânion, impactando na biodisponibilidade de elementos essenciais e na tolerância das plantas a estresses (YE; TIAN; JIN, 2022). Assim, os resultados obtidos permitem refletir sobre as respostas das plantas à restrição hídrica e absorção de nutrientes, moduladas pela adubação nitrogenada.

Ao realizar o desdobramento de A dentro de cada nível de L, verificou-se que a adubação nitrogenada em cobertura influenciou diretamente na absorção de N, P, K, S, Cu e Zn. Como esperado, foi evidenciado um maior teor de N nas plantas quando realizada essa adubação, nas diferentes lâminas de água. Semelhantemente, o mesmo ocorreu para o Zn. Ademais, os teores de P nas lâminas L1 e L2 e de K, S e Cu nas lâminas L1, L2 e L3 foram maiores quando realizada adubação nitrogenada em cobertura (Tabela 4).

Tabela 4. Teor dos macronutrientes N, P, K e S (g/kg) e micronutrientes Cu e Zn (mg/kg) em híbridos de milho associados à rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica (L) e adubação nitrogenada em cobertura (A).

	A	Níveis de restrição hídrica			
		L1	L2	L3	L4
N	com	20,44a	20,72a	19,63a	16,63a
	sem	15,88b	15,81b	15,14b	14,97b
P	com	1,85a	1,87a	1,63a	0,99a
	sem	1,53b	1,59b	1,53a	1,06a
K	com	11,36a	11,81a	10,83a	8,92a
	sem	9,46b	10,46b	9,52b	9,36a
S	com	0,95a	1,00a	0,94a	0,81a
	sem	0,82b	0,86b	0,81b	0,78a
Cu	com	3,09a	3,33a	3,30a	2,34a
	sem	2,79b	3,09b	2,88b	2,39a
Zn	com	18,47a	19,42a	20,21a	14,64a
	sem	15,93b	15,32b	15,10b	12,10b

Médias seguidas por mesma letra minúscula na coluna (adubação) não diferem entre si pelo teste F ($p < 0,05$).

Isso demonstra que a adubação nitrogenada em cobertura pode criar um equilíbrio nutricional mesmo sob disponibilidade flutuante de água. Dessa forma, pode contribuir diretamente para o desenvolvimento e desempenho produtivo das plantas em condições de restrição hídrica, uma vez que influencia nos processos biológicos, bem como no funcionamento dos mecanismos de defesa das mesmas (BHATTACHARYA *et al.*, 2021).

Essas evidências fortalecem a recomendação da adubação nitrogenada em cobertura como uma estratégia promissora para otimizar a absorção de nutrientes e, consequentemente, a tolerância das plantas ao déficit hídrico.

As informações geradas neste estudo podem contribuir significativamente para enfrentar os desafios produtivos e promover a sustentabilidade e segurança alimentar em um cenário de crescentes desafios climáticos. Contudo, devido à complexidade e ao caráter multifatorial das relações envolvidas, ressalta-se que o sucesso dessas práticas pode demandar tempo e estudos mais abrangentes para que seus benefícios sejam plenamente compreendidos e manifestados.

Nesse contexto, torna-se indispensável a integração da ecologia vegetal, do microbioma, da biologia molecular e dos progressos genéticos, com o objetivo de tornar a produção agrícola mais resiliente às condições climáticas adversas (FRENCH *et al.*, 2021; VRIES *et al.*, 2020). Além disso, são necessários estudos evolutivos e de sobrevivência a longo prazo, em condições de campo, para alcançar uma compreensão mecanicista dos processos pelos quais as rizobactérias promotoras de crescimento influenciam o fenótipo das plantas e a absorção de nutrientes, especialmente durante períodos de seca e na recuperação subsequente.

CONCLUSÕES

Os diferentes níveis de restrição hídrica no sistema *line-source* e a adubação nitrogenada em cobertura influenciam a dinâmica de absorção de nutrientes pelo milho associado a rizobactérias promotoras de crescimento.

A adubação nitrogenada em cobertura aumenta os teores de N, P, K, S, Cu e Zn sob diferentes lâminas de água, otimizando a absorção de nutrientes em condições de restrição hídrica.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – Código de Financiamento 001; à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG); ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsas e à Embrapa Milho e Sorgo pelo apoio técnico e científico.

REFERÊNCIAS

AGUNBIADE, V. F. *et al.* Isolation and Characterization of Plant-Growth-Promoting, Drought-Tolerant Rhizobacteria for Improved Maize Productivity. **Plants**, v. 13, n. 10, p. 1-27, 2024.

ALBUQUERQUE, P. E. P.; ANDRADE, C. L. T. **Planilha eletrônica para a programação da irrigação de culturas anuais**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2001. 14 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular técnica, 10).

ALLEN, R. G. *et al.* **Crop evapotranspiration: guidelines for computing crop water requirements**. Rome: FAO, 1998. 300p. (FAO. Irrigation and drainage paper, 56).

ALVARES, C. A. *et al.* Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711-728, 2013.

ANDRADE, L. A. *et al.* Plant growth-promoting rhizobacteria for sustainable agricultural production. **Microorganisms**, v. 11, n. 4, p. 1-16, 2023.

ARAUS, V. *et al.* A balancing act: how plants integrate nitrogen and water signals. **Journal of Experimental Botany**, v. 71, n. 15, p. 4442-4451, 2020.

BALBAA, M. G. *et al.* Determination of morpho-physiological and yield traits of maize inbred lines (*Zea mays* L.) under optimal and drought stress conditions. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 1-17, 2022.

BASU, A. *et al.* Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as green bioinoculants: recent developments, constraints, and prospects. **Sustainability**, v. 13, n. 3, p. 1-20, 2021.

BHAT, M. A. *et al.* Plant growth promoting rhizobacteria in plant health: a perspective study of the underground interaction. **Plants**, v. 12, n. 3, p. 1-21, 2023.

BHATTACHARYA, A. Mineral Nutrition of Plants Under Soil Water Deficit Condition: A Review. In: BHATTACHARYA, A. (Ed.). **Soil Water Deficit and Physiological Issues in Plants**. Singapore: Springer, 2021. cap. 4, p. 287-391.

BRANQUINHO, S.; ROLIM, J.; TEIXEIRA, J. L. Climate change adaptation measures in the irrigation of a super-intensive olive orchard in the south of Portugal. **Agronomy**, v. 11, n. 8, p. 1-16, 2021.

DIAS, A. C. *et al.* Inoculation effects of growthpromoting bacteria on corn root architecture: influence of nitrogen levels, bacterial populations, and plant genotypes. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 47, p. 1-15, 2023.

ELSHAMLY, A. M. S.; NASSAR, S. M. A. The impacts of applying cobalt and chitosan with various water irrigation schemes at different growth stages of corn on macronutrient uptake, yield, and water use efficiency. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 23, n. 2, p. 2770-2785, 2023.

FERRAREZI, J. A. *et al.* Effects of inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria from the Brazilian Amazon on the bacterial community associated with maize in field. **Applied Soil Ecology**, v. 170, p. 1-14, 2022.

FRENCH, E. *et al.* Emerging strategies for precision microbiome management in diverse agroecosystems. **Nature plants**, v. 7, n. 3, p. 256-267, 2021.

FRIENDLY, M.; FOX, J. **Candisc**: visualizing generalized canonical discriminant and canonical correlation analysis (Version R package version 0.6-5). 2017.

GALINDO, F. S. *et al.* Enhancing agronomic efficiency and maize grain yield with *Azospirillum brasilense* inoculation under Brazilian savannah conditions. **European Journal of Agronomy**, v. 134, p. 126471, 2022.

GALVÃO, J.C.C.; BORÉM, A.; PIMENTEL, M.A. **Milho**: do plantio à colheita. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 2017. 382 p.

HANKS, R. J. *et al.* Line source sprinkler for continuous variable irrigation-crop production studies. **Soil Science Society of America Journal**, v.40, n.3, p.426-429, 1976.

HANKS, R.J. *et al.* Statistical analysis of results from irrigation experiments using the line-source sprinkler system. **Soil Science Society of America Journal**, v. 44, n. 4, p. 886-888, 1980.

LI, C. *et al.* Effect of irrigation and fertilization regimes on grain yield, water and nitrogen productivity of mulching cultivated maize (*Zea mays* L.) in the Hetao Irrigation District of China. **Agricultural Water Management**, v. 232, p. 1-12, 2020.

NAZ, M. *et al.* Microbial-assistance and chelation-support techniques promoting phytoremediation under abiotic stresses. **Chemosphere**, v. 365, p. 143397, 2024.

OLIVEIRA, I. C. M. *et al.* Technical feasibility of using suboptimal irrigation in maize cropping. **Crop and Pasture Science**, v. 72, n. 5, p. 348-360, 2021.

PEREIRA, S. I. A. *et al.* Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) improve the growth and nutrient use efficiency in maize (*Zea mays* L.) under water deficit conditions. **Heliyon**, v. 6, n. 10, p. 1-9, 2020.

POPPELIERS, S. W. M.; SÁNCHEZ-GIL, J. J.; JONGE, R. Microbes to support plant health: understanding bioinoculant success in complex conditions. **Current opinion in microbiology**, v. 73, p. 1-10, 2023.

R CORE TEAM. **R**: a language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2018.

RAFIQUE, S. Drought Responses on Physiological Attributes of *Zea mays* in Relation to Nitrogen and Source-Sink Relationships. *In*: FAHAD, S.; SAUD, S.; CHEN, Y.; WU, C.; WANG, D. (Eds). **Abiotic Stress in Plants**. London: IntechOpen, 2021. cap. 21, p.445-466.

RIBEIRO, V. P. *et al.* Co-inoculation with tropical strains of *Azospirillum* and *Bacillus* is more efficient than single inoculation for improving plant growth and nutrient uptake in maize. **Archives of Microbiology**, v. 204, n. 2, p. 1-16, 2022.

SILVA, F. C. **Manual de Análises Químicas de Solos, Plantas e Fertilizantes**. 2 ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. 627 p.

SOARES, D.; PAÇO, T. A.; ROLIM, J. Assessing climate change impacts on irrigation water requirements under Mediterranean conditions – A review of the methodological approaches focusing on maize crop. **Agronomy**, v. 13, n. 1, p. 1-16, 2023.

TIAN, X. *et al.* Will reaching the maximum achievable yield potential meet future global food demand? **Journal of Cleaner Production**, v. 294, p. 1-12, 2021.

VENNAM, R. R. *et al.* Developing functional relationships between soil moisture content and corn early-season physiology, growth, and development. **Plants**, v. 12, n. 13, p. 1-14, 2023.

VRIES, F. T. *et al.* Harnessing rhizosphere microbiomes for drought-resilient crop production. **Science**, v. 368, n. 6488, p. 270-274, 2020.

YE, J. Y.; TIAN, W. H.; JIN, C. W. Nitrogen in plants: From nutrition to the modulation of abiotic stress adaptation. **Stress Biology**, v. 2, n. 1, p. 1-14, 2022.

ZAYED, O. *et al.* Nitrogen journey in plants: From uptake to metabolism, stress response, and microbe interaction. **Biomolecules**, v. 13, n. 10, p. 1-32, 2023.

CAPÍTULO - III

ARQUITETURA RADICULAR DE HÍBRIDOS DE MILHO BIOINOCULADOS

Tese redigida em formato de artigo científico, conforme as normas de publicação da Revista Caatinga.

ARQUITETURA RADICULAR DE HÍBRIDOS DE MILHO BIOINOCULADOS

RESUMO - Objetivou-se com este trabalho avaliar a arquitetura radicular e suas correlações com o diâmetro do colmo de híbridos de milho associados a rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica e adubação nitrogenada em cobertura, no sistema *line-source*. O experimento foi conduzido no esquema de parcelas subsubdivididas, com a associação dos híbridos e rizobactérias nas parcelas, gradiente de irrigação nas subparcelas e adubação nitrogenada em cobertura na subsubparcela, com quatro repetições. Os dados foram submetidos a análise de variância ($p < 0,05$). Quando significativos, os efeitos das associações foram estudados pelo agrupamento de Scott-knott ($p < 0,05$), os efeitos do gradiente de irrigação pela análise de regressão e os da adubação nitrogenada em cobertura pelo teste “F” ($p < 0,05$). Além disso, aplicou-se a análise de correlação de Pearson para investigar a relação entre os componentes da arquitetura radicular e o diâmetro do caule. De maneira geral, observou-se que o uso de bioinoculantes, bem como os diferentes níveis de restrição hídrica e adubação nitrogenada em cobertura alteraram a dinâmica de desenvolvimento do sistema radicular do milho. Os diferentes níveis de restrição hídrica no sistema *line-source* e a adubação nitrogenada em cobertura influenciam na arquitetura radicular de híbridos de milho associados a rizobactérias promotoras de crescimento. As diferentes associações entre híbridos e rizobactérias promotoras de crescimento resultam em uma arquitetura diferencial do sistema radicular do milho à medida que a restrição hídrica aumenta. O número, o comprimento e o diâmetro das raízes de híbridos de milho associados a rizobactérias promotoras de crescimento apresentam correlações significativas e positivas com o diâmetro do colmo.

Palavras-chave: *Zea mays* L. Microrganismos benéficos. Rizosfera. Regime hídrico.

ROOT ARCHITECTURE OF BIOINOCULATED MAIZE HYBRIDS

ABSTRACT - The objective of this work was to evaluate the root architecture and its correlations with the stem diameter of maize hybrids associated with growth-promoting rhizobacteria under different levels of water restriction and top dressing nitrogen fertilization in the line-source system. The experiment was conducted in a sub-subdivided plot design, with associations of contrasting hybrids and growth-promoting rhizobacteria in the plots, irrigation gradient in the subplots, and top dressing nitrogen fertilization in the subsubplots, with four replications. The data were subjected to analysis of variance ($p < 0.05$). When significant, the effects of associations were studied by Scott-knott grouping ($p < 0.05$), the effects related to irrigation gradient by regression analysis, and the effects of top dressing nitrogen fertilization by the “F” test ($p < 0.05$). In addition, Pearson’s correlation analysis was applied to investigate the relationship between root architecture components and stem diameter. In general, it was observed that the use of bioinoculants, as well as different levels of water restriction and nitrogen fertilization in top dressing, altered the dynamics of development of the maize root system. The different levels of water restriction in the line-source system and nitrogen top dressing fertilization influence the root architecture of maize hybrids associated with growth-promoting rhizobacteria. The different combinations of hybrids and growth-promoting rhizobacteria result in a differential architecture of the maize root system as water restriction increases. The number, length and diameter of roots of maize hybrids associated with growth-promoting rhizobacteria show significant and positive correlations with stalk diameter.

Keywords: *Zea mays* L. Beneficial microorganisms. Rhizosphere. Water regime.

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a produção agrícola tem sido significativamente afetada pela limitação de recursos hídricos, agravada pelas mudanças climáticas em curso (NGUYEN; THOMPSON; COSTELLO, 2023; TOMASELLA *et al.*, 2023). Sob tais circunstâncias, a capacidade das espécies cultivadas de tolerar o estresse hídrico é fundamental para garantir seu crescimento e sobrevivência (SATO *et al.*, 2024; SELEIMAN *et al.*, 2021).

Ao detectarem restrições hídricas, as raízes das culturas transmitem sinais de estresse para outras partes da planta, promovendo modificações no crescimento, além de ajustes fisiológicos e metabólicos, como parte do processo de adaptação ao déficit hídrico (KANG; PENG; XU, 2022). Assim, o sistema radicular assume um papel essencial no desenvolvimento das culturas sob condições de seca.

Visando potencializar essas adaptações, o uso de microrganismos benéficos emerge como uma técnica promissora para estimular o crescimento radicular, regular a absorção de água e nutrientes e, conseqüentemente, aumentar a tolerância das plantas à seca (BOUREMANI *et al.*, 2023; KHAN *et al.*, 2021). Esse processo ocorre por meio de associações simbióticas, nas quais os microrganismos, através de sua atividade metabólica e diversidade funcional, promovem a fixação de nitrogênio, a solubilização de fosfatos e a produção de fitormônios e sideróforos, contribuindo para o desempenho superior das plantas frente a estresses abióticos e bióticos (ANDRADE *et al.*, 2023; VANDANA *et al.*, 2021).

Todavia, é fundamental superar a tendência histórica de investigar seus benefícios nas partes aéreas das plantas, motivada pela maior facilidade de amostragem e observação (GROVER *et al.*, 2021). Redirecionar o foco para o sistema radicular pode abrir novas perspectivas para enfrentar processos ecológicos complexos e superar os desafios produtivos (KHOSO *et al.*, 2024). Para tanto, devido às interações multifatoriais envolvidas, é necessário adotar abordagens experimentais robustas que permitam a elucidação e quantificação das adaptações envolvidas (O'CALLAGHAN; BALLARD; WRIGHT, 2022).

Nesse contexto, o sistema de irrigação *line-source* apresenta-se como uma alternativa interessante para explorar e quantificar respostas a diferentes fontes de variação perpendiculares a um gradiente de irrigação, em área experimental reduzida (HANKS *et al.*, 1980; OLIVEIRA *et al.*, 2021). Contudo, a aplicação desse sistema em estudos com a bioinoculação do milho, em diferentes níveis de adubação nitrogenada, ainda não foi explorada no contexto das respostas do sistema radicular à restrição hídrica.

Diante disso, objetivou-se com este trabalho avaliar a arquitetura radicular e suas correlações com o diâmetro do colmo de híbridos de milho associados a rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica e adubação nitrogenada em cobertura, no sistema *line-source*.

MATERIAL E MÉTODOS

Caracterização experimental

O experimento foi conduzido na Estação Experimental da Embrapa Milho e Sorgo, no município de Sete Lagoas, MG, Brasil. A área experimental está situada nas coordenadas geográficas: latitude 19° 27' 20" S, longitude 44° 10' 21" O e altitude de 725 m. O clima da região é subtropical, caracterizado por verões quentes e chuvosos e invernos secos, do tipo Cwa, segundo a classificação de Köppen (ALVARES *et al.*, 2013). A experimentação foi conduzida no período seco (abril a setembro) (Figura 1).

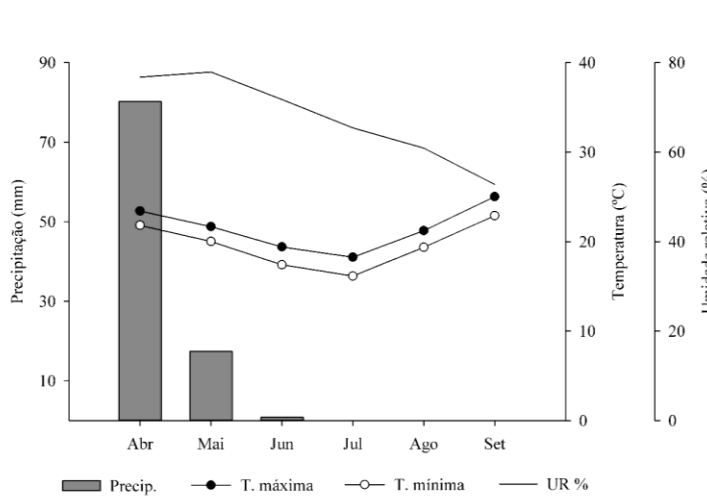


Figura 8. Distribuição mensal da precipitação, das temperaturas máxima e mínima (°C) e da umidade relativa do ar (%) durante o período experimental.

O solo da área experimental é classificado como Latossolo Vermelho Distrófico Argiloso, cujas principais características químicas na profundidade de 0-20 cm são: pH em água: 6,0; matéria orgânica: 3,22 dag kg⁻¹; SB: 6,04 cmol_c dm⁻³; H+Al: 4,09 cmol_c dm⁻³; CTC: 10,13 cmol_c dm⁻³; V%: 59%; m%: 0,82; P: 13,34 mg dm⁻³; K: 13,34 mg dm⁻³; Ca: 5,18 cmol_c dm⁻³; Mg: 0,83 cmol_c dm⁻³; Al: 0,05 cmol_c dm⁻³; Cu: 2,05 mg dm⁻³; Fe: 20,39 mg dm⁻³; Zn: 6,64 mg dm⁻³ e Mn: 5,54 mg dm⁻³.

Delineamento experimental e tratamentos

O experimento foi conduzido no esquema de parcelas subsubdivididas, com quatro repetições. As parcelas corresponderam a associações de híbridos contrastantes e rizobactérias promotoras de crescimento. As subparcelas corresponderam ao gradiente de irrigação, seguindo a conformação experimental de irrigação por aspersão em linha ou *line-source* (HANKS *et al.*, 1976; HANKS *et al.*, 1980). Já a subsubparcela, correspondeu a condição de adubação, em que, um lado do experimento recebeu adubação nitrogenada no plantio e em cobertura e o outro lado apenas a de plantio (Figura 2).

As parcelas experimentais foram compostas por quatro fileiras com 4,25 m de comprimento, espaçadas de 0,7 m entre si, perfazendo uma área total de 11,9 m². Para avaliação do experimento, foram consideradas as duas linhas centrais de cada parcela experimental, perfazendo uma área útil de 5,95 m².

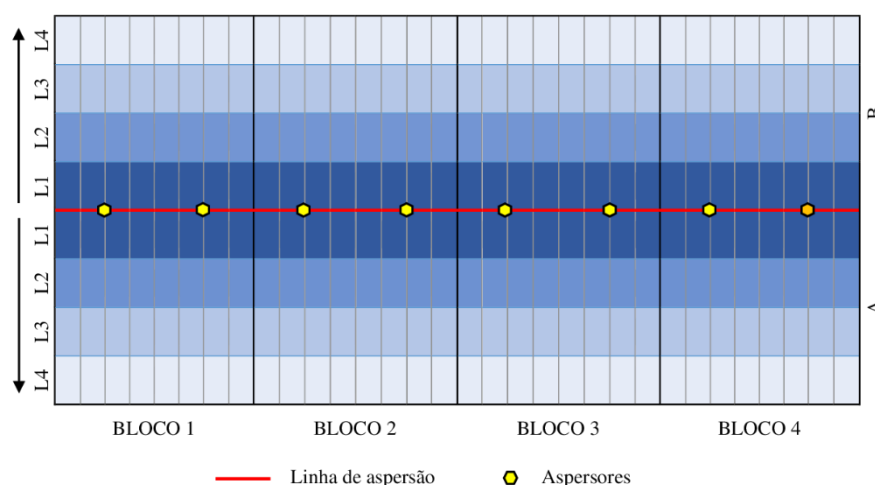


Figura 9. Desenho experimental: Gradiente de irrigação (L1; L2; L3 e L4); A = Com adubação nitrogenada em cobertura; B = Sem adubação nitrogenada em cobertura.

Dois híbridos contrastantes quanto à tolerância ao déficit hídrico compuseram as associações com os bioinoculantes: DKB 390 PRO 3 (tolerante [H1]) e P30F53 VYHR (sensível [H2]), inoculados com *Azospirillum brasilense* (Az), *Bacillus* spp. (Bc), ou coinoculados com ambos (Az + Bc). Os inoculantes utilizados são pertencentes à Coleção de Microrganismos Multifuncionais e Fitopatogênicos (CMMF) da Embrapa Milho e Sorgo, sendo obtidos a partir da mistura de duas estirpes homólogas de *Azospirillum brasilense* (E11 e E26), de estirpes de *Bacillus* spp. (*Bacillus safensis* – PSI06 e *Bacillus pumilus* – PSI02) e da mistura das estirpes de *Azospirillum brasilense* com *Bacillus* spp., todos na proporção 1:1.

As associações de híbridos contrastantes quanto à tolerância ao déficit hídrico e rizobactérias promotoras de crescimento foram codificadas em: H1= testemunha DKB 390 PRO 3; H1+Az= DKB 390 PRO 3 inoculado com *A. brasilense*; H1+Bc= DKB 390 PRO 3 inoculado com *Bacillus* spp.; H1 + Az + Bc= DKB 390 PRO 3 coinoculado com *A. brasilense* e *Bacillus* spp.; H2= testemunha P30F53 VYHR; H2+Az= P30F53 VYHR inoculado com *A. brasilense*; H2+Bc= P30F53 VYHR inoculado com *Bacillus* spp.; H2 + Az + Bc= P30F53 VYHR coinoculado com *A. brasilense* e *Bacillus* spp.

O gradiente de irrigação foi composto por quatro lâminas de água, em que L1 representa a lâmina com irrigação plena, enquanto de L2 a L4 a restrição hídrica aumentou gradativamente, totalizando, ao final do ciclo, uma lâmina de água acumulada de 701,26 mm (L1), 593,49 mm (L2), 414,29 mm (L3) e 226,62 mm (L4).

Instalação e condução do experimento

Devido à necessidade de o plantio ser manual, o preparo do solo foi realizado no sistema semidireto, isto é, sem revolvimento do solo, com o sulco de plantio e a adubação feitos por meio de máquina. A formulação da adubação de plantio foi recomendada com base na análise química do solo e a necessidade da cultura, utilizando 400 kg ha⁻¹ da formulação 8-28-16 (NPK) mais 20 kg ha⁻¹ de FTE.

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

O plantio do milho foi realizado manualmente no sulco, com a colocação de duas sementes a cada 0,2 m. O desbaste do excesso de plantas foi efetuado quando estas apresentavam de três a quatro folhas totalmente expandidas, resultando em uma população final de 71.428 plantas ha⁻¹.

A adubação nitrogenada em cobertura foi realizada exclusivamente no lado A (Figura 1), com a aplicação de 118 kg ha⁻¹ de nitrogênio (N), de forma parcelada, utilizando ureia. O parcelamento ocorreu no estágio fenológico V6, quando as plantas apresentavam seis folhas totalmente expandidas, e no estágio fenológico V8, com as plantas apresentando oito folhas totalmente expandidas.

Os demais tratos culturais envolveram o controle de plantas daninhas, pragas e doenças, conforme a necessidade e recomendações para a cultura (GALVÃO *et al.*, 2017).

Utilizou-se o sistema de irrigação por aspersão, contendo aspersores Rain Bird modelo 14070, espaçados 9 x 18 m, sendo 9 metros longitudinalmente e 18 metros de alcance lateralmente, considerando o plantio transversal à linha central de irrigação. A área experimental foi irrigada empregando três linhas laterais até o estabelecimento da cultura. Quando as plantas estavam no estágio fenológico V6, foram removidas as linhas laterais de irrigação, deixando apenas a linha central, iniciando, assim, o sistema de irrigação *line-source* (HANKS *et al.*, 1976; HANKS *et al.*, 1980). Esse arranjo permitiu a distribuição de água em doses decrescentes, perpendiculares à linha de irrigação, criando um gradiente hídrico.

O manejo da irrigação foi feito com o auxílio de planilha eletrônica (ALBUQUERQUE; ANDRADE, 2001), utilizando o coeficiente de cultura adaptado de Allen *et al.* (1998). Para minimizar derivas e/ou distorções no padrão de aspersão, provocadas pelo vento, a irrigação foi realizada sempre no início da manhã.

A água aplicada foi quantificada após cada irrigação, utilizando coletores instalados no centro das parcelas experimentais, sempre posicionados acima do dossel da cultura, de forma a acompanhar o crescimento das plantas. As precipitações ocasionais ocorridas durante o período experimental também foram registradas por meio de uma estação climatológica próxima.

Características avaliadas

No sistema radicular, foram avaliados o ângulo das raízes da coroa (AR), o número de raízes da coroa (NR), o comprimento médio das raízes da coroa (CR) e o diâmetro médio das raízes da coroa (DR).

A fim de analisar possíveis associações entre os componentes radiculares e a parte aérea, incluiu-se a avaliação do diâmetro do colmo acima do primeiro nó (DC). Este foi determinado utilizando um paquímetro, e os resultados foram expressos em milímetros (mm).

Para a análise da arquitetura e morfologia do sistema radicular, o campo foi previamente irrigado para facilitar a amostragem. O solo ao redor das plantas foi cuidadosamente escavado, a 20 cm do colmo e a 20 cm de profundidade, assegurando a remoção das raízes envoltas em solo. O excesso de solo aderido às raízes foi delicadamente removido com água corrente de baixa pressão. As características da arquitetura radicular do milho foram avaliadas empregando o método “Shovelomics”, conforme descrito por Trachsel *et al.* (2011). Um transferidor feito de placa de acrílico foi posicionado próximo à base do colmo para medir o ângulo de inserção das raízes, também denominado ângulo de crescimento das raízes da coroa (AR).

O número de raízes da coroa (NR) foi determinado pela contagem total das raízes emergentes a partir da coroa. O comprimento médio das raízes da coroa (CR) foi determinado pela média do comprimento individual de cada raiz, medido com uma régua milimetrada, desde a base da coroa até sua extremidade, sendo os resultados expressos em centímetros (cm). O diâmetro médio das raízes da coroa (DR) foi determinado utilizando um paquímetro, com os resultados expressos em milímetros (mm).

Análises estatísticas

Para a análise dos dados, após confirmadas as pressuposições de normalidade e homoscedasticidade, as médias foram submetidas à análise de variância de parcelas subdivididas ($p < 0,05$). Quando significativos, os efeitos dos tratamentos, com associações de híbridos contrastantes e rizobactérias promotoras de crescimento, foram estudados pelo agrupamento de Scott-knott ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$). Os efeitos referentes ao gradiente de irrigação (L1 a L4) foram estudados pela análise de regressão e os efeitos da adubação nitrogenada em cobertura foram comparados pelo teste “F” a 5% de significância ($p < 0,05$). A escolha do modelo estatístico de regressão foi baseada na significância dos parâmetros.

Realizou-se, ainda, a correlação de Pearson (r) para avaliar as associações entre os componentes radiculares e o diâmetro do colmo.

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o Software R (R Core Team [R], 2018).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância revelou que não houve efeito significativo da interação entre híbridos de milho associados à rizobactérias promotoras de crescimento (H), lâmina de irrigação (L) e adubação nitrogenada em cobertura (A) para nenhuma das características avaliadas. O mesmo ocorreu para a interação entre L e A (Tabela 1). No entanto, foi detectada interação significativa entre H e L para o comprimento médio das raízes da coroa (CR) e entre H e A para o diâmetro do colmo acima do primeiro nó (DC). Além disso, observou-se efeito isolado dos híbridos bioinoculados (H) sobre o número de raízes da coroa (NR), do gradiente de irrigação (L) sobre o número de raízes da coroa (NR) e o diâmetro médio das raízes da coroa

(DR), e da adubação nitrogenada em cobertura (A) sobre o diâmetro médio das raízes da coroa (DR) (Tabela 1).

Tabela 3. Resumo da análise de variância de componentes radiculares de híbridos de milho associados à rizobactérias promotoras de crescimento (H), em diferentes níveis de restrição hídrica (L) e adubação nitrogenada em cobertura (A).

FV	GL	Quadrado médio				
		NR	AR	CR	DR	DC
Bloco	3	7,91 ^{ns}	423,96*	18,20 ^{ns}	0,29 ^{ns}	2,16 ^{ns}
Associações (H)	7	17,27*	46,43 ^{ns}	38,53 ^{ns}	1,98 ^{ns}	45,08**
Resíduo 1	21	4,93	108,48	16,07	0,94	8,56
Lâmina (L)	3	14,85**	13,54 ^{ns}	187,33**	1,81*	17,20**
H*L	21	2,64 ^{ns}	114,73 ^{ns}	20,16*	0,92 ^{ns}	4,27 ^{ns}
Resíduo 2	72	2,40	78,47	11,10	0,56	3,47
Adubação (A)	1	9,57 ^{ns}	6,25 ^{ns}	5,49 ^{ns}	8,17**	155,28**
H*A	7	4,46 ^{ns}	79,46 ^{ns}	13,57 ^{ns}	0,40 ^{ns}	14,77*
L*A	3	4,81 ^{ns}	113,54 ^{ns}	4,01 ^{ns}	0,67 ^{ns}	3,17 ^{ns}
H*L*A	21	3,24 ^{ns}	83,18 ^{ns}	14,18 ^{ns}	0,82 ^{ns}	4,78 ^{ns}
Resíduo 3	96	3,37	70,31	12,05	0,84	6,71
Média		12,10	32,19	13,52	3,87	18,33
CV1 %		18,36	32,26	29,65	25,14	15,95
CV2 %		12,80	27,52	24,64	19,40	10,16
CV3 %		15,18	26,05	25,67	23,66	14,13

Não significativo $p > 0,05$ (^{ns}); significativo a 1% $p < 0,01$ (**); significativo a 5% $p < 0,05$ (*) pelo teste F. FV = fonte de variação; GL = graus de liberdade; CV = coeficiente de variação. NR= número de raízes da coroa; AR= ângulo das raízes da coroa; CR= comprimento médio das raízes da coroa; DR= diâmetro médio das raízes da coroa; DC = diâmetro do colmo acima do primeiro nó.

Não foi observado efeito significativo das fontes de variação avaliadas sobre o ângulo das raízes da coroa (AR), cuja média foi de 32,19° (Tabela 1). Este ângulo está diretamente relacionado à capacidade das raízes de explorar o solo. Ângulos próximos a 10° restringem a exploração à camada superficial, enquanto ângulos mais próximos a 90° favorecem a exploração em profundidades maiores (TRACHSEL *et al.*, 2011). Assim, essa característica pode ser determinante na eficiência de absorção de água e nutrientes pelas plantas (KHOSO *et al.*, 2024). No entanto, a ausência de efeito significativo das fontes de variação sugere que esse ângulo pode ser uma característica relativamente estável para as condições avaliadas, ou que os fatores e níveis testados não exercem influência sobre essa variável.

Ao analisar o desdobramento de H dentro de cada nível de L, verificou-se que, na lâmina com maior disponibilidade hídrica (L1), não houve diferença estatística entre os tratamentos quanto ao comprimento médio das raízes da coroa (CR) (Tabela 2). À medida que a restrição hídrica foi aumentando, diferenças entre grupos de tratamentos tornaram-se evidentes.

Na lâmina 2 (L2), a testemunha com o híbrido P30F53 VYHR apresentou menor CR em comparação ao grupo formado pelos demais tratamentos. Na lâmina 3 (L3), o CR foi maior no grupo composto pelos tratamentos H1+Bc, H1+Az+Bc e H2+Az+Bc, em relação ao grupo com os demais tratamentos. Por fim, na lâmina com maior restrição hídrica (L4), o tratamento H1+Az+Bc destacou-se do grupo formado pelos demais tratamentos (Tabela 2).

Esses resultados indicam que os bioinoculantes contribuíram para um melhor crescimento radicular e que as combinações entre híbridos e rizobactérias promotoras de crescimento podem apresentar comportamentos distintos à medida que a restrição hídrica aumenta. Prova disso é que, até a lâmina 3 (L3), o híbrido P30F53 VYHR (sensível), coinoculado com Az + Bc (H2+Az+Bc), manteve-se no grupo de tratamentos com melhor crescimento radicular. Em condições de maior restrição hídrica (L4), apenas o híbrido DKB 390 PRO 3 também coinoculado com Az + Bc (H1+Az+Bc) conseguiu manter raízes mais longas na coroa em comparação aos demais tratamentos (Tabela 2). Portanto, sugere-se que esse condicionamento promove modificações na arquitetura do sistema radicular, podendo aumentar a biomassa da raiz e favorecer a mitigação do estresse (TERRA *et al.*, 2024).

Tabela 2. Comprimento médio das raízes da coroa (CR) de híbridos de milho associados à rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica (L) e adubação nitrogenada em cobertura.

L	Associações							
	H1	H1+Az	H1+Bc	H1+Az+Bc	H2	H2+Az	H2+Bc	H2+Az+Bc
CR	1	10,74A	13,00A	11,40A	10,63A	10,38A	12,06A	12,13A
	2	14,46A	14,85A	14,54A	13,81A	9,13B	13,44A	12,38A
	3	14,44B	13,46B	15,75A	17,50A	12,38B	14,69B	11,69B
	4	15,75B	15,73B	14,38B	18,88A	14,13B	12,44B	15,19B

Médias seguidas por mesma letra na linha (associações) não diferem entre si pelo agrupamento de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Considerando que a arquitetura das raízes exerce influência direta na absorção de água e nutrientes do solo, algumas associações com rizobactérias promotoras de crescimento podem ter contribuído para a modulação de mecanismos que favorecem a manutenção da funcionalidade do sistema radicular em condições adversas. Esses mecanismos incluem alterações nos níveis de fitormônios, ajustes metabólicos, defesas antioxidantes, produção de exopolissacarídeos, além de outras modificações morfoanatômicas, fisiológicas e bioquímicas (BOUREMANI *et al.*, 2023; KHAN *et al.*, 2021).

Corroborando com o presente trabalho, Ribeiro *et al.* (2022) argumentam que a coinoculação pode potencializar os mecanismos de promoção do crescimento das plantas, melhorar a disponibilidade de nutrientes e contribuir para a sustentabilidade dos sistemas

agrícolas. Nesse contexto, o consórcio microbiano de *Bacillus* spp. e *A. brasilense* emerge como uma estratégia promissora para o condicionamento do sistema radicular do milho, especialmente na superação de estresses.

A expectativa é que, com o avanço das pesquisas, eles possam atuar como alternativas complementares aos reguladores sintéticos de crescimento e fertilizantes químicos, contribuindo para uma agricultura mais sustentável e ambientalmente equilibrada (KHOSO *et al.*, 2024). No entanto, para que esse consórcio seja eficaz, é essencial que os microrganismos apresentem compatibilidade e sinergia, assegurando que as características benéficas de cada espécie microbiana, como a formação de biofilme e a colonização de raízes, não sejam prejudicadas por interações antagônica (TERRA *et al.*, 2024).

Além disso, informações sobre o comportamento e a sobrevivência populacional dos microrganismos após a inoculação devem ser exploradas com maior detalhamento, visando à ampla difusão e padronização dessa tecnologia, de modo a evitar variações na eficiência da inoculação em diferentes condições de campo (FERRAREZI *et al.*, 2022; TAKAHASHI *et al.*, 2024; ZAHREBELNEI *et al.*, 2025).

Isso pois, devido à sua variabilidade e dependência das condições ambientais, os microrganismos nem sempre conseguem colonizar a rizosfera de forma eficiente, dificultando que os agricultores alcancem, de forma consistente, os benefícios desejados (DÍAZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2025; KHAN *et al.*, 2021). No futuro, esses desafios poderão ser superados por meio de bioformulações baseadas em cepas xerotolerantes, suplementação com adjuvantes e/ou aumento da carga microbiana no sistema, o que melhoraria a eficiência do uso de microrganismos benéficos (ROMÃO *et al.*, 2022).

O desdobramento de L dentro de cada nível de H revelou influência significativa da lâmina de água aplicada no comprimento médio das raízes da coroa (CR) (Figura 3). Nos tratamentos H1, H1+Az+Bc, H2 e H2+Az + Bc, foi observado um efeito linear crescente, ou seja, o comprimento médio das raízes da coroa (CR) aumentou com o incremento na disponibilidade hídrica. As alterações observadas no CR, à medida que a disponibilidade de água foi limitada pelo gradiente de irrigação, podem comprometer a eficiência na absorção de água, nutrientes e sais minerais, além de impactar negativamente a produtividade das plantas em condições adversas. Para os demais tratamentos avaliados, a análise de regressão não foi significativa (Figura 3).

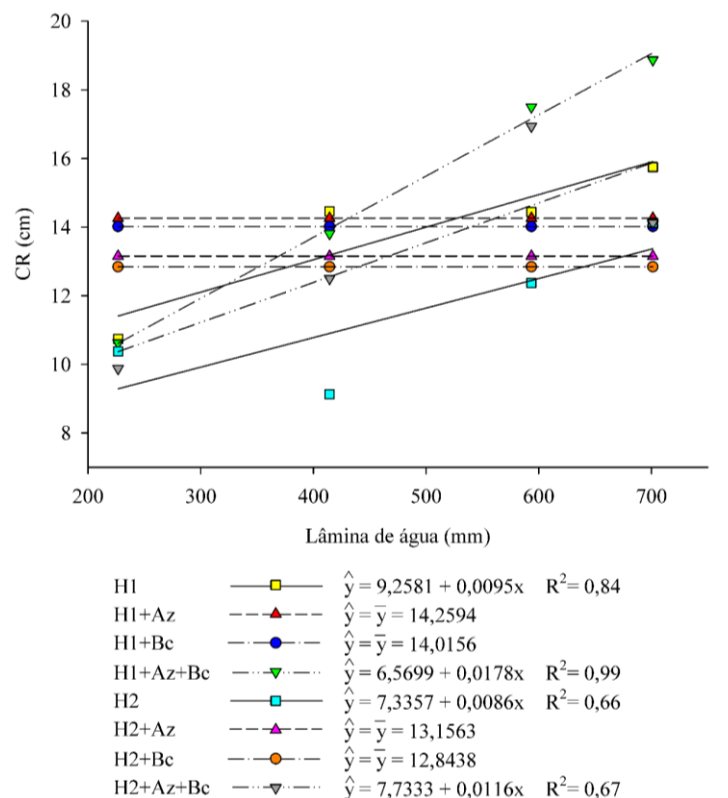


Figura 3. Comprimento médio das raízes da coroa de híbridos de milho associados à rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica e adubação nitrogenada em cobertura.

De acordo com Branquinho, Rolim e Teixeira (2021), a intensidade do estresse, a cultura envolvida, as estratégias utilizadas e as adaptações das plantas para lidar com o déficit hídrico têm um impacto direto nas flutuações das necessidades líquidas de irrigação. Nesse contexto, o sistema de irrigação *line-source* se mostrou eficaz na demonstração dos efeitos do gradiente de irrigação sobre o comprimento radicular do milho.

Essas informações são fundamentais para o racionamento dos recursos hídricos, com ênfase na mitigação dos impactos da restrição hídrica no desenvolvimento do sistema radicular. Elas podem, por exemplo, apoiar a criação de estratégias para regular a quantidade e o tempo de irrigação, de modo a otimizar a eficiência do uso da água e a produtividade do milho durante períodos de seca (ZOU *et al.*, 2021).

A análise de regressão revelou que o número de raízes da coroa (NR) apresentou uma tendência linear significativa em relação a lâmina de água, demonstrando que, à medida que a restrição hídrica se intensificou, o número de raízes diminuiu, e vice-versa (Figura 4). Esse padrão pode estar relacionado a uma estratégia adaptativa da planta, uma vez que, segundo Gao e Lynch (2016), genótipos de milho com menor número de raízes na coroa tendem a

desenvolver sistemas radiculares mais profundos, o que favorece a exploração e a absorção de água em estratos inferiores do solo, aumentando a tolerância à seca.

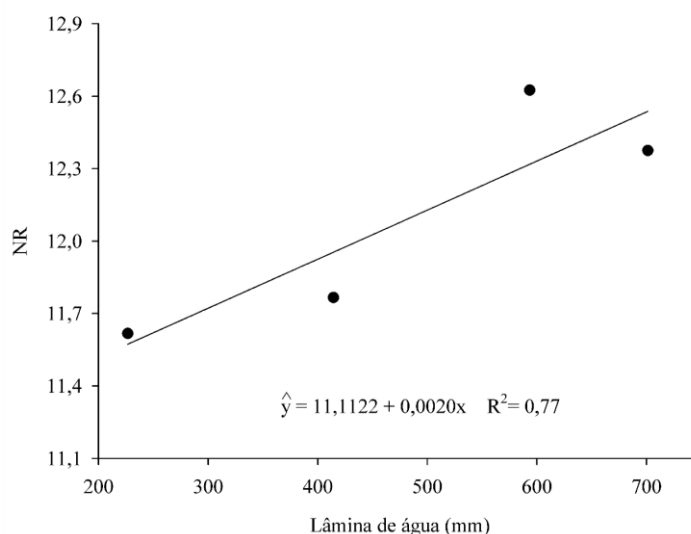


Figura 4. Número de raízes da coroa de híbridos de milho associados à rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica e adubação nitrogenada em cobertura.

Nesse sentido, a arquitetura radicular, isto é, a forma como o sistema radicular se organiza ao longo do tempo e do espaço, exerce papel fundamental na forma como as plantas acessam os recursos disponíveis no solo, funcionando como uma interface essencial entre as plantas e o ambiente edáfico (LYNCH, 2022).

A compreensão dessas informações destaca a importância da adoção de práticas agrícolas sustentáveis, essenciais para mitigar os impactos da restrição hídrica no sistema radicular, o que, por sua vez, influencia o desenvolvimento e a produtividade das plantas (KANG; PENG; XU, 2022). Além disso, ressalta a necessidade de uma gestão eficaz dos recursos hídricos disponíveis, a fim de assegurar a manutenção da produtividade em condições adversas (OLIVEIRA *et al.*, 2021).

Outrossim, a análise de regressão evidenciou ainda um efeito linear significativo para o diâmetro médio das raízes da coroa (DR) (Figura 5). Isso implica dizer que, com o aumento da restrição hídrica, o sistema radicular desenvolveu raízes de menor diâmetro.

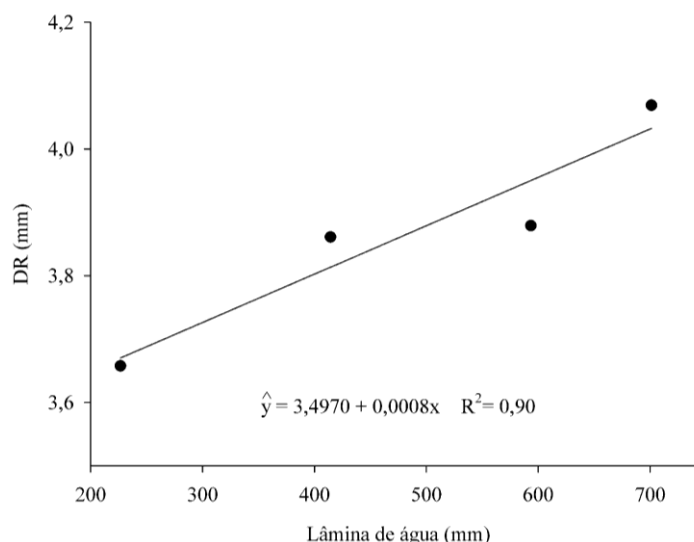


Figura 5. Diâmetro médio das raízes da coroa de híbridos de milho associados à rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica e adubação nitrogenada em cobertura.

Os impactos da restrição hídrica no sistema radicular do milho manifestaram-se em um menor número de raízes, raízes mais curtas e de menor diâmetro, o que pode comprometer sua capacidade de exploração do solo em condições de seca. Por isso, reforça-se a importância de redirecionar o foco das pesquisas não apenas para a parte aérea, mas também para o sistema radicular do milho, visando potencializar seu desenvolvimento e traduzir esses avanços em maior produtividade da cultura (GROVER *et al.*, 2021; KHOSO *et al.*, 2024).

Ao analisar o efeito isolado de H, observou-se que o grupo formado pelos tratamentos H1+Az, H1+Bc, H1+Az+Bc e H2 promoveu um maior número de raízes da coroa (NR). Além disso, o efeito isolado de A demonstrou que a adubação nitrogenada em cobertura favoreceu o sistema radicular, resultando em raízes com um diâmetro médio 8,9 % maior (Tabela 3). Isso denota a influência das associações e reforça a importância da adubação nitrogenada em cobertura no condicionamento e desenvolvimento do sistema radicular.

Tabela 3. Número de raízes da coroa (NR) e diâmetro médio das raízes da coroa (DR) de híbridos de milho associados à rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica e adubação nitrogenada em cobertura (A: com e sem).

	Associações							
	H1	H1+Az	H1+Bc	H1+Az+Bc	H2	H2+Az	H2+Bc	H2+Az+Bc
NR	11,97B	12,78A	12,59A	12,91A	12,59A	11,20B	11,00B	11,72B
DR	com				sem			
	4,05a				3,69b			

Médias seguidas por mesma letra maiúscula na linha (associações) não diferem entre si pelo agrupamento de Scott-Knott ($p < 0,05$). Médias seguidas por mesma letra minúscula na linha (adubação) não diferem entre si pelo teste F ($p < 0,05$).

O uso dessas estratégias para o adequado condicionamento do sistema radicular pode ser fundamental para a manutenção do crescimento das plantas em condições de déficit hídrico e, finalmente, do rendimento de grãos (KHOSO *et al.*, 2024; MARQUES *et al.*, 2023). Todavia, o sucesso dessa operação depende da capacidade dos microrganismos de colonizar as raízes das plantas, um processo complexo e variável, influenciado por sua competitividade na ocupação de um nicho ecológico na rizosfera, fator essencial para estabelecer uma interação positiva entre planta e rizobactérias (KHAN *et al.*, 2021).

Ao contrário dos insumos químicos de amplo espectro, os inoculantes microbianos podem ser seletivos e direcionados, o que leva a resultados inconsistentes (DÍAZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2025). Portanto, gerenciar a viabilidade efetiva dos inoculantes em condições de campo, considerando suas especificidades, constitui o desafio mais significativo. Esse cenário evidencia a necessidade de protocolos padronizados para garantir aplicações consistentes, bem como resultados confiáveis e replicáveis (ZULUAGA *et al.*, 2024).

A análise o desdobramento de H dentro de cada nível de A revelou que o grupo de tratamentos H1, H1+Az, H1+Bc, H1+Az+Bc, H2+Az e H2+Az+Bc apresentou maior diâmetro do colmo acima do primeiro nó (DC) quando a adubação nitrogenada em cobertura foi realizada. Por outro lado, na ausência dessa adubação, o grupo de tratamentos com o híbrido DKB 390 PRO 3 superou ao composto pelo híbrido P30F53 VYHR (Tabela 4).

Adicionalmente, o desdobramento de A dentro de cada nível de H indicou que, para os tratamentos H1+Az, H2+Az e H2+Az+Bc, o diâmetro do colmo acima do primeiro nó (DC) foi maior quando a adubação nitrogenada em cobertura foi realizada. Para os demais tratamentos, entretanto, essa prática não apresentou efeito estatisticamente significativo sobre o DC (Tabela 4).

Tabela 4. Diâmetro do colmo acima do primeiro nó (DC) de híbridos de milho associados à rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica e adubação nitrogenada em cobertura (A).

	A	Associações							
		H1	H1+Az	H1+Bc	H1+Az+Bc	H2	H2+Az	H2+Bc	H2+Az+Bc
DC	com	20,13Aa	20,55Aa	19,71Aa	19,34Aa	18,02Ba	18,84Aa	17,34Ba	18,99Aa
	sem	18,52Aa	18,69Ab	18,66Aa	19,84Aa	16,27Ba	15,17Bb	17,21Ba	16,09Bb

Médias seguidas por mesma letra maiúscula na linha (associações) não diferem entre si pelo agrupamento de Scott-Knott ($p < 0,05$). Médias seguidas por mesma letra minúscula na coluna (adubação) não diferem entre si pelo teste F ($p < 0,05$).

Os resultados evidenciaram que tanto a adubação nitrogenada em cobertura, quanto o material genético e suas interações com as rizobactérias podem desempenhar um papel

determinante na manutenção do crescimento das plantas. Tais informações são particularmente relevantes para o desenvolvimento de estratégias voltadas à mitigação dos efeitos do déficit hídrico e à superação de desafios produtivos em condições adversas (MARQUES *et al.*, 2023).

Como a avaliação direta do sistema radicular é, por vezes, laboriosa em condições de campo, foi realizada uma análise de correlação que revelou associações positivas e significativas entre o diâmetro do colmo acima do primeiro nó (DC) e os componentes radiculares número (NR), comprimento (CR) e diâmetro de raízes (DR) (Tabela 5). Esses resultados indicam que plantas com maior desenvolvimento radicular tendem a apresentar colmos mais espessos, o que sugere uma conexão funcional entre a arquitetura radicular e o vigor da parte aérea. Além disso, foi observada correlação significativa e positiva entre o comprimento e o diâmetro das raízes, reforçando a interdependência entre os componentes morfológicos do sistema radicular (Tabela 5).

Tabela 5. Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre os componentes radiculares e o diâmetro do colmo de híbridos de milho associados à rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica e adubação nitrogenada em cobertura.

	DC	NR	AR	CR	DR
DC	1	0,58**	-0,04	0,40**	0,47**
NR	-	1	-0,09	0,23	0,08
AR	-	-	1	-0,04	-0,01
CR	-	-	-	1	0,33**
DR	-	-	-	-	1

Significativo a 1% $p < 0,01$ (**); significativo a 5% $p < 0,05$ (*) pelo teste t.

Dessa forma, o DC pode servir como um indicador morfofisiológico indireto do desenvolvimento radicular, viabilizando inferências práticas e não destrutivas, especialmente úteis em avaliações de campo. Em condições de restrição hídrica, essa associação ganha relevância ainda maior, visto que o diâmetro do colmo pode refletir o vigor da planta e desenvolvimento do sistema radicular nessas condições. Conforme Kang, Peng e Xu (2022), um sistema radicular eficiente está diretamente relacionado ao crescimento e fortalecimento do colmo, influenciando positivamente o desenvolvimento geral da planta. Tais evidências reforçam o potencial promissor do DC como indicador em estudos voltados à tolerância à seca e à eficácia da bioinoculação.

A partir desses insights, considera-se essencial que estudos futuros adotem abordagens integradas para ampliar a compreensão dos mecanismos pelos quais rizobactérias promotoras de crescimento influenciam a adaptação das raízes à restrição hídrica. Tais abordagens devem conectar as respostas do sistema radicular à sobrevivência dos microrganismos e o quanto isso

influencia na promoção da tolerância das plantas à seca. Ademais, cabe investigar como a modulação dessas interações radiculares impacta os processos fisiológicos, morfológicos e bioquímicos, influenciando, por sua vez, a produtividade do milho. Adicionalmente, o diâmetro do colmo, por sua associação com características radiculares, pode constituir um parâmetro útil, prático e indireto, com potencial para subsidiar essas avaliações de forma não destrutiva e menos laboriosa, especialmente em condições de campo.

CONCLUSÕES

Os diferentes níveis de restrição hídrica no sistema *line-source* e a adubação nitrogenada em cobertura influenciam na arquitetura radicular de híbridos de milho associados a rizobactérias promotoras de crescimento.

As diferentes associações entre híbridos e rizobactérias promotoras de crescimento resultam em uma arquitetura diferencial do sistema radicular do milho à medida que a restrição hídrica aumenta.

O número, comprimento e diâmetro de raízes de híbridos de milho associados à rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica e adubação nitrogenada em cobertura, apresentam correlações significativas e positivas com o diâmetro do colmo acima do primeiro nó.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – Código de Financiamento 001; à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG); ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsas e à Embrapa Milho e Sorgo pelo apoio técnico e científico.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, P. E. P.; ANDRADE, C. L. T. **Planilha eletrônica para a programação da irrigação de culturas anuais**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2001. 14 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular técnica, 10).

ALLEN, R. G. *et al.* **Crop evapotranspiration**: guidelines for computing crop water requirements. Rome: FAO, 1998. 300p. (FAO. Irrigation and drainage paper, 56).

ALVARES, C. A. *et al.* Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711-728, 2013.

ANDRADE, L. A. *et al.* Plant growth-promoting rhizobacteria for sustainable agricultural production. **Microorganisms**, v. 11, n. 4, p. 1-16, 2023.

BRANQUINHO, S.; ROLIM, J.; TEIXEIRA, J. L. Climate change adaptation measures in the irrigation of a super-intensive olive orchard in the south of Portugal. **Agronomy**, v. 11, n. 8, p. 1-16, 2021.

BOUREMANI, N. *et al.* Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): A rampart against the adverse effects of drought stress. **Water**, v. 15, n. 3, p. 1-35, 2023.

DÍAZ-RODRÍGUEZ, A. M. *et al.* Microbial Inoculants in Sustainable Agriculture: Advancements, Challenges, and Future Directions. **Plants**, v. 14, n. 2, p. 1-19, 2025.

FERRAREZI, J. A. *et al.* Effects of inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria from the Brazilian Amazon on the bacterial community associated with maize in field. **Applied Soil Ecology**, v. 170, p. 1-14, 2022.

GALVÃO, J.C.C.; BORÉM, A.; PIMENTEL, M.A. **Milho**: do plantio à colheita. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 2017. 382 p.

GAO, Y.; LYNCH, J. P. Reduced crown root number improves water acquisition under water deficit stress in maize (*Zea mays* L.). **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 15, p. 4545-4557, 2016.

GROVER, M. *et al.* PGPR mediated alterations in root traits: way toward sustainable crop production. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 4, p. 1-28, 2021.

HANKS, R. J. *et al.* Line source sprinkler for continuous variable irrigation-crop production studies. **Soil Science Society of America Journal**, v.40, n.3, p.426-429, 1976.

HANKS, R.J. *et al.* Statistical analysis of results from irrigation experiments using the line-source sprinkler system. **Soil Science Society of America Journal**, v. 44, n. 4, p. 886-888, 1980.

KANG, J.; PENG, Y.; XU, W. Crop root responses to drought stress: molecular mechanisms, nutrient regulations, and interactions with microorganisms in the rhizosphere. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 16, p. 1-26, 2022.

KHAN, N. *et al.* Insights into the interactions among roots, rhizosphere, and rhizobacteria for improving plant growth and tolerance to abiotic stresses: a review. **Cells**, v. 10, n. 6, p. 1551, 2021.

KHOSO, M. A. *et al.* Impact of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on plant nutrition and root characteristics: Current perspective. **Plant Stress**, v. 11, p. 1-15, 2024.

LYNCH, J. P. Harnessing root architecture to address global challenges. **The Plant Journal**, v. 109, n. 2, p. 415-431, 2022.

MARQUES, D. M. *et al.* *Azospirillum brasilense* reduces the effects of water stress and increases maize yield in irrigated areas with high soil nitrogen doses. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 42, n. 7, p. 4263-4274, 2023.

NGUYEN, H.; THOMPSON, A.; COSTELLO, C. Impacts of historical droughts on maize and soybean production in the southeastern United States. **Agricultural Water Management**, v. 281, p. 1-12, 2023.

O'CALLAGHAN, M.; BALLARD, R. A.; WRIGHT, D. Soil microbial inoculants for sustainable agriculture: Limitations and opportunities. **Soil Use and Management**, v. 38, n. 3, p. 1340-1369, 2022.

OLIVEIRA, I. C. M. *et al.* Technical feasibility of using suboptimal irrigation in maize cropping. **Crop and Pasture Science**, v. 72, n. 5, p. 348-360, 2021.

RIBEIRO, V. P. *et al.* Co-inoculation with tropical strains of *Azospirillum* and *Bacillus* is more efficient than single inoculation for improving plant growth and nutrient uptake in maize. **Archives of Microbiology**, v. 204, n. 2, p. 1-16, 2022.

R CORE TEAM. **R**: a language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2018.

ROMÃO, I. R. *et al.* Seed-Encapsulation of Desiccation-Tolerant Microorganisms for the Protection of Maize from Drought: Phenotyping Effects of a New Dry Bioformulation. **Plants**, v. 11, n. 8, p. 1-17, 2022.

SATO, H. *et al.* Complex plant responses to drought and heat stress under climate change. **The Plant Journal**, v. 117, n. 6, p. 1873-1892, 2024.

SELEIMAN, M. F. *et al.* Drought stress impacts on plants and different approaches to alleviate its adverse effects. **Plants**, v. 10, n. 2, p. 1-25, 2021.

TAKAHASHI, W. Y. *et al.* Tracking maize colonization and growth promotion by *Azospirillum* reveals strain-specific behavior and the influence of inoculation method. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 215, p. 108979, 2024.

TERRA, L. E. M. *et al.* Co-Inoculation of *Azospirillum brasilense* and *Bacillus* sp. Enhances Biomass and Photosynthetic Efficiency in *Urochloa brizantha*. **Agriculture**, v. 14, n. 12, p. 1-14, 2024.

TOMASELLA, J. *et al.* Assessment of trends, variability and impacts of droughts across Brazil over the period 1980–2019. **Natural Hazards**, v. 116, n. 2, p. 2173-2190, 2023.

TRACHSEL, S. *et al.* Shovelomics: high throughput phenotyping of maize (*Zea mays* L.) root architecture in the field. **Plant and soil**, v. 341, p. 75-87, 2011.

VANDANA, U. K. *et al.* The endophytic microbiome as a hotspot of synergistic interactions, with prospects of plant growth promotion. **Biology**, v. 10, n. 2, p. 1-29, 2021.

ZAHREBELNEI, F. *et al.* A sensitive electrochemical DNA biosensor for detecting the genome of a plant growth-promoting bacteria. **Talanta**, v. 286, p. 127484, 2025.

ZOU, Y. *et al.* Deficit irrigation improves maize yield and water use efficiency in a semi-arid environment. **Agricultural Water Management**, v. 243, p. 1-8, 2021.

ZULUAGA, A. M. Y. *et al.* Plant-microbe interactions in the rhizosphere for smarter and more sustainable crop fertilization: the case of PGPR-based biofertilizers. **Frontiers in Microbiology**, v. 15, p. 1-17, 2024.

CAPÍTULO - IV

EFICIÊNCIA FOTOSSINTÉTICA EM HÍBRIDOS DE MILHO BIOINOCULADOS

Tese redigida em formato de artigo científico, conforme as normas de publicação da Revista Caatinga.

EFICIÊNCIA FOTOSSINTÉTICA EM HÍBRIDOS DE MILHO BIOINOCULADOS

RESUMO - Objetivou-se com este trabalho avaliar a eficiência fotossintética, em diferentes estádios fenológicos de híbridos de milho associados a rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica e adubação nitrogenada em cobertura, no sistema *line-source*. O experimento foi conduzido no esquema de parcelas subsubdivididas, com a associação dos híbridos e rizobactérias nas parcelas, gradiente de irrigação nas subparcelas e adubação nitrogenada em cobertura na subsubparcela, com três repetições. Os dados foram submetidos a análise multivariada de variáveis canônicas (VC), com o intuito de selecionar as variáveis de maior influência no estudo. As variáveis selecionadas pela VC foram submetidas a análise de variância ($p < 0,05$). Quando significativos, os efeitos das associações foram estudados pelo agrupamento de Scott-knott ($p < 0,05$), os efeitos do gradiente de irrigação pela análise de regressão e os da adubação nitrogenada em cobertura pelo teste “F” ($p < 0,05$). De maneira geral, os parâmetros de eficiência fotossintética do milho apresentaram maior importância relativa nos estádios fenológicos de florescimento e enchimento de grãos. Os resultados sugeriram que a adubação nitrogenada em cobertura exerceu influência direta sobre a eficiência fotossintética das plantas até certo nível de restrição hídrica. Os diferentes níveis de restrição hídrica no sistema *line-source* e a adubação nitrogenada em cobertura alteram eficiência fotossintética de híbridos de milho associado à rizobactérias promotoras de crescimento.

Palavras-chave: *Zea mays* L. Estresses abióticos. Osmorregulação. Agricultura sustentável.

PHOTOSYNTHETIC EFFICIENCY IN BIOINOCULATED MAIZE HYBRIDS

ABSTRACT - The objective of this work was to evaluate the photosynthetic efficiency at different phenological stages of maize hybrids associated with growth-promoting rhizobacteria under different levels of water restriction and top dressing nitrogen fertilization in the line-source system. The experiment was conducted in a sub-subdivided plot design, with associations of contrasting hybrids and growth-promoting rhizobacteria in the plots, irrigation gradient in the subplots, and top dressing nitrogen fertilization in the subsubplots, with three replications. The data were subjected to multivariate analysis of canonical variables (VC), with the intention of selecting the variables with the greatest influence on the study. The variables selected by VC were subjected to analysis of variance ($p < 0.05$). When significant, the effects of associations were studied by Scott-knott grouping ($p < 0.05$), the effects related to irrigation gradient by regression analysis, and the effects of top dressing nitrogen fertilization by the “F” test ($p < 0.05$). In general, the photosynthetic efficiency parameters of maize showed greater relative importance in the phenological stages of flowering and grain filling. The results suggested that top dressing nitrogen fertilization had a direct influence on the photosynthetic efficiency of plants up to a certain level of water restriction. The different levels of water restriction in the line-source system and nitrogen fertilization in top dressing alter the photosynthetic efficiency of maize hybrids associated with growth-promoting rhizobacteria.

Keywords: *Zea mays* L. Abiotic stresses. Osmoregulation. Sustainable agriculture.

INTRODUÇÃO

Com o avanço das práticas agrícolas e as mudanças climáticas em curso, alcançar uma produção sustentável de alimentos para uma população mundial crescente exige abordagens inovadoras que promovam a responsabilidade ambiental e minimizem os impactos ecológicos (ASGHAR *et al.*, 2025). Entre os estresses causados por fatores abióticos, o déficit hídrico compromete diretamente o crescimento das plantas e sua produtividade, configurando-se como uma preocupação global que exige ações urgentes para mitigar seus efeitos e prevenir a escassez de alimentos no futuro (AGUNBIADE *et al.*, 2024; BOUREMANI *et al.*, 2023).

Para enfrentar esse desafio, o uso de microrganismos benéficos tem emergido como uma estratégia promissora para promover o crescimento e a saúde das plantas por meio de múltiplos mecanismos (ANDRADE *et al.*, 2023; NAGRALE *et al.*, 2023). Dentre esses, destacam-se o aumento da mineralização e da disponibilidade de nutrientes, a melhoria da absorção de água, a síntese de fitormônios e o fortalecimento da defesa das plantas contra doenças, contribuindo para práticas agrícolas mais sustentáveis (BHAT *et al.*, 2023; GÓMEZ-GODÍNEZ *et al.*, 2023).

Nesse cenário, o efeito sinérgico desses mecanismos pode modular as respostas fotossintéticas das plantas ao estresse, contribuindo para o ajuste osmótico, síntese de pigmentos fotossintéticos, redução de espécies reativas de oxigênio e promoção de impactos positivos no crescimento e nas funções fisiológicas das plantas (CHIEB; GACHOMO, 2023; GOWTHAM *et al.*, 2022; LUCAS *et al.*, 2023). Alvo de estudo e pesquisa, essa linha de investigação não apenas pode contribuir para o avanço do conhecimento científico nas áreas de microbiologia agrícola e fisiologia vegetal, mas também oferece potenciais soluções para a adaptação da agricultura às mudanças climáticas.

No entanto, existem desafios a serem considerados. A eficácia das rizobactérias pode variar conforme as especificidades das condições do solo, da cultura e do ambiente (BASU *et al.*, 2021; IQBAL *et al.*, 2023). Além disso, a aplicação inadequada ou o uso de cepas não adaptadas pode não gerar os benefícios esperados, e os resultados podem não ser imediatos, exigindo tempo até que se tornem evidentes (DÍAZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2025; ROMÃO *et al.*, 2022).

Neste sentido, objetivou-se com este trabalho avaliar a eficiência fotossintética, em diferentes estádios fenológicos de híbridos de milho associados a rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica e adubação nitrogenada em cobertura, no sistema *line-source*.

MATERIAL E MÉTODOS

Caracterização experimental

O experimento foi conduzido na Estação Experimental da Embrapa Milho e Sorgo, no município de Sete Lagoas, MG, Brasil. A área experimental está situada nas coordenadas geográficas: latitude 19° 27' 20" S, longitude 44 ° 10' 21"O e altitude de 725 m. O clima da região é subtropical, caracterizado por verões quentes e chuvosos e invernos secos, do tipo Cwa, segundo a classificação de Köppen (ALVARES *et al.*, 2013). A experimentação foi conduzida no período seco (abril a setembro) (Figura 1).

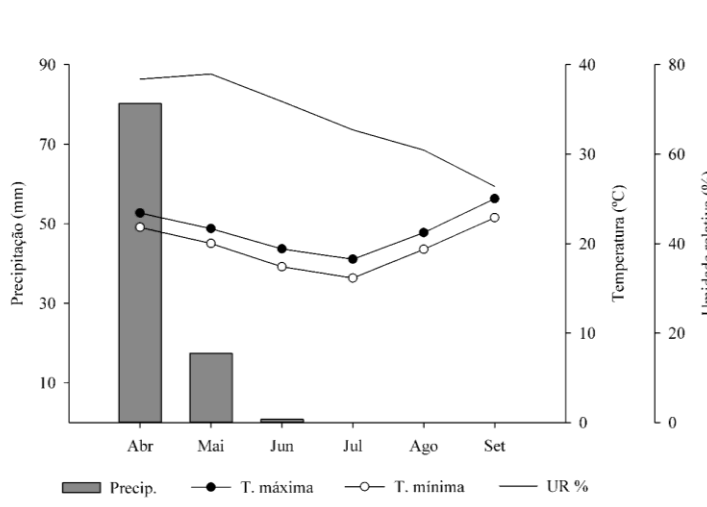


Figura 10. Distribuição mensal da precipitação, das temperaturas máxima e mínima (°C) e da umidade relativa do ar (%) durante o período experimental.

O solo da área experimental é classificado como Latossolo Vermelho Distrófico Argiloso, cujas principais características químicas na profundidade de 0-20 cm são: pH em água: 6,0; matéria orgânica: 3,22 dag kg⁻¹; SB: 6,04 cmol_c dm⁻³; H+Al: 4,09 cmol_c dm⁻³; CTC: 10,13 cmol_c dm⁻³; V%: 59%; m%: 0,82; P: 13,34 mg dm⁻³; K: 13,34 mg dm⁻³; Ca: 5,18 cmol_c dm⁻³; Mg: 0,83 cmol_c dm⁻³; Al: 0,05 cmol_c dm⁻³; Cu: 2,05 mg dm⁻³; Fe: 20,39 mg dm⁻³; Zn: 6,64 mg dm⁻³ e Mn: 5,54 mg dm⁻³.

Delineamento experimental e tratamentos

O experimento foi conduzido no esquema de parcelas subdivididas, com três repetições. As parcelas corresponderam a associações de híbridos contrastantes e rizobactérias promotoras de crescimento. As subparcelas corresponderam ao gradiente de irrigação, seguindo a conformação experimental de irrigação por aspersão em linha ou line-source (HANKS *et al.*,

1976; HANKS *et al.*, 1980). Já a subsubparcela, correspondeu a condição de adubação, em que, um lado do experimento recebeu adubação nitrogenada no plantio e em cobertura e o outro lado apenas a de plantio.

As parcelas experimentais foram compostas por quatro fileiras com 4,25 m de comprimento, espaçadas de 0,7 m entre si, perfazendo uma área total de 11,9 m². Para avaliação do experimento, foram consideradas as duas linhas centrais de cada parcela experimental, perfazendo uma área útil de 5,95 m².

Dois híbridos contrastantes quanto à tolerância ao déficit hídrico compuseram as associações com os bioinoculantes: DKB 390 PRO 3 (tolerante [H1]) e P30F53 VYHR (sensível [H2]), inoculados com *Azospirillum brasilense* (Az), *Bacillus* spp. (Bc), ou coinoculados com ambos (Az + Bc). Os inoculantes utilizados são pertencentes à Coleção de Microrganismos Multifuncionais e Fitopatogênicos (CMMF) da Embrapa Milho e Sorgo, sendo obtidos a partir da mistura de duas estirpes homólogas de *Azospirillum brasilense* (E11 e E26), de estirpes de *Bacillus* spp. (*Bacillus safensis* – PSI06 e *Bacillus pumilus* – PSI02) e da mistura das estirpes de *Azospirillum brasilense* com *Bacillus* spp., todos na proporção 1:1.

As associações de híbridos contrastantes quanto à tolerância ao déficit hídrico e rizobactérias promotoras de crescimento foram codificadas em: H1= testemunha DKB 390 PRO 3; H1+Az= DKB 390 PRO 3 inoculado com *A. brasilense*; H1+Bc= DKB 390 PRO 3 inoculado com *Bacillus* spp.; H1 + Az + Bc= DKB 390 PRO 3 coinoculado com *A. brasilense* e *Bacillus* spp.; H2= testemunha P30F53 VYHR; H2+Az= P30F53 VYHR inoculado com *A. brasilense*; H2+Bc= P30F53 VYHR inoculado com *Bacillus* spp.; H2 + Az + Bc= P30F53 VYHR coinoculado com *A. brasilense* e *Bacillus* spp.

O gradiente de irrigação foi composto por quatro lâminas de água, em que L1 representa a lâmina com irrigação plena, enquanto de L2 a L4 a restrição hídrica aumentou gradativamente, totalizando, ao final do ciclo, uma lâmina de água acumulada de 701,26 mm (L1), 593,49 mm (L2), 414,29 mm (L3) e 226,62 mm (L4).

Instalação e condução dos experimentos

Devido à necessidade de o plantio ser manual, o preparo do solo foi realizado no sistema semidireto, isto é, sem revolvimento do solo, com o sulco de plantio e a adubação feitos por meio de máquina. A formulação da adubação de plantio foi recomendada com base na análise química do solo e a necessidade da cultura, utilizando 400 kg ha⁻¹ da formulação 8-28-16 (NPK) mais 20 kg ha⁻¹ de FTE.

As estirpes selecionadas para inoculação foram cultivadas em caldo de soja triplicaseína por 72h, a uma temperatura de 29°C, sob agitação constante. Após esse período, as culturas de cada estirpe foram centrifugadas, ressuspensas em solução salina (0,85% NaCl) e ajustadas para uma densidade ótica de 1,0 em absorbância a 500 nm, o que equivale a aproximadamente 10^8 células viáveis por mL. A inoculação nas sementes foi realizada utilizando carvão vegetal moído como veículo e goma de fécula de mandioca como aderente.

O plantio do milho foi realizado manualmente no sulco, com a colocação de duas sementes a cada 0,2 m. O desbaste do excesso de plantas foi efetuado quando estas apresentavam de três a quatro folhas totalmente expandidas, resultando em uma população final de 71.428 plantas ha^{-1} .

A adubação nitrogenada em cobertura foi realizada exclusivamente no lado A (Figura 1), com a aplicação de 118 kg ha^{-1} de nitrogênio (N), de forma parcelada, utilizando ureia. O parcelamento ocorreu no estágio fenológico V6, quando as plantas apresentavam seis folhas totalmente expandidas, e no estágio fenológico V8, com as plantas apresentando oito folhas totalmente expandidas.

Os demais tratos culturais envolveram o controle de plantas daninhas, pragas e doenças, conforme a necessidade e recomendações para a cultura (GALVÃO *et al.*, 2017).

Utilizou-se o sistema de irrigação por aspersão, contendo aspersores Rain Bird modelo 14070, espaçados 9 x 18 m, sendo 9 metros longitudinalmente e 18 metros de alcance lateralmente, considerando o plantio transversal à linha central de irrigação. A área experimental foi irrigada empregando três linhas laterais até o estabelecimento da cultura. Quando as plantas estavam no estágio fenológico V6, foram removidas as linhas laterais de irrigação, deixando apenas a linha central, iniciando, assim, o sistema de irrigação *line-source* (HANKS *et al.*, 1976; HANKS *et al.*, 1980). Esse arranjo permitiu a distribuição de água em doses decrescentes, perpendiculares à linha de irrigação, criando um gradiente hídrico.

O manejo da irrigação foi feito com o auxílio de planilha eletrônica (ALBUQUERQUE; ANDRADE, 2001), utilizando o coeficiente de cultura adaptado de Allen *et al.* (1998). Para minimizar derivas e/ou distorções no padrão de aspersão, provocadas pelo vento, a irrigação foi realizada sempre no início da manhã.

A água aplicada foi quantificada após cada irrigação, utilizando coletores instalados no centro das parcelas experimentais, sempre posicionados acima do dossel da cultura, de forma a acompanhar o crescimento das plantas. As precipitações ocasionais ocorridas durante o período experimental também foram registradas por meio de uma estação climatológica próxima.

Características avaliadas

As variáveis fisiológicas, teor relativo de clorofila (TRC), fluorescência da clorofila (FV/FM) e condutância estomática (GS), foram determinadas em diferentes estádios fenológicos: pré-florescimento (1), florescimento (2) e enchimento de grãos (3). Assim, nove variáveis foram consideradas, sendo identificadas como TRC 1, TRC 2, TRC 3, FV/FM 1, FV/FM 2, FV/FM 3, GS 1, GS 2 e GS 3.

O TRC foi medido com auxílio de um medidor portátil de clorofila, o clorofilômetro (modelo SPAD 502, Minolta, Japan). As leituras foram realizadas no terço médio da folha localizada logo acima da inserção da espiga, em três plantas por parcela.

A relação FV/FM foi obtida por meio de um fluorímetro (Plant Efficiency Analyser, Hansatech Instruments King's Lynn, UK). A amostragem ocorreu entre 08h00 e 10h00, no terço médio de folhas previamente adaptadas ao escuro, em três plantas por parcela.

A GS foi obtida por meio de um porômetro (Leaf Porometer - Decagon Devices). Foram realizadas três leituras por parcela, na primeira folha totalmente expandida, entre 08h00 e 10h00. As médias dos valores obtidos foram expressas em $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Análises estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de variância multivariada (MANOVA), utilizando a função *manova* do pacote *stats*, recorrendo ao teste de Pillai a um nível de 5% de significância ($p < 0,05$). Após confirmada a ausência de multicolinearidade, procedeu-se à análise de variáveis canônicas (VC), utilizando o pacote *candisc* (FRIENDLY; FOX, 2017), a fim de selecionar as variáveis de maior influência no estudo. Essa seleção considerou características cujos escores canônicos apresentaram valores absolutos superiores a 0,60.

Seguindo as pressuposições de normalidade e homoscedasticidade, as variáveis selecionadas pela VC foram submetidas à análise de variância de parcelas subsubdivididas ($p < 0,05$). Quando significativos, os efeitos dos tratamentos, com associações de híbridos contrastantes e rizobactérias promotoras de crescimento, foram estudados pelo agrupamento de Scott-knott ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$). Os efeitos referentes ao gradiente de irrigação (L1 a L4) foram estudados pela análise de regressão e os efeitos da adubação nitrogenada em cobertura foram comparados pelo teste “F” a 5% de significância ($p < 0,05$). A escolha do modelo estatístico de regressão foi baseada na significância dos parâmetros.

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o Software R (R Core Team [R], 2018).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de VC explicou 63,6% da variação total observada (Figura 2). A matriz de vetores próprios mostra a proporção da variância total explicada e suas correlações com as características analisadas. A variável canônica 1 (VC1) explicou 51,09% da variação total, destacando-se, em ordem de importância relativa, as características TRC 3, TRC 2 e FV/FM 3. Por sua vez, a variável canônica 2 (VC2) explicou 12,51% da variação total, sendo as características de maior contribuição relativa a GS 2 e a FV/FM 2 (Figura 2).

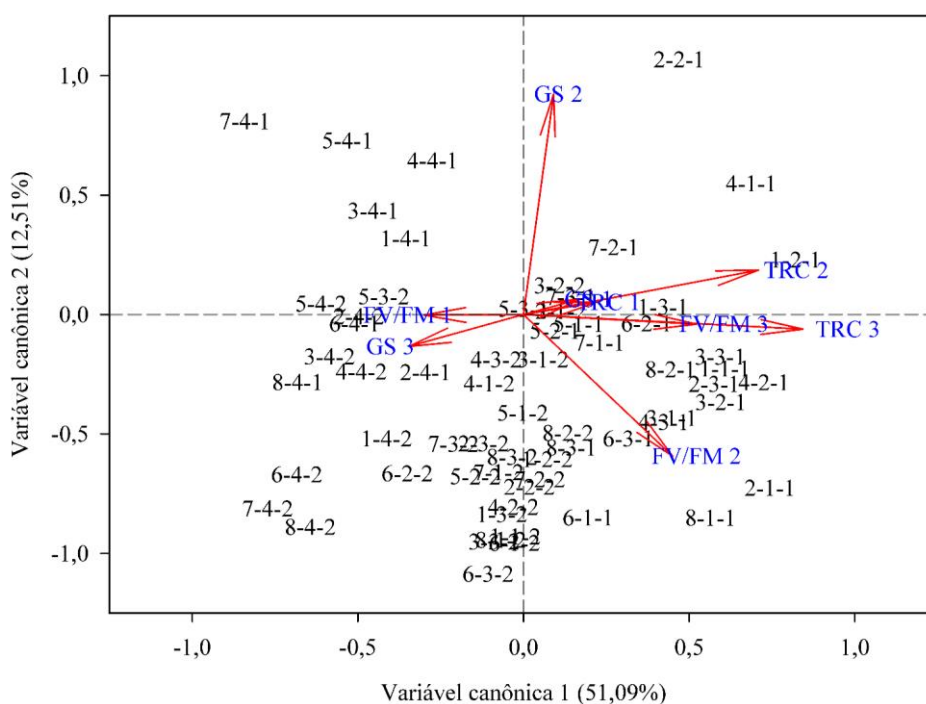


Figura 2. Análise multivariada de variáveis canônicas (VC) de híbridos de milho associados à rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica e adubação nitrogenada em cobertura. O conjunto de três números representa as combinações de tratamentos, indicadas na seguinte ordem: associações com os bioinoculantes (1= H1; 2= H1+Az; 3= H1+Bc; 4= H1+Az+Bc; 5= H2; 6= H2+Az; 7= H2+Bc; 8= H2+Az+Bc), lâmina de água aplicada (1= L1; 2= L2; 3= L3; 4= L4) e presença (1) ou ausência (2) de adubação nitrogenada em cobertura.

Observa-se que, as correlações positivas são responsáveis pela discriminação dos tratamentos localizados à direita da VC1 e na parte superior da VC2. Já as correlações negativas são responsáveis por discriminar os tratamentos situados à esquerda de VC1 e na parte inferior de VC2 (Figura 2). A proximidade dos tratamentos em relação aos vetores de correlação das variáveis aponta para as características com as quais possuem maior afinidade, enquanto o distanciamento sugere menor associação.

Esses resultados evidenciam uma distinção entre os grupos de tratamentos em função dos diferentes níveis de restrição hídrica e adubação nitrogenada em cobertura aplicados. Além disso, indicam que os parâmetros de eficiência fotossintética do milho tiveram maior importância relativa nos estádios fenológicos de florescimento e enchimento de grãos, considerados fases críticas do ciclo da cultura (Figura 2).

Essa maior sensibilidade nesses estádios pode ocorrer por algumas razões fundamentais. A restrição hídrica, por exemplo, compromete a sincronização do florescimento, provoca desuniformidade na formação da espiga, reduz o número e a massa dos grãos, além de acelerar a senescência, encurtando o período de enchimento e afetando diretamente a produtividade da cultura (CĂLUGĂR *et al.*, 2024; KIM; LEE, 2023; SAH *et al.*, 2020). Portanto, esses estádios fenológicos são determinantes para o rendimento do milho, especialmente sob condições de restrição hídrica. Nessa fase, a planta depende de um suprimento adequado de água para garantir o transporte eficiente de nutrientes e o pleno enchimento dos grãos (ALAM *et al.*, 2021).

Nesse contexto, compreender quais fases do desenvolvimento do milho são mais vulneráveis à restrição hídrica e como essa limitação impacta a eficiência fotossintética das plantas é essencial para definir estratégias de manejo voltadas à convivência com a seca. Esse conhecimento também pode orientar abordagens mais eficazes para mitigar os efeitos do estresse hídrico e assegurar maior estabilidade nos rendimentos, mesmo em condições adversas.

Com base nas variáveis selecionadas na VC, foi realizada a análise de variância de parcelas subsubdivididas ($p < 0,05$), a qual indicou um efeito significativo da interação entre híbridos de milho associados à rizobactérias promotoras de crescimento (H), lâmina de irrigação (L) e adubação nitrogenada em cobertura (A) sobre o TRC 2. Além disso, observou-se uma interação significativa entre L x A para TRC 3, FV/FM 2 e FV/FM 3, e entre H x A para GS 2 (Tabela 1).

Tabela 4. Resumo da análise de variância de caracteres fisiológicos de híbridos de milho associados à rizobactérias promotoras de crescimento (H), em diferentes níveis de restrição hídrica (L) e adubação nitrogenada em cobertura (A).

FV	Quadrado médio					
	GL	TRC 2	TRC 3	FV/FM 2	FV/FM 3	GS2
Blocos	2	29,63 ^{ns}	69,39 ^{ns}	0,0013 ^{ns}	0,0028 ^{ns}	3971,77**
Associações (H)	7	11,47 ^{ns}	219,83*	0,0011 ^{ns}	0,0010 ^{ns}	1099,65*
Resíduo 1	14	13,07	57,68	0,0006	0,0009	279,80
Lâminas (L)	3	350,67**	3199,32**	0,0044**	0,0147**	1134,54**
H*L	21	7,55 ^{ns}	30,86 ^{ns}	0,0007 ^{ns}	0,0013 ^{ns}	273,32 ^{ns}
Resíduo 2	48	13,64	23,73	0,0006	0,0009	248,33
Adubação (A)	1	499,55**	3074,16**	0,0004 ^{ns}	0,0005 ^{ns}	8860,68**
H*A	7	14,04 ^{ns}	48,58 ^{ns}	0,0005 ^{ns}	0,0010 ^{ns}	530,35*
L*A	3	16,99 ^{ns}	317,67**	0,0027**	0,0047*	113,28 ^{ns}
H*L*A	21	13,01*	14,07 ^{ns}	0,0007 ^{ns}	0,0009 ^{ns}	270,10 ^{ns}
Resíduo 3	64	7,23	29,14	0,0006	0,0012	237,20
Média		52,15	42,60	0,82	0,79	53,62
CV1 %		6,93	17,83	3,08	3,70	31,20
CV2 %		7,08	11,43	3,10	3,74	29,39
CV3 %		5,16	12,67	2,93	4,37	28,72

Não significativo $p > 0,05$ (^{ns}); significativo a 1% $p < 0,01$ (**); significativo a 5% $p < 0,05$ (*) pelo teste F. FV = fonte de variação; GL = graus de liberdade; CV = coeficiente de variação. TRC 2 = teor relativo de clorofila no florescimento; TRC 3 = teor relativo de clorofila no enchimento de grãos; FV/FM 2 = fluorescência da clorofila no florescimento; FV/FM 3 = fluorescência da clorofila no enchimento de grãos; GS 2 = condutância estomática no florescimento.

O desdobramento da interação H x L x A revelou que, no estágio fenológico de florescimento, tanto a associação dos híbridos com rizobactérias promotoras de crescimento quanto os níveis de irrigação e adubação nitrogenada em cobertura influenciaram o teor relativo de clorofila no milho. Em condições ideais de irrigação (L1), não foram observadas diferenças estatísticas entre os tratamentos quando a adubação nitrogenada em cobertura foi realizada. Por outro lado, na ausência dessa adubação, o grupo composto pelos tratamentos H1+Az, H1+Bc, H2 e H2+Az apresentou maior teor relativo de clorofila no florescimento (TRC 2) (Tabela 2).

Nas lâminas 2 e 4 (L2 e L4), sem adubação nitrogenada em cobertura, e na 3 (L3), com e sem adubação nitrogenada em cobertura, não foram observadas diferenças no TRC 2 entre os tratamentos. Por outro lado, na presença da adubação nitrogenada em cobertura, o grupo com os tratamentos H1+Az, H1+Bc e H1+Az+Bc na lâmina 2 e o grupo com os tratamentos H1, H1+Bc, H2 e H2+Az na lâmina 4 apresentaram maior TRC 2 (Tabela 2).

Esses resultados são relevantes para a compreensão de como a eficiência fotossintética das plantas pode ser fortalecida por meio de mecanismos simbióticos que conferem tolerância ao estresse abiótico. Esse processo pode ocorrer tanto pela ativação dos sistemas de resposta da planta, auxiliando na prevenção ou mitigação dos impactos dos estressores, quanto pela

produção de compostos antiestresse pelos microrganismos benéficos (ADELEKE; BABALOLA, 2022). Todavia, Terra *et al.* (2024) afirmam que essas respostas fisiológicas podem variar conforme o método de inoculação e o tipo de inoculante utilizado, sugerindo que a coinoculação de sementes com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus* sp. pode ser mais eficaz. Além disso, observa-se que a adubação nitrogenada em cobertura modula esse comportamento conforme a restrição hídrica imposta (Tabela 2).

Tabela 2. Teor relativo de clorofila no florescimento (TRC 2) de híbridos de milho associados à rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica (L) e adubação nitrogenada em cobertura (A).

L	A	Associações							
		H1	H1+Az	H1+Bc	H1+Az+Bc	H2	H2+Az	H2+Bc	H2+Az+Bc
1	com	54,58Aa	55,26Aa	54,91Aa	57,29Aa	52,89Aa	52,25Aa	55,65Aa	54,50Aa
	sem	50,18Bb	55,02Aa	54,37Aa	49,85Bb	55,82Aa	53,24Aa	52,16Ba	50,08Bb
2	com	54,96Ba	55,89Aa	58,88Aa	57,37Aa	52,37Ba	54,32Ba	52,66Ba	52,59Ba
	sem	52,07Aa	50,44Ab	53,38Ab	50,57Ab	55,17Aa	52,24Aa	51,86Aa	54,65Ab
3	com	54,51Aa	58,46Aa	57,31Aa	55,30Aa	54,98Aa	54,78Aa	52,40Aa	53,93Aa
	sem	50,12Ab	50,82Ab	48,90Ab	52,33Aa	50,60Aa	51,81Aa	52,56Aa	51,46Aa
4	com	53,25Aa	47,24Ba	52,28Aa	49,55Ba	52,53Aa	50,82Aa	49,14Ba	47,55Ba
	sem	47,98Ab	46,10Aa	45,58Ab	46,92Aa	47,18Ab	45,12Ab	44,45Ab	44,10Aa

Para mesma lâmina de irrigação, médias seguidas por mesma letra maiúscula na linha (associações) não diferem entre si pelo agrupamento de Scott-Knott ($p < 0,05$). Médias seguidas por mesma letra minúscula na coluna (adubação) não diferem entre si pelo teste F ($p < 0,05$).

As alterações fotossintéticas observadas refletem a influência do déficit hídrico no estágio de florescimento, podendo indicar seus impactos na fisiologia das plantas e a eficácia das estratégias de mitigação adotadas. Além da oxidação de pigmentos, esse estresse pode desencadear mudanças morfofisiológicas nas plantas, reduzindo seu potencial osmótico e fotossintético, desequilibrando a regulação hormonal e aumentando o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (BOUREMANI *et al.*, 2023; YANG *et al.*, 2021).

Ademais, pode levar a um declínio na atividade dos cloroplastos, nas taxas fotossintéticas e na síntese de Adenosina trifosfato (ATP), com redução da fosforilação e regeneração de Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADP), bem como ao comprometimento das reações dos fotossistemas I e II (ABDELAAL *et al.*, 2021; GOWTHAM *et al.*, 2022). Portanto, a implementação de estratégias capazes de amenizar esses efeitos no sistema fotossintético pode ser promissora para a cultura.

O desdobramento de A dentro de cada nível de H e L revelou que a adubação nitrogenada em cobertura influenciou significativamente o teor relativo de clorofila no florescimento (TRC 2) nos tratamentos H1, H1+Az+Bc e H2+Az+Bc na lâmina 1, H1+Az, H1+Bc, H1+Az+Bc e

H2+Az+Bc na lâmina 2, H1, H1+Az e H1+Bc na lâmina 3 e H1, H1+Bc, H2, H2+Az, H2+Bc na lâmina 4 (Tabela 2). Isso demonstra que a adubação nitrogenada em cobertura pode favorecer a eficiência fotossintética, dependendo das condições hídricas às quais os híbridos estão submetidos.

De acordo com Muhammad *et al.* (2022), o aumento do fornecimento de N pode elevar o conteúdo de clorofila a e b em diferentes estágios de crescimento do milho, melhorar as atividades enzimáticas e antioxidantes da planta e reduzir as espécies reativas de oxigênio. Resultando, em última análise, em um maior rendimento de grãos sob irrigação subótima. Além disso, o nitrogênio pode desempenhar um papel fundamental para mediar as interações entre plantas e microrganismos, favorecendo relações simbióticas que melhoram a tolerância ao estresse (ZAYED *et al.*, 2023). Portanto, esses resultados sugerem que a adubação nitrogenada em cobertura pode constituir uma estratégia eficaz para auxiliar na modulação fotossintética do milho e melhorar sua tolerância a restrições hídricas.

O desdobramento de L dentro de cada nível de H e A revelou que a lâmina de água aplicada foi determinante para o teor relativo de clorofila no florescimento (TRC 2) do milho (Figura 3). Quando realizada adubação nitrogenada em cobertura, os tratamentos H1+Az, H1+Bc e H1+Az+Bc apresentaram comportamento quadrático, ou seja, aumento do TRC 2 com o aumento da lâmina de água até um ponto de máxima de 520,03; 504,24 e 629,09 mm, respectivamente. Essas lâminas corresponderam a teores relativos máximos de clorofila no florescimento de 58,47; 58,66 e 57,51, respectivamente. Já os tratamentos H2+Bc e H2+Az+Bc apresentaram um comportamento linear crescente com o aumento da lâmina de água, enquanto a análise de regressão não foi significativa para os tratamentos H1, H2 e H2+Az (Figura 3A).

Na ausência da adubação nitrogenada em cobertura, os tratamentos H2+Az, H2+Bc e H2+Az+Bc apresentaram efeito quadrático com aumento do TRC 2 até uma lâmina de 612,71; 555,98 e 530,52 mm, o que representou, respectivamente, um TRC 2 máximo de 53,20; 53,22 e 53,83(Figura 3B).

Esses resultados indicam que o sistema *line-source* foi eficaz em exprimir o comportamento fotossintético dos híbridos de milho em associação com bioinoculantes sob diferentes níveis de restrição hídrica e adubação nitrogenada em cobertura. Além disso, permite quantificar os impactos da restrição hídrica e das estratégias adotadas para minimizar o comprometimento do TRC 2. Dessa forma, considera-se que essa abordagem pode ser uma alternativa interessante para o racionamento hídrico sem prejuízo considerável a cultura (OLIVEIRA *et al.*, 2021).

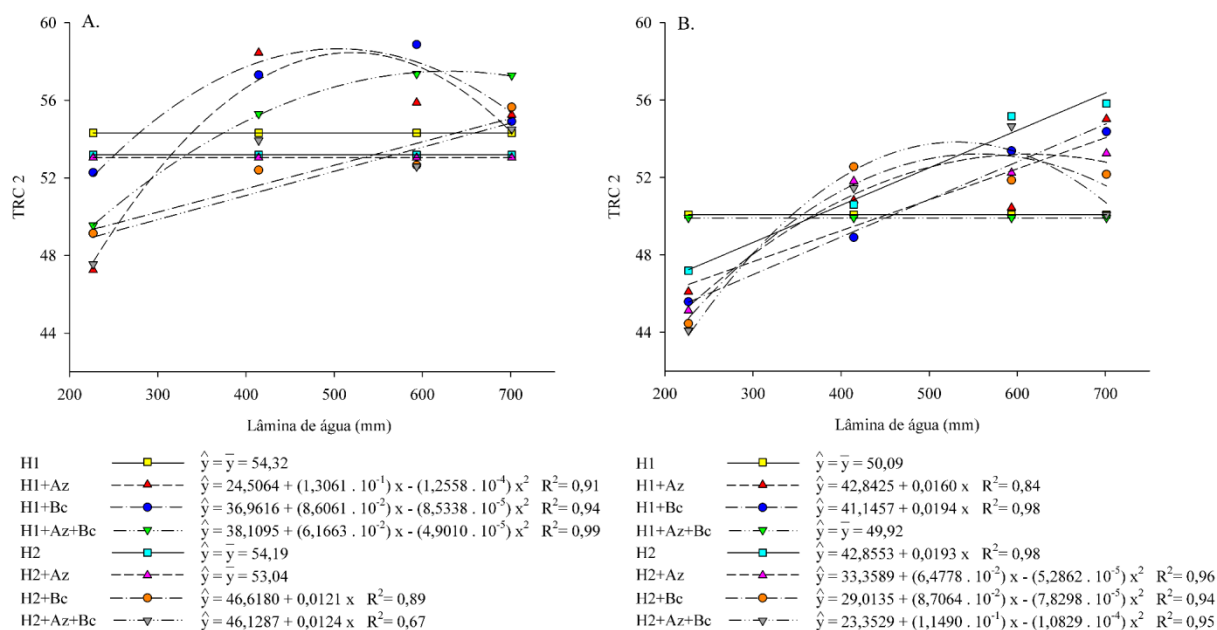


Figura 3. A. Teor relativo de clorofila no florescimento (TRC 2) com adubação nitrogenada em cobertura; B. Teor relativo de clorofila no florescimento (TRC 2) sem adubação nitrogenada em cobertura, em híbridos de milho associados à rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica.

Estudando o desdobramento de L dentro de cada nível de A, foi possível identificar um efeito quadrático da lâmina de água sobre o teor relativo de clorofila no enchimento de grãos (TRC 3) (Figura 4A). Quando realizada a adubação nitrogenada em cobertura, o TRC 3 atingiu um máximo de 54,30 com uma lâmina de 604,50 mm, enquanto na ausência dessa adubação, o valor máximo foi de 42,60, com uma lâmina de 622,06 mm. Observa-se, ainda, que a lâmina de maior restrição hídrica resultou na maior redução do TRC 3 (Figura 4A).

Essa redução nos níveis de clorofila indica um estresse oxidativo, decorrente da foto-oxidação de pigmentos e da degradação da clorofila (LUCAS *et al.*, 2023). Isso evidencia o impacto da restrição hídrica na cultura e até que ponto a adubação nitrogenada em cobertura foi capaz de minimizar esse estresse ou potencializar a eficiência fotossintética das plantas de milho.

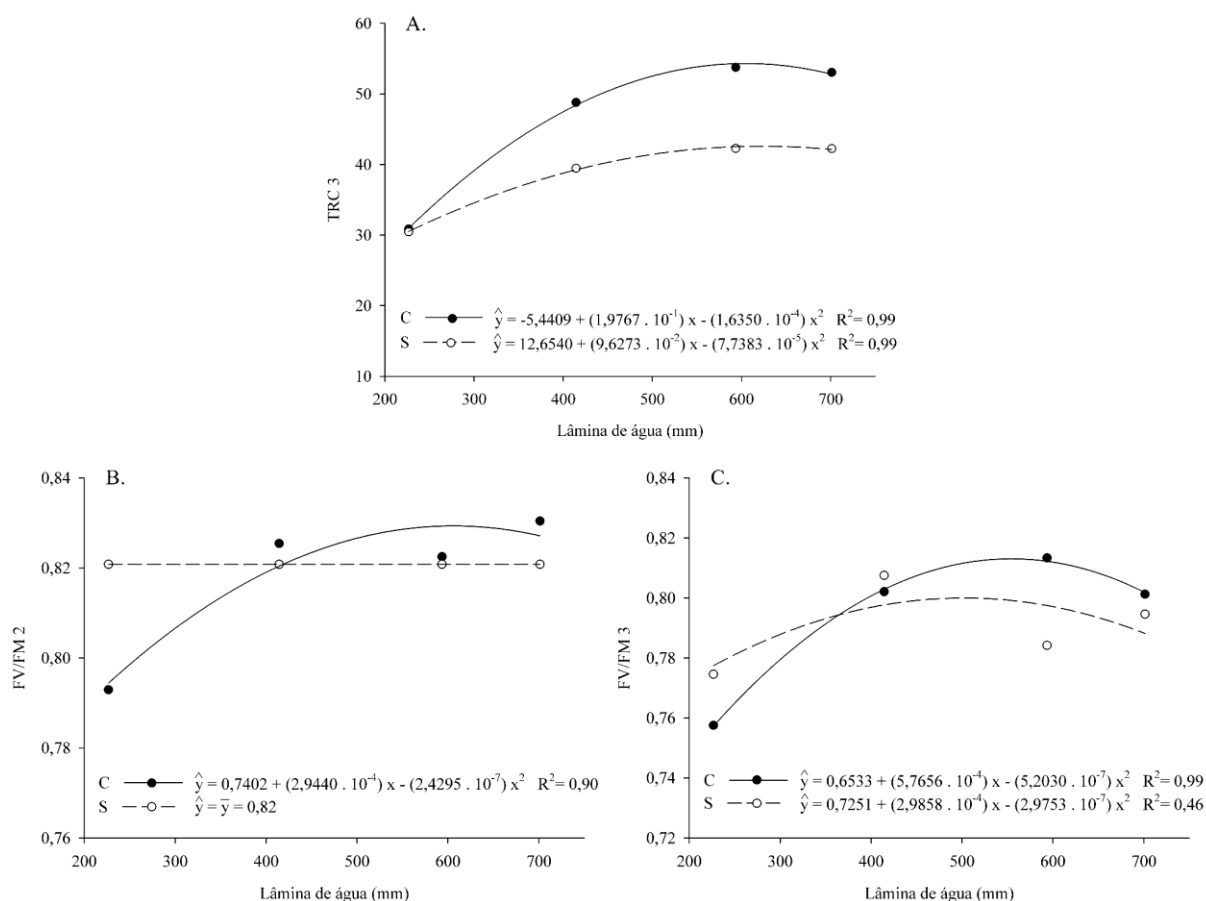


Figura 4. A. Teor relativo de clorofila no enchimento de grãos (TRC 3); B. fluorescência da clorofila no florescimento (FV/FM 2); C. fluorescência da clorofila no enchimento de grãos (FV/FM 3) em híbridos de milho associados à rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica. ● com adubação nitrogenada em cobertura. ○ sem adubação nitrogenada em cobertura.

A fluorescência da clorofila no florescimento (FV/FM 2) apresentou efeito quadrático quando realizada a adubação nitrogenada em cobertura, com valor máximo de 0,83, a uma lâmina de 605,89 mm. Na ausência dessa adubação, a análise de regressão não foi significativa (Figura 4B).

Além disso, a lâmina de água apresentou um efeito quadrático sobre a fluorescência da clorofila no enchimento de grãos (FV/FM 3). Quando realizada a adubação nitrogenada em cobertura, a FV/FM 3 atingiu o valor máximo de 0,81, com uma lâmina de 554,06 mm. Na ausência dessa adubação, o valor máximo foi de 0,80, com uma lâmina de 501,76 mm (Figura 4C). À medida que a restrição hídrica se intensificou, os valores de FV/FM foram diminuindo, o que pode indicar ocorrência de fotoinibição.

De acordo com Bolhàr-Nordenkampf e Öquist (1993), a eficiência máxima do fotossistema II (PSII) geralmente varia entre 0,75 e 0,85 em plantas saudáveis, e valores abaixo

desse intervalo sugerem a presença de estresse ou danos no aparato fotossintético. Assim, a queda nos valores observados sob restrição hídrica pode sinalizar comprometimento da integridade dos fotossistemas.

Esses efeitos adversos sobre a eficiência fotossintética podem estar relacionados a alterações nos processos fotobiológicos da planta, resultando em danos nos centros de reação dos fotossistemas I e II (PSI e PSII) (BOUREMANI *et al.*, 2023). No entanto, as intervenções adotadas contribuíram para atenuar esses impactos até certo nível de restrição hídrica, configurando-se como uma estratégia promissora para preservar o equilíbrio fotossintético sob tais condições.

Essa modulação é de grande relevância, uma vez que seus efeitos podem se estender ao rendimento da cultura sob restrição hídrica, favorecendo a produção de um maior número de espigas e o desenvolvimento de grãos mais pesados por espiga (ROMÃO *et al.*, 2022).

Ao realizar o desdobramento de A dentro de cada nível de L, observou-se que a adubação nitrogenada em cobertura proporcionou maior TRC 3 nas lâminas 1, 2 e 3 (L1, L2 e L3), menor FV/FM 2 na lâmina 4 (L4) e maior FV/FM 3 na lâmina 2 (L2) (Tabela 3). Esses resultados sugerem uma influência direta da adubação nitrogenada em cobertura na eficiência fotossintética das plantas e na otimização dos recursos hídricos disponíveis, o que pode ser determinante na adaptação das plantas aos desafios climáticos, especialmente no contexto de déficit hídrico.

Tabela 3. Teor relativo de clorofila no enchimento de grãos (TRC 3), fluorescência da clorofila no florescimento (FV/FM 2) e fluorescência da clorofila no enchimento de grãos (FV/FM 3) em híbridos de milho associados à rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica (L) e adubação nitrogenada em cobertura (A).

A		Níveis de restrição hídrica			
		L1	L2	L3	L4
TRC 3	com	53,04a	53,75a	48,79a	30,84a
	sem	42,24b	42,27b	39,45b	30,44a
FV/FM 2	com	0,83a	0,82a	0,83a	0,79b
	sem	0,82a	0,83a	0,82a	0,82a
FV/FM 3	com	0,80a	0,81a	0,80a	0,76a
	sem	0,79a	0,78b	0,81a	0,77a

Médias seguidas por mesma letra minúscula na coluna (adubação) não diferem entre si pelo teste F ($p < 0,05$).

Ao analisar o desdobramento de H dentro de cada nível de A, observou-se maior condutância estomática no florescimento (GS 2) para o grupo composto pelos tratamentos H1, H1+Az, H1+Az+Bc, H2 e H2+Bc, quando foi realizada adubação nitrogenada em cobertura. Na ausência da adubação nitrogenada em cobertura, o grupo com os tratamentos H1+Az,

H1+Bc, H1+Az+Bc e H2 apresentou maior GS 2. Além disso, constatou-se que a adubação nitrogenada em cobertura proporcionou aumentos na GS 2 do milho para os tratamentos H1, H1+Az+Bc, H2 e H2+Bc (Tabela 4). Embora alguns tratamentos tenham modulado a GS 2 dos híbridos de milho, os resultados apontam para a influência de múltiplos fatores, em especial da adubação nitrogenada em cobertura.

Tabela 4. Condutância estomática no florescimento (GS 2) de híbridos de milho associados à rizobactérias promotoras de crescimento, em diferentes níveis de restrição hídrica e adubação nitrogenada em cobertura (A). $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

	A	Associações							
		H1	H1+Az	H1+Bc	H1+Az+Bc	H2	H2+Az	H2+Bc	H2+Az+Bc
GS	com	69,23Aa	61,25Aa	56,03Ba	68,79Aa	66,50Aa	47,02Ba	66,34Aa	48,13Ba
	sem	40,97Bb	58,52Aa	50,96Aa	50,68Ab	51,10Ab	35,05Ba	43,10Bb	44,22Ba

Médias seguidas por mesma letra maiúscula na linha (associações) não diferem entre si pelo agrupamento de Scott-Knott ($p < 0,05$). Médias seguidas por mesma letra minúscula na coluna (adubação) não diferem entre si pelo teste F ($p < 0,05$).

Esses efeitos das fontes de variação em estudo na condutância estomática (Gs) podem ser importantes para compreender a regulação das trocas gasosas entre as folhas e a atmosfera. Segundo Lucas *et al.* (2023), diante da restrição hídrica é comum o fechamento dos estômatos para reduzir a perda de água relacionada à transpiração. Contudo, esse processo pode limitar a assimilação de carbono e as reações de luz, prejudicando a eficiência fotossintética das plantas. Como consequência, o crescimento e o desenvolvimento vegetal podem ser comprometidos, especialmente em condições de estresse hídrico prolongado, quando a manutenção da eficiência fotossintética se torna essencial para a sobrevivência e produtividade das culturas (BOUREMANI *et al.*, 2023; GOWTHAM *et al.*, 2022).

As evidências observadas reforçam a necessidade de estudos mais aprofundados para potencializar os efeitos dos bioinoculantes na tolerância à seca. Ademais, destacam a adubação nitrogenada em cobertura como uma estratégia promissora para otimizar a eficiência fotossintética do milho. Esse aprimoramento pode ser crucial para enfrentar os desafios crescentes impostos pelas mudanças climáticas à agricultura, contribuindo para a sustentabilidade, o uso eficiente dos recursos e a segurança alimentar.

CONCLUSÕES

Os parâmetros de eficiência fotossintética do milho apresentam maior importância relativa nos estádios fenológicos de florescimento e enchimento de grãos.

Os diferentes níveis de restrição hídrica no sistema *line-source* e a adubação nitrogenada em cobertura alteram eficiência fotossintética de híbridos de milho associado à rizobactérias promotoras de crescimento.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – Código de Financiamento 001; à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG); ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsas e à Embrapa Milho e Sorgo pelo apoio técnico e científico.

REFERÊNCIAS

ABDELAAL, K. *et al.* The role of plant growth-promoting bacteria in alleviating the adverse effects of drought on plants. **Biology**, v. 10, n. 6, p. 1-23, 2021.

ADELEKE, B. S.; BABALOLA, O. O. Meta-omics of endophytic microbes in agricultural biotechnology. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 42, p. 102332, 2022.

AGUNBIADE, V. F. *et al.* Isolation and Characterization of Plant-Growth-Promoting, Drought-Tolerant Rhizobacteria for Improved Maize Productivity. **Plants**, v. 13, n. 10, p. 1-27, 2024.

ALAM, M. R. *et al.* Kernel water relations and kernel filling traits in maize (*Zea mays* L.) are influenced by water-deficit condition in a tropical environment. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 1-18, 2021.

ALBUQUERQUE, P. E. P.; ANDRADE, C. L. T. **Planilha eletrônica para a programação da irrigação de culturas anuais**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2001. 14 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular técnica, 10).

ALLEN, R. G. *et al.* **Crop evapotranspiration: guidelines for computing crop water requirements**. Rome: FAO, 1998. 300p. (FAO. Irrigation and drainage paper, 56).

ALVARES, C. A. *et al.* Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711-728, 2013.

ASGHAR, W. *et al.* Enhancing the Resilience of Agroecosystems Through Improved Rhizosphere Processes: A Strategic Review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 26, n. 1, p. 1-29, 2025.

BASU, A. *et al.* Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as green bioinoculants: recent developments, constraints, and prospects. **Sustainability**, v. 13, n. 3, p. 1-20, 2021.

BOLHÀR-NORDENKAMPF, H. R.; ÖQUIST, G. Chlorophyll fluorescence as a tool in photosynthesis research. In: HALL, D. O. *et al.* (ed.). **Photosynthesis and production in a changing environment: a field and laboratory manual**. London: Chapman & Hall, 1993. cap. 12, p. 193-206.

BOUREMANI, N. *et al.* Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): A rampart against the adverse effects of drought stress. **Water**, v. 15, n. 3, p. 1-35, 2023.

CĂLUGĂR, R. E. *et al.* Influence of Changing Weather on Old and New Maize Hybrids: A Case Study in Romania. **Plants**, v. 13, n. 23, p. 1-18, 2024.

CHIEB, M.; GACHOMO, E. W. The role of plant growth promoting rhizobacteria in plant drought stress responses. **BMC plant biology**, v. 23, n. 407, p. 1-23, 2023.

DÍAZ-RODRÍGUEZ, A. M. *et al.* Microbial Inoculants in Sustainable Agriculture: Advancements, Challenges, and Future Directions. **Plants**, v. 14, n. 2, p. 1-19, 2025.

FRIENDLY, M.; FOX, J. **Candisc**: visualizing generalized canonical discriminant and canonical correlation analysis (Version R package version 0.6-5). 2017.

GALVÃO, J.C.C.; BORÉM, A.; PIMENTEL, M.A. **Milho**: do plantio à colheita. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 2017. 382 p.

GÓMEZ-GODÍNEZ, L. J. *et al.* A look at plant-growth-promoting bacteria. **Plants**, v. 12, n. 8, p. 1-17, 2023.

GOWTHAM, H. G. *et al.* Insight into recent progress and perspectives in improvement of antioxidant machinery upon PGPR augmentation in plants under drought stress: a review. **Antioxidants**, v. 11, n. 9, p. 1-26, 2022.

HANKS, R. J. *et al.* Line source sprinkler for continuous variable irrigation-crop production studies. **Soil Science Society of America Journal**, v.40, n.3, p.426-429, 1976.

HANKS, R.J. *et al.* Statistical analysis of results from irrigation experiments using the line-source sprinkler system. **Soil Science Society of America Journal**, v. 44, n. 4, p. 886-888, 1980.

IQBAL, S. *et al.* Overviewing drought and heat stress amelioration—from plant responses to microbe-mediated mitigation. **Sustainability**, v. 15, n. 2, p. 1-20, 2023.

KIM, K.; LEE, B. Effects of climate change and drought tolerance on maize growth. **Plants**, v. 12, n. 20, p. 1-18, 2023.

LUCAS, J. A. *et al.* Physiological and genetic modifications induced by plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR) in tomato plants under moderate water stress. **Biology**, v. 12, n. 7, p. 1-20, 2023.

MUHAMMAD, I. *et al.* Nitrogen fertilizer modulates plant growth, chlorophyll pigments and enzymatic activities under different irrigation regimes. **Agronomy**, v. 12, n. 4, p. 1-20, 2022.

NAGRALE, D. T. *et al.* PGPR: the treasure of multifarious beneficial microorganisms for nutrient mobilization, pest biocontrol and plant growth promotion in field crops. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 39, n. 4, p. 100, 2023.

OLIVEIRA, I. C. M. *et al.* Technical feasibility of using suboptimal irrigation in maize cropping. **Crop and Pasture Science**, v. 72, n. 5, p. 348-360, 2021.

R CORE TEAM. **R**: a language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2018.

ROMÃO, I. R. *et al.* Seed-Encapsulation of Desiccation-Tolerant Microorganisms for the Protection of Maize from Drought: Phenotyping Effects of a New Dry Bioformulation. **Plants**, v. 11, n. 8, p. 1-17, 2022.

SAH, R. P. *et al.* Impact of water deficit stress in maize: Phenology and yield components. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 2944, 2020.

TERRA, L. E. M. *et al.* Co-Inoculation of *Azospirillum brasilense* and *Bacillus* sp. Enhances Biomass and Photosynthetic Efficiency in *Urochloa brizantha*. **Agriculture**, v. 14, n. 12, p. 1-14, 2024.

YANG, X. *et al.* Response mechanism of plants to drought stress. **Horticulturae**, v. 7, n. 3, p. 1-36, 2021.

ZAYED, O. *et al.* Nitrogen journey in plants: From uptake to metabolism, stress response, and microbe interaction. **Biomolecules**, v. 13, n. 10, p. 1-32, 2023.

CONCLUSÕES GERAIS

As evidências deste trabalho indicam que o gradiente de irrigação *line-source* foi eficaz em exprimir os impactos da restrição hídrica, modulados pela associação de híbridos de milho com rizobactérias promotoras de crescimento e adubação nitrogenada em cobertura, nos atributos radiculares, nutricionais, fisiológicos e produtivos da cultura.

Os efeitos da restrição hídrica são cumulativos, impactando gradualmente a arquitetura radicular, a absorção de nutrientes e a eficiência fotossintética, refletindo diretamente nos componentes de rendimento e na produtividade do milho.

A bioinoculação de híbridos de milho com rizobactérias promotoras de crescimento e a adubação nitrogenada em cobertura interagem para otimizar a adaptação à restrição hídrica, modulando a arquitetura das raízes, a absorção de nutrientes e a eficiência fotossintética das plantas.

A eficiência fotossintética desempenha um papel crucial em estádios fenológicos específicos, como o florescimento e o enchimento de grãos, podendo ser modulada pela interação entre híbridos de milho, rizobactérias promotoras de crescimento e adubação nitrogenada em cobertura.

As estratégias de mitigação abordadas são eficazes no racionamento dos recursos hídricos no cultivo do milho.

Existem lacunas de conhecimento a serem preenchidas quanto ao uso de rizobactérias promotoras de crescimento para melhorar a tolerância à restrição hídrica em híbridos de milho.