

INOCULAÇÃO DE SEMENTES COM *Azospirillum brasilense* EM PLANTAS DE MILHO SUBMETIDAS À RESTRIÇÃO HÍDRICA

Antônio Eduardo Coelho¹; Cláudia Tochetto²; Thais Lemos Turek³; Luiz Henrique Michelon³; Samuel Luiz Fioreze^{3*}

SAP 14004 Data envio: 13/04/2016 Data do aceite: 19/10/2016
Sci. Agrar. Parana., Marechal Cândido Rondon, v. 16, n. 2, abr./jun., p. 186-192, 2017

RESUMO - Objetivou-se estudar a inoculação de sementes com bactérias *Azospirillum brasilense* em plantas de milho submetidas à restrição hídrica. Dois experimentos foram conduzidos em cultivo protegido, utilizando-se vasos preenchidos com substrato pobre em nitrogênio. No primeiro experimento sementes de milho foram inoculadas ou não com *A. brasilense* e também tratadas ou não com bioestimulante (IBA + KT + GA). No segundo experimento foram utilizados dois genótipos de milho (P30F53 e Catarina), submetidos ou não à inoculação com *A. brasilense*. Em ambos os experimentos, as plantas foram submetidas a um período de restrição hídrica no período vegetativo inicial, durante o qual foram avaliados os parâmetros associados às trocas gasosas das plantas. Ao final do período de restrição hídrica foram avaliados o acúmulo de matéria seca e nitrogênio em raízes e parte aérea das plantas, bem como o teor de nitrogênio no substrato. Observou-se efeito da restrição hídrica nos parâmetros fotossintéticos e biométricos de plantas de milho. A inoculação de sementes de milho com *A. brasilense* não afetou as respostas de plantas à falta d'água, nem promoveu maior acúmulo de nitrogênio no substrato ou nas plantas.

Palavras-chave: bactérias diazotróficas, estresse ambiental, nitrogênio, *Zea mays*.

SEED INOCULATION WITH *Azospirillum brasilense* IN CORN PLANTS SUBMITTED TO WATER LIMITATION

ABSTRACT - The objective of this work was to evaluate the seed inoculation with *Azospirillum brasilense* in corn plants under limitation of the water supply. Two assays were carried out in greenhouse conditions, using low nitrogen substrate pots. To the first assay, corn seeds were inoculated or not with *A. brasilense* and treated or not with a biostimulant (IBA + KT + GA). At the second assay, two corn genotypes were inoculated or not with *A. brasilense*. In both assays, plants were submitted to limited condition of water supply at initial vegetative growth. During this period, gas exchange parameters were determined at the plants. After stress period, dry matter and nitrogen content were determined in roots and above ground parts of the plants. In addition, substrate nitrogen content was determined. It was observed effects of water restriction supply for gas exchange parameters and dry matter accumulation. Corn seed inoculation with *A. brasilense* did not affect plant responses to water limitation; neither improves the nitrogen content on substrate or plants.

Key words: diazotrophic bacterium, environmental stress, nitrogen, *Zea mays*.

INTRODUÇÃO

Os efeitos benéficos de microrganismos sobre o desenvolvimento e a produtividade vegetal é um foco constante de trabalhos de pesquisa. Historicamente tem se observado efeitos importantes da interação entre leguminosas (Fabaceae) e diferentes gêneros de bactérias, denominadas de rizóbios, resultando em processos altamente eficientes de fixação biológica de nitrogênio via simbiose (HUNGRIA, 2011), principalmente para as culturas da soja e feijão. Outra forma importante de interação ocorre principalmente entre gramíneas e espécies de bactérias de vida livre no solo, denominadas como bactérias promotoras de crescimento vegetal, como as

pertencentes ao gênero *Azospirillum* (MOREIRA, 2010; HUNGRIA, 2011).

Entre os efeitos diretos da interação entre bactérias do gênero *Azospirillum* e plantas, pode-se observar a biossíntese de hormônios promotores do crescimento, como auxinas, giberelinas e citocininas e de reguladores de crescimento, como óxido nítrico e poliaminas, a solubilização de fósforo e fixação biológica de nitrogênio (FBN). Os mecanismos indiretos de atuação envolvem a atividade rizosférica, indução de resistência sistêmica a doenças, biossíntese de hormônios relacionados ao estresse, como ácido jasmônico, ácido abscísico e etileno e a biossíntese de compostos

¹Universidade do Estado de Santa Catarina, UDESC, Centro de Ciências Agroveterinárias, CAV, Av. Luiz de Camões 2090, CEP 88.520-000, Conta Dinheiro, Lages, Santa Catarina, Brasil

²Universidade Estadual do Oeste do Paraná, UNIOESTE, Centro de Ciências Agrárias, Rua Pernambuco 1777, Caixa Postal 91, CEP 85960-000, Marechal Cândido Rondon, Paraná, Brasil

³Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, Centro de Ciências Rurais, Rodovia Ulysses Gaboardi, Km 03, Caixa Postal 101, CEP 89520-000, Curitiba, Santa Catarina, Brasil. E-mail: s.fioreze@ufsc.br. *Autor para correspondência

antimicrobianos (CASÁN et al., 2013). Essas bactérias possuem a capacidade de identificar sinais emitidos ou percebidos pela planta em condições de estresse, desencadeando respostas de forma conjunta com a planta, resultando em aumento de tolerância (COHEN et al., 2009).

Apesar de terem o potencial de atuarem como organismos fixadores de N, um dos principais mecanismos que explica os efeitos benéficos da inoculação de sementes de plantas cultivadas com bactérias do gênero *Azospirillum* é a sua capacidade de produzir e metabolizar uma série de hormônios vegetais e de compostos que atuam diretamente na regulação do crescimento da planta, principalmente do sistema radicular (BASHAN et al., 2004). Diversos estudos apontam para o incremento da produtividade de grãos de plantas de milho em associação com *Azospirillum brasilense* (HUNGRIA et al., 2010; BRACCINI et al., 2012; DARTORA et al., 2013; MÜLLER et al., 2016) enquanto outros não encontram respostas (DIDONET et al., 2000; QUADROS et al., 2014).

Atualmente a inoculação de sementes de milho com *A. brasilense* vem sendo estudada e recomendada para gramíneas no Brasil, para fornecimento de N. Porém, como a eficiência de fixação de N₂ por bactérias do gênero *Azospirillum* é regulada pela concentração de oxigênio, nitrato e molibdênio, a não expressão do gene *nif* e a atividade da ACC deaminase (PEREG-GERK et al., 2000; BASHAN et al., 2004), são fortes indícios que a campo o *A. brasilense* seja incapaz de fixar N₂. Provavelmente, os benefícios resultantes da inoculação de sementes com *A. brasilense* sejam oriundos do aumento da superfície radicular que leva a planta a absorver melhor todos os nutrientes, e não da FBN.

Considerando os prováveis benefícios associados à interação de plantas de milho com bactérias do gênero *Azospirillum*, pode-se esperar que o cultivo de plantas inoculadas resulte em aumento no acúmulo de nitrogênio nos tecidos vegetais e no solo, o qual pode estar associado à FBN, ou do aumento no crescimento radicular, principalmente em condições de restrição hídrica.

Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da inoculação de sementes de milho com bactérias *A. brasilense* na produção de biomassa e acúmulo de nitrogênio em plantas submetidas a déficit hídrico em cultivo protegido.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzidos dois experimentos no período entre os meses de janeiro e abril de 2014. Os experimentos foram conduzidos em cultivo protegido na Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Curitiba, localizada nas coordenadas geográficas 27° 17' 12.2" S, 50° 31' 96.6" O, com 1.010 m de altitude.

O primeiro experimento foi implantado em delineamento de blocos casualizados, em esquema fatorial 2 x 3, com quatro repetições. Os fatores foram compostos pela indução ou não de déficit hídrico e três tratamentos aplicados às sementes, inoculação com *A. brasilense*, tratamento com bioestimulante à base de IBA + KT + GA (controle positivo) e uma testemunha sem tratamento

(controle negativo), totalizando 24 vasos. Cada unidade experimental foi composta por um vaso com 3,6 L, com dimensões de 14,5 x 19 x 18 cm de diâmetro basal, superior e altura, preenchido com vermiculita expandida de granulometria média. O uso de vermiculita como substrato de cultivo teve por objetivo isolar o efeito da bactéria sobre o crescimento radicular e a fixação biológica de nitrogênio, por se tratar de um material pobre em termos nutricionais. O híbrido de milho utilizado foi o P30F53 (Pionner®). A fonte de IBA + KT + GA utilizada foi o produto Stimulate®, na dose de 1,5 L 100 kg⁻¹ de sementes. Utilizou-se o inoculante comercial Masterfix Gramíneas®, contendo as estirpes AbV5 e AbV6 da bactéria.

Após a inoculação, foram semeadas três sementes por vaso, mantendo-se apenas uma planta uniforme após o estágio V2 do desenvolvimento. A irrigação foi realizada de forma manual para todos os tratamentos até o estágio V4 de desenvolvimento das plantas. Neste estágio induziu-se o déficit hídrico nos tratamentos descritos, através da suspensão da rega por um período de 10 dias.

Os efeitos do déficit hídrico sobre as plantas foram medidos através do monitoramento da assimilação líquida de carbono, com intervalos de dois dias. Foi utilizado um analisador portátil de gases por infravermelho, modelo Li-6400XT da LI-COR (Lincol, NE) de sistema aberto, fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (FFFA) de 1200 mmol m⁻² s⁻¹, e concentração ambiental de CO₂. As medidas foram realizadas no período entre 09 e 11 h na primeira folha totalmente expandida, a qual indica o estágio V4 de cada planta. Ao final do período de déficit hídrico, as plantas foram coletadas para avaliação. Foram determinados o volume radicular e a massa de matéria seca de raízes e parte aérea, após secagem em estufa de circulação forçada de ar. Em seguida, determinou-se os teores e o acúmulo de nitrogênio em raízes e parte aérea de plantas, utilizando-se o método Semi-micro Kjeldahl (TEDESCO et al., 1995).

O segundo experimento foi implantado em delineamento de blocos casualizados, em esquema fatorial 2 x 2 x 2, com quatro repetições. Os fatores foram compostos pela indução ou não de déficit hídrico, da inoculação ou não de sementes com *A. brasilense* e de dois genótipos de milho (P30F53 e a variedade Catarina), totalizando 32 vasos. Cada unidade experimental foi composta por um vaso com 3,6 L, com dimensões de 14,5 x 19 x 18 cm de diâmetro basal, superior e altura, preenchido com areia lavada. O substrato foi adubado com 3,8 g vaso⁻¹ de superfosfato simples, 1,0 g vaso⁻¹ de cloreto de potássio e 1,5 g vaso⁻¹ de calcário dolomítico, com intuito de fornecer Ca e Mg. O inoculante utilizado foi o mesmo produto comercial descrito no experimento anterior.

Após a inoculação, foram semeadas três sementes por vaso, mantendo-se apenas uma planta uniforme após o estágio V2 do desenvolvimento. A irrigação foi realizada de forma manual para todos os tratamentos até o estágio V4 de desenvolvimento das plantas. Neste estágio induziu-se o déficit hídrico nos tratamentos descritos, através da suspensão da rega. A assimilação líquida de carbono (A)

para plantas sem irrigação tiveram uma queda brusca dois dias após a suspensão da rega, atingindo valores próximos à zero (Figura 1b). Desta forma, procedeu-se a reidratação do substrato de forma pontual no segundo dia, para um segundo ciclo de estresse, que se estendeu até o décimo dia. As análises biométricas e teores de nitrogênio foram realizados da mesma forma descrita para o experimento anterior. Para o monitoramento da assimilação líquida de carbono, utilizou-se a mesma metodologia, porém com fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (FFFA) de 2000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F ($p < 0,05$). Quando detectadas variações significativas, as médias foram contrastadas pelo teste t de Student ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A supressão na irrigação de plantas de milho promoveu redução significativa na assimilação líquida de carbono (A) de plantas de milho apenas aos 10 dias após a diferenciação dos tratamentos para o primeiro experimento (Figura 1a). Este comportamento caracteriza a presença de um estresse de baixa intensidade, visto que os valores de A nesta avaliação foram de 73% em relação ao das plantas irrigadas. Para o segundo experimento, os valores de A para plantas sem irrigação tiveram uma queda brusca no primeiro ciclo de estresse, atingindo valores próximos à zero, já no segundo ciclo de estresse, se estendeu até o décimo dia, onde os valores de A atingiram 29% do observado para plantas irrigadas (Figura 1b). O diferente comportamento do estresse hídrico, entre experimentos, pode ser explicado pelos diferentes valores de déficit de pressão de vapor e radiação (Figuras 1c e 1d), e pela maior capacidade de retenção de água da vermiculita expandida em comparação à areia lavada.

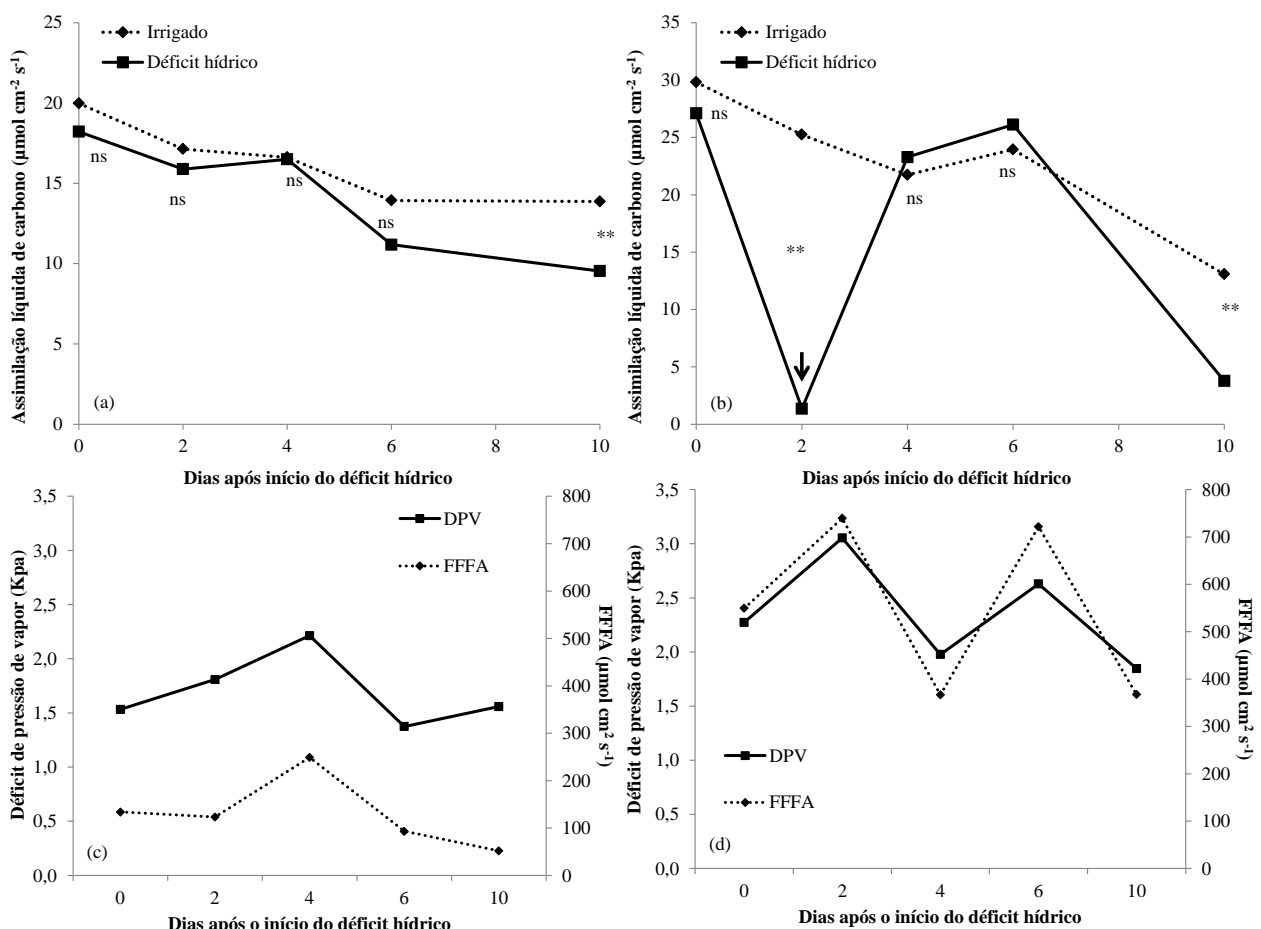


FIGURA 1 - Assimilação líquida de carbono (1a e 1b) e déficit de pressão de vapor e fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (FFFA) (1c e 1d) durante o período de exposição de plantas de milho ao déficit hídrico. Curitibaanos, SC, 2014. Detalhe interno (I) indica irrigação. **Significativo pelo teste t de Student ($p < 0,01$); ns Não significativo.

Efeitos positivos da inoculação de sementes com *A. brasilense* sobre parâmetros associados com a fotossíntese, bem como parâmetros do crescimento de plantas, foram observados na cultura do trigo por Elanchezian e Panwar (1997) e Bashan et al. (2006) em cultivo protegido, sem estresse. No presente estudo,

contudo, mesmo na ausência de estresse, os efeitos da bactéria sobre a fotossíntese de plantas de milho não foram verificados. Em condições de campo, Stancheva et al. (1992) não observaram efeitos da inoculação de sementes de milho com *A. brasilense* sobre os parâmetros

fotossintéticos de plantas, apesar de plantas inoculadas apresentarem maior acúmulo de biomassa.

O crescimento e o acúmulo de biomassa e nitrogênio de plantas de milho não foram afetados pela inoculação de sementes com *A. brasilense* ou pelo tratamento com bioestimulante (Tabela 1). Mesmo

resultado foi observado para o efeito da restrição hídrica, como reflexo da baixa intensidade do estresse imposto. Em adição, não se detectou interação significativa entre os fatores para nenhuma das variáveis estudadas no primeiro experimento.

TABELA 1. Parâmetros biométricos e teores de nitrogênio em plantas de milho (30F53) inoculadas com *Azospirillum brasilense* e submetidas a déficit hídrico em cultivo protegido. Curitiba, SC, 2014.

	VR (cm ³)	MSR (g)	MSPA (g)	MST (g)
Irrigado	157,9	0,46	0,37	0,84
Déficit Hídrico	158,2	0,50	0,39	0,88
p > 0,05	0,81	0,52	0,85	0,65
<i>Azospirillum brasilense</i>	158,4	0,50	0,37	0,87
IBA + KT+ GA	158,8	0,50	0,38	0,88
Testemunha	157,0	0,44	0,39	0,83
p > 0,05	0,37	0,55	0,97	0,91
CV (%)	1,59	25,11	38,39	27,84
	TNR (%)	NR (g)	TNPA (%)	NPA (g)
Irrigado	2,54	11,24	3,69	13,41
Déficit Hídrico	1,68	8,45	2,80	10,79
p > 0,05	0,07	0,22	0,10	0,37
<i>Azospirillum brasilense</i>	2,52	11,92	3,54	14,19
IBA + KT+ GA	1,65	7,97	3,73	13,13
Testemunha	2,16	9,64	2,46	8,99
p > 0,05	0,27	0,37	0,13	0,31
CV (%)	49,07	55,27	38,79	57,14

Em que: VR: Volume radicular; MSR: Massa de matéria seca de raízes; MSPA: Massa de matéria seca de parte aérea; MST: Massa de matéria seca total; TNR: Teor de nitrogênio em raízes; NR: Acúmulo de nitrogênio em raízes; TNPA: Teor de nitrogênio em parte aérea; NPA: Acúmulo de nitrogênio em parte aérea.

Os efeitos provenientes da aplicação desta classe de biorregulador têm sido relacionados com incremento no crescimento radicular, diâmetro de colmos, número de fileiras de grãos por espiga e de grãos por fileira, resultando em incrementos de produtividade (DOURADO NETO et al., 2004). Desta forma, esperam-se respostas semelhantes para a inoculação de sementes com *A. brasilense*, principalmente em plantas submetidas à estresse ambiental, tendo em vista seus efeitos sobre a síntese de hormônios promotores do crescimento (AX, CK e GA) bem como de substâncias reguladoras do crescimento (óxido nítrico e poliaminas) ou mesmo hormônios de resposta ao estresse, como ABA e jasmonatos (CASÁN et al., 2013).

Cohen et al. (2009) identificaram que bactérias *Azospirillum lipoferum* foram eficientes em amenizar os efeitos da falta de água em plantas de milho inoculadas, principalmente através da produção de ácido abscísico (ABA) e giberelina (GA). Zawoznik et al. (2011) observaram que plantas de cevada inoculadas com *A. brasilense* apresentaram melhor crescimento em ambiente salino, em comparação com plantas não inoculadas. Os mesmos autores identificaram maior expressão do gene

PIP2;1 em plantas inoculadas, o qual está associado com a síntese de aquaporinas em raízes. O crescimento de plantas de milho a campo foi estimulado pela inoculação de sementes com bactérias do gênero *Azospirillum* (BRACCINI et al., 2012; DARTORA et al., 2013; QUADROS et al., 2014).

Entende-se que os resultados associados à inoculação de sementes com bactérias do gênero *Azospirillum* são bastante dinâmicos, considerando as constituições genéticas da planta e do hospedeiro, bem como as condições ambientais de cada estudo. Couillerot et al. (2013), por exemplo, obtiveram incremento significativo para o acúmulo de biomassa de plantas de milho inoculadas em conjunto com *A. brasilense*, *Pseudomonas fluorescens* e *Glomus intraradices* apenas para os estádios iniciais do desenvolvimento. No presente estudo, esperava-se uma maior resposta à inoculação em plantas da variedade Catarina, considerando ser este um material com base genética mais larga, tendo assim maior potencial de interação com a bactéria. Este resultado, contudo, não foi observado. Resultados variáveis em função do material genético utilizado e inoculação com *A. brasilense* foram observados por Quadros et al. (2014).

Foi observado efeito de interação significativa entre genótipos e a imposição de déficit hídrico para os parâmetros biométricos de plantas de milho (Tabela 3). Interação entre os demais fatores ou mesmo a interação tripla não foi detectada.

Os parâmetros biométricos (Tabela 2) em plantas de milho foram influenciados pelos ambientes testados, independente do genótipo de milho utilizado. A redução da expansão celular e conseqüente crescimento é um dos primeiros sinais encontrados em plantas sob déficit hídrico (TAIZ; ZEIGER, 2010), no segundo experimento a

supressão da irrigação por 10 dias causou uma redução na ordem de 44,81% na massa de matéria seca total em comparação com a testemunha, dados semelhantes aos encontrados por Bonfim-Silva et al. (2011). Com uma redução mais expressiva do volume radicular e massa de matéria seca de raiz do que matéria seca de parte aérea, ao contrário do que se esperava, não foi encontrada interação significativa entre o regime hídrico e a inoculação com *A. brasilense*. A inoculação com *A. brasilense* proporcionou um incremento na ordem de 16% de massa de matéria seca de raiz.

TABELA 2. Teores de nitrogênio em plantas de dois genótipos de milho inoculados com *Azospirillum brasilense* e submetidos a déficit hídrico em cultivo protegido. Curitiba, SC, 2014.

	VR (cm ³)	MSR (g)	MSPA (g)	MST (g)
Irrigado	90,00	11,35	22,84	34,19
Déficit Hídrico	43,25	5,41	13,46	18,87
p > 0,05	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Azospirillum brasilense</i>	67,25	9,12	18,18	27,29
Testemunha	66,00	7,64	18,13	25,77
p > 0,05	0,74	0,03	0,97	0,19
P30F53	57,44	6,56	15,67	22,22
Catarina	75,81	10,20	20,64	30,84
p > 0,05	0,00	0,00	0,00	0,00
CV (%)	15,31	21,58	21,45	12,35
	TNR (%)	NR (g)	TNPA (%)	NPA (g)
Irrigado	0,87	0,09	1,36	0,32
Déficit Hídrico	1,36	0,07	2,05	0,28
p > 0,05	0,00	0,01	0,00	0,29
<i>Azospirillum brasilense</i>	1,09	0,08	1,74	0,30
Testemunha	1,14	0,08	1,66	0,30
p > 0,05	0,61	0,48	0,51	0,88
P30F53	1,21	0,07	1,81	0,28
Catarina	1,02	0,09	1,60	0,32
p > 0,05	0,05	0,03	0,08	0,25
CV (%)	23,09	20,16	19,91	31,71

Em que: VR: Volume radicular; MSR: Massa de matéria seca de raízes; MSPA: Massa de matéria seca de parte aérea; MST: Massa de matéria seca total; TNR: Teor de nitrogênio em raízes; NR: Acúmulo de nitrogênio em raízes; TNPA: Teor de nitrogênio em parte aérea; NPA: Acúmulo de nitrogênio em parte aérea. Médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si pelo teste t de Student (p < 0,05).

TABELA 3. Comparação de médias dos parâmetros biométricos de plantas para o efeito da interação entre genótipos de milho submetidos a déficit hídrico em cultivo protegido. Curitiba, SC, 2014.

	VR (cm ³)		MSR (g)		MSPA (g)		MST (g)	
	30F53	Catarina	30F53	Catarina	30F53	Catarina	30F53	Catarina
Irrigado	76,0 Ab	104,0 Aa	8,0 Ab	14,7 Aa	18,9 Ab	26,8 Aa	26,9 Ab	41,5 Aa
Déficit hídrico	38,9 Ba	47,6 Ba	5,1 Ba	5,7 Ba	12,4 Ba	14,5 Ba	17,5 Ba	20,2 Ba
DMS	10,8		1,9		4,1		3,4	
CV (%)	15,5		21,5		21,4		12,31	

Em que: VR: Volume radicular; MSR: Massa de matéria seca de raízes; MSPA: Massa de matéria seca de parte aérea; MST: Massa de matéria seca total. Médias seguidas da mesma letra, minúscula para genótipos e maiúscula para ambiente, não diferem entre si pelo teste t de Student (p < 0,05).

É importante destacar a ocorrência de redução do volume e da massa de matéria seca de raízes em condição de falta d'água, visto que uma das respostas mais comuns em plantas cultivadas à campo é o aprofundamento do sistema radicular, como estratégia de tolerância à seca (TURNER, 1997). Quando cultivadas em volume restrito de solo, contudo, este tipo de resposta não é verificado (COSTA et al., 2008; FIOREZE et al., 2011). Quando cultivadas em ambiente irrigado, plantas de milho da variedade Catarina apresentaram maior volume radicular e acúmulo de matéria seca em raiz e parte aérea (Tabela 3). Contudo, quando submetidas à restrição hídrica, não houve diferenças entre os genótipos para os parâmetros citados, o que indica que a variedade Catarina foi mais sensível à falta de água no período.

Os teores de N em raízes e parte aérea, bem como o acúmulo de N em raízes foram maiores em plantas irrigadas, em comparação com plantas submetidas à déficit hídrico, independente do genótipo utilizado ou da inoculação de sementes (Tabela 2). Os teores de N em raízes e parte aérea foram maiores para o híbrido 30F53, independente do ambiente ou inoculação de sementes. Contudo, o acúmulo do nutriente em raízes foi maior para a variedade Catarina, em função da maior quantidade de matéria seca apresentada (Tabela 2). A inoculação de sementes com *A. brasilense* não afetou os teores e tampouco o acúmulo de nitrogênio em plantas de milho.

Não é incomum observar maior acúmulo de nitrogênio em parte aérea de plantas de milho inoculadas com *A. brasilense* (DIDONET et al., 1996; DIDONET et al., 2000; HUNGRIA et al., 2010), o que nem sempre se relaciona com aumento de produtividade (DIDONET et al., 2000; QUADROS et al., 2014). O aumento dos teores de nitrogênio em tecidos, por si só, não indica que bactérias do gênero *Azospirillum* apresentem potencial para fixação do nutriente em quantidade suficiente para nutrir a planta de maneira satisfatória. O mais provável é que o estímulo ao desenvolvimento radicular de plantas, provocados pela interação com as bactérias, promova maior absorção de nutrientes já presentes do solo, porém, em regiões mais distantes, que em condições normais não seriam atingidas. Esta hipótese é suportada pelos resultados obtidos no presente estudo, visto que as plantas foram cultivadas em substrato pobre, sem fertilização com nitrogênio. Nestas condições, não houve aumento nos teores de N no substrato após o cultivo de plantas de milho inoculadas com a bactéria. O teor de nitrogênio no substrato de plantas inoculadas foi de $0,57 \pm 0,11\%$, enquanto no tratamento testemunha o teor foi de $0,56\% \pm 0,11\%$.

Respostas frequentes, em termos de produtividade de grãos, são atribuídas à interação entre *A. brasilense* e plantas de milho (HUNGRIA et al., 2010; BRACCINI et al., 2012; DARTORA et al., 2013; MÜLLER et al., 2016). Contudo, não está claro se o uso da prática de inoculação pode ser associado à redução da dose de nitrogênio aplicado. É necessário considerar que se os benefícios da inoculação estão associados apenas com o aumento na absorção de nitrogênio, o uso contínuo da técnica,

associada à redução das doses de nitrogênio aplicadas pode resultar em uma redução da quantidade do nutriente disponível no solo.

CONCLUSÕES

A inoculação de sementes de milho com *Azospirillum brasilense* não afeta a produção de biomassa e o acúmulo de nitrogênio em plantas submetidas à déficit hídrico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BASHAN, Y.; HOLGUIN, G.; BASHAN, L.E. *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997–2003). **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.50, n.8, p.521-577, 2004.
- BASHAN, Y.; BUSTILLOS, J.J.; LEYVA, L.A.; HERNANDEZ, J.P.; BACILIO, M. Increase in auxiliary photoprotective photosynthetic pigments in wheat seedlings induced by *Azospirillum brasilense*. **Biology and Fertility of Soils**, Firenze, v.42, n.4, p.279-285, 2006.
- BONFIM-SILVA, E.M.; DA SILVA, T.J.A.; CABRAL, C.E.A.; KROTH, B.E.; REZENDE, D. Desenvolvimento inicial de gramíneas submetidas ao estresse hídrico. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.24, n.2, p.180-186, 2011.
- BRACCINI, A.L.E.; DAN, L.G.M.; PICCININ, G.G.; ALBRECHT, L.P.; BARBOSA M.C.; ORTIZ, A.H.T. Seed inoculation with *Azospirillum brasilense*, associated with the use of bioregulators in maize. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.25, n.2, p.58-64, 2012.
- CASÁN, F.; VANDERLEYDEN, J.; SPAEPEN, S. Physiological and agronomical aspects of phytohormone production by model plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR) belonging to the genus *Azospirillum*. **Journal of Plant Growth Regulators**, v.32, n.3, p.440-459, 2013.
- COHEN, A.C.; TRAVAGLIA, C.N.; BOTTINI, R.; PICCOLI, P.N. Participation of abscisic acid and gibberellins produced by endophytic *Azospirillum* in the alleviation of drought effects in maize. **Botany**, Ottawa, v.87, n.5, p.455-462, 2009.
- COSTA, J.R.; PINHO, J.L.N.; PARRY, M.M. Produção de matéria seca de cultivares de milho sob diferentes níveis de estresse hídrico. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.12, n.5, p.443-450, 2008.
- COULLEROT, O.; RAMÍREZ-TRUJILLO, A.; WALKER, V.; VON FELTEN, A.; JANSÁ, J.; MAURHOFER, M.; DÉFAGO, G.; PRIGENT-COMBARET, C.; COMTE, G.; CABALLERO-MELLADO, J.; MOËNNE-LOCCOZ, Y.; Comparison of prominent *Azospirillum* strains in *Azospirillum-Pseudomonas-Glomus consortia* for promotion of maize growth. **Applied Microbiology Biotechnology**, Münster, v.97, n.10, p.4639-4649, 2013.
- DARTORA, J.; GUIMARÃES, V.F.; MARINI, D.; SANDER, G. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.17, n.10, p.1023-1029, 2013.
- DIDONET, A.D.; KENNER, M.H.; RODRIGUES, O. Acúmulo de nitrogênio e de massa seca em plantas de trigo inoculadas com *Azospirillum brasilense*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.31, n.9, p.645-651, 1996.
- DIDONET, A.D.; RODRIGUES, O.; LIMA, O.S.; CANDATEN, A.A. Realocação de nitrogênio e de biomassa para os grãos, em trigo submetido a inoculação de *Azospirillum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n.2, p.401-411, 2000.
- DOURADO NETO, D.; DARIO, G.J.A.; VIEIRA JÚNIOR, P.A.; MANFRON P.A.; MARTIN, T.N.; CARRÉRE, R.A.G.; CRESPO, P.E.N. Aplicação e influência do fitoregulador no crescimento das plantas de milho. **Revista da FZVA**, Uruguiana, v.11, n.1, p.1-9, 2004.
- ELANCHEZHIAN, R.; PANWAR, J.D.S. Effects of 2,4-D and *Azospirillum brasilense* on nitrogen fixation, photosynthesis and grain yield in wheat. **Journal of Agronomy and Crop Science**, Berlin, v.178, n.1, p.129-133, 1997.

- FIGUEIREDO, S.L.; PIVETTA, L.G.; FANO, A.; MACHADO, F.R.; GUIMARÃES, V.F. Comportamento de genótipos de soja submetidos a déficit hídrico intenso em casa de vegetação. **Revista Ceres**, Viçosa, v.58, n.3, p.342-349, 2011.
- GITTI, D.C.; ARF, O.; PORTUGAL, J.R.; CORSINI, D.C.; RODRIGUES, R.A.F.; KANEKO, F.H. Coberturas vegetais, doses de nitrogênio e inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense* em arroz de terras altas no sistema plantio direto. **Bragantia**, Campinas, v.71, n.4, p.509-517, 2012.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; SOUZA, E.M.; PEDROSA, F.O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant Soil**, Crawley, v.331, n.3, p.413-425, 2010.
- HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasiliense***: inovação em rendimento a baixo custo. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 20p.
- MOREIRA, F.M.S.; SILVA, K.; NÓBREGA, R.S.A.; CARVALHO, F. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, Bom Jesus, v.1, n.2, p.74-99, 2010.
- MÜLLER, T.M.; SANDINI, I.E.; RODRIGUES, J.D.; NOVAKOWSKI, J.H.; BASI, S.; KAMINSKI, T.H. Combination of inoculation methods of *Azospirillum brasilense* with broadcasting of nitrogen fertilizer increases corn yield. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.46, n.2, 2016.
- PEREG-GERK, L., GILCHRIST, K., KENNEDY, I.R. Mutants with enhanced nitrogenase activity in hydroponic *Azospirillum brasilense*-wheat associations. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.66, p.2175-2184, 2000.
- QUADROS, P.D.; ROESCH, L.F.W.; SILVA, P.R.F.; VIEIRA, V.M.; ROEHRS, D.D.; CAMARGO, F.A.O. Desempenho agrônômico a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*. **Revista Ceres**, Viçosa, v.61, n.2, p.209-218, 2014.
- STANCHEVA, I.; DIMITROV, I.; KALOYANOVA, N.; DIMITROVA, A.; ANGELOV, M. Effects of inoculation with *Azospirillum brasilense* on photosynthetic enzyme activities and grain yield in maize. **Agronomie**, EDP Sciences, v.12, n.4, p.319-324, 1992.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 848p.
- TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S.J. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2. ed. Porto Alegre, Departamento de Solos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 174p. (Boletim Técnico de Solos, 5).
- TURNER, N.C. Further progress in crop water relations. **Advances in Agronomy**, v.58, p.293-338, 1997.
- ZAWOZNIK, M.S.; AMENEIROS, M.; BENAVIDES, M.P.; VÁZQUEZ, S.; GROPPA, M.D. Response to saline stress and aquaporin expression in *Azospirillum*-inoculated barley seedlings. **Applied Microbiology Biotechnology**, Münster, v.90, n.4, p.1389-1397, 2011.