



UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS ERECHIM
CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - BACHARELADO

BRUNA MACEDO SIMÕES SERGIO

FOSFATO NATURAL REATIVO E MICRORGANISMOS
PROMOTORES DO CRESCIMENTO DE PLANTAS EM *Zea mays* L.
CULTIVADO SOB DÉFICIT HÍDRICO: MECANISMOS BIOQUÍMICOS.

ERECHIM

2024

BRUNA MACEDO SIMÕES SERGIO

**FOSFATO NATURAL REATIVO E MICRORGANISMOS PROMOTORES
DO CRESCIMENTO DE PLANTAS EM *Zea mays* L. CULTIVADO SOB
DÉFICIT HÍDRICO: MECANISMOS BIOQUÍMICOS.**

Projeto de pesquisa apresentado ao curso de Ciências Biológicas - Bacharelado, da Universidade Federal da Fronteira Sul como requisito parcial para aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II.

Orientador (a): Dr^a Denise Cargnelutti
Orientador (a): Dr. Alfredo Castamann.

ERECHIM

2024

BRUNA MACEDO SIMOES SERGIO

**FOSFATO NATURAL REATIVO E MICRORGANISMOS PROMOTORES
DO CRESCIMENTO DE PLANTAS EM *Zea mays* L. CULTIVADO SOB
DÉFICIT HÍDRICO: MECANISMOS BIOQUÍMICOS.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Ciências Biológicas - Bacharelado da
Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS),
como requisito parcial para obtenção do título de
Bacharel em Ciências Biológicas.

Este trabalho foi defendido e aprovado pela banca em 28/06/2024

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **DENISE CARGNELUTTI**
Data: 05/07/2024 16:00:53-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^ª. Dra. Denise Cargnelutti - Universidade Federal da Fronteira Sul
Orientadora

Prof. Dr. Alfredo Castamann - Universidade Federal da Fronteira Sul
Co-orientador

Prof. Dr. Yugo Lima Melo - Universidade Federal da Fronteira Sul
Avaliador

Prof^ª. Dra. Helen Treichel - Universidade Federal da Fronteira Sul
Avaliadora

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Sergio, Bruna Macedo Simoes

FOSFATO NATURAL REATIVO E MICRORGANISMOS PROMOTORES
DO CRESCIMENTO DE PLANTAS EM Zea mays L. CULTIVADO SOB
DÉFICIT HÍDRICO: MECANISMOS BIOQUÍMICOS. / Bruna Macedo
Simoes Sergio. -- 2024.

31 f.

Orientadora: Doutora Denise Cargnelutti

Co-orientador: Doutor Alfredo Castamann

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Bacharelado em Ciências Biológicas, Erechim, RS, 2024.

1. milho. 2. microrganismos promotores de crescimento
de plantas. 3. déficit hídrico. 4. ERO. I. Cargnelutti,
Denise, orient. II. Castamann, Alfredo, co-orient. III.
Universidade Federal da Fronteira Sul. IV. Título.

Elaborada pelo sistema de Geração Automática de Ficha de Identificação da Obra pela UFFS
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família, especialmente a Andresa, Wilma, Priscila, Emerson, Zurita, Gabriel e Dalton. Vocês sempre acreditaram em mim e me apoiaram ao longo de minha trajetória, tanto de vida como universitária, incentivando-me de todas as maneiras a ser não apenas uma excelente profissional, mas também a crescer como ser humano. Agradeço profundamente por tudo o que fizeram por mim até hoje; sem vocês, eu não seria nada e não chegaria aonde estou hoje.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero agradecer a minha família por sempre me apoiar e cuidar de mim mesmo longe, e me proporcionar realizar uma das maiores loucuras que já vivenciei: morar sozinha em outro estado e realizar o sonho de me tornar uma bióloga. Vocês me deram todo o suporte do mundo que eu precisava para ter forças para chegar aonde estou hoje. Amo vocês! Agradeço também ao Eyko Nathan, que além de ser meu parceiro de laboratório e bolsas de pesquisa, é o meu parceiro de vida desde o primeiro dia que chegou em Erechim, em 2021, no início da nossa graduação, e que me apoia e está comigo até hoje, me proporcionando muitos ensinamentos, conhecimento e suporte. Obrigada por todo o amor, carinho e por dividir a vida comigo. Te amo!

Aos meus amados amigos e à equipe do laboratório, agradeço por tornarem tudo mais leve e por sempre me apoiarem ao longo da nossa trajetória na graduação. Vocês foram essenciais durante minhas pesquisas e estarão sempre em meu coração. Obrigada por todas as risadas, momentos divertidos, rolês gastronômicos e momentos difíceis juntos. Em especial, agradeço aos meus amigos e amigas, e colegas de laboratório Giulia, Raquel, Amanda, Eduarda, Kathy, Júlia, Lavynia, Lucas, Gabriel, Nandra, Douglas, Michele, Samuel, Suelen, Vinicius e Kitsune. Espero que no final da nossa graduação, nos encontremos de novo.

Meus mais sinceros agradecimentos à minha orientadora de bolsa de pesquisa e TCC, professora e doutora Denise Cargnelutti. Obrigada por me proporcionar as oportunidades que vivenciei até aqui, te admiro muito como pesquisadora e principalmente como a pessoa iluminada que é. Fica guardado no meu coração momentos incríveis ao lado da sra. Você foi a pessoa que me apresentou o mundo totalmente enriquecedor que é a bioquímica. Foi a orientadora que me acolheu dentro e fora dos muros da universidade, que me ensinou grande parte do que sei hoje pois além de tudo, ainda foi minha professora em diferentes disciplinas. Obrigada por tudo!

Ao meu querido professor e co-orientador do presente trabalho de conclusão de curso, professor e doutor Alfredo Castamann. Suas orientações e ensinamentos foram fundamentais para o meu crescimento tanto pessoal quanto profissional. Além disso, sou imensamente grata pela sua orientação em meu projeto de pesquisa, que não apenas ampliou meu conhecimento na área, mas também me preparou melhor para os desafios futuros. Obrigado por compartilhar seu conhecimento, experiência e paixão pela disciplina, você é um ser humano iluminado, Alfredo!

Agradeço a professora e doutora Sandra Maziero por todo o apoio com a parte estatística deste trabalho, seus ensinamentos foram essenciais para a conclusão deste trabalho.

Agradeço ao professor e doutor Yugo Lima Melo por aceitar ser parte da minha banca avaliadora, contribuindo de forma significativa para este trabalho tão importante para mim.

Agradeço à instituição Universidade Federal da Fronteira Sul pela formação de profissionais qualificados e pelo corpo docente excepcional, além de seu contínuo estímulo à pesquisa e inovação. A universidade tem proporcionado a mim e a muitos estudantes bolsas de iniciação científica e tecnológica, incentivando o desenvolvimento acadêmico e científico.

Por fim e não menos importante, agradeço também ao CAPA (Centro de Apoio e Promoção da Agroecologia) de Erechim- RS por me proporcionar as sementes de milho crioulo utilizadas nesta pesquisa.

SUMÁRIO

1.RESUMO.....	4
2.ABSTRACT.....	5
3.INTRODUÇÃO.....	5
4.OBJETIVOS.....	7
5.METODOLOGIA	8
6.RESULTADOS	11
7.CONCLUSÃO.....	25
8.REFERÊNCIAS.....	27

FOSFATO NATURAL REATIVO E MICRORGANISMOS PROMOTORES DO CRESCIMENTO DE PLANTAS EM *Zea mays* L. CULTIVADO SOB DÉFICIT HÍDRICO: MECANISMOS BIOQUÍMICOS.

Bruna Macedo Simões Sergio

RESUMO: O Rio Grande do Sul é diretamente afetado pelo clima Amazônico que traz massas de ar que geram secas ou chuvas. O fosfato natural é uma fonte alternativa de fósforo, elemento essencial para as plantas, utilizada em agricultura orgânica e agroecologia. A Mata Atlântica, que no Rio Grande do Sul é predominante na região nordeste, guarda em seu solo grande quantidade de carbono que, com o aumento das temperaturas, tende a diminuir pela decomposição, aumentando a emissão de dióxido de carbono. Além disso, o milho é muito sensível ao estresse causado pela falta de água que leva a desequilíbrios tanto no crescimento quanto nos processos bioquímicos e fisiológicos da planta, e o fosfato natural é uma fonte alternativa de fósforo, elemento essencial para as plantas que fornece benefícios como promover um crescimento mais robusto das raízes, auxilia na correção do pH do solo, aumenta a disponibilidade de nutrientes essenciais para as plantas e melhora a resistência das plantas em condição de estresse hídrico. O presente estudo teve por objetivo avaliar o efeito da aplicação de fosfato natural reativo e microrganismos promotores do crescimento de plantas (MPCP) no cultivo de milho (*Zea mays* L.) sob condições de déficit hídrico. Os experimentos foram realizados em casa de vegetação. As plantas foram cultivadas em vasos e submetidas ou não ao déficit hídrico (50% da capacidade de pote – 50% CP, e 100% da capacidade de pote – 100% CP, respectivamente) por 16 dias após a semeadura (DAS) associado a diferentes combinações de MPCP e fosfato natural. Aos 35 DAS, as plantas foram coletadas e analisadas quanto à atividade enzimática antioxidante através da guaiacol peroxidase, (GPOD), conteúdo de prolina, quantificação de proteínas totais e peroxidação lipídica (TBARS). Os resultados do presente estudo mostraram que os níveis de proteínas das raízes foram incrementados em plantas expostas ou não ao déficit hídrico, para todos os tratamentos utilizados, quando comparado com a média dos tratamentos controle (média entre 100% e 50% CP). Além disso, os valores médios de proteínas das raízes observados para a condição de déficit hídrico foram superiores (4.75 mg mL^{-1}), quando comparado com plantas não submetidas ao déficit (13.59 mg mL^{-1}). Em plantas cultivadas sob déficit hídrico (50% CP), os níveis da atividade de GPOD foram incrementados com a aplicação de todos os bioinsumos. Além disso, um incremento da atividade de GPOD em folhas de *Z. mays* também foi observado para tais tratamentos em plantas submetidas ao déficit hídrico quando comparadas com plantas

tratadas com 100% CP. Para os níveis de prolina em 100% CP, o tratamento que resultou em maior acúmulo foi o fosfato natural reativo e Biomaphos (FNR+BsBm), porém, na restrição hídrica (50% CP), BsBm foi o tratamento que mais induziu acúmulo de prolina nas folhas, sendo 3,7 vezes maior quando comparado com o tratamento controle (50% CP, sem bioinsumo). Os maiores níveis de TBARS foram observados em folhas de *Z. mays* no tratamento controle, *Azospirillum*, BsBm ou FNR+BsBm de plantas submetidas a 100% CP quando comparado com os mesmos tratamentos de plantas submetidas ao déficit hídrico (50% CP). Em raízes, foi possível observar uma diferença entre as médias dos tratamentos entre 100% e 50% CP, sendo a primeira 1,4 vez maior do que a segunda. Portanto, o uso de fosfato natural e MPCP oferecem uma abordagem sustentável e eficiente para mitigar os efeitos do déficit hídrico em milho, proporcionando tecnologias acessíveis e de baixo custo para os agricultores, especialmente importante em face das mudanças climáticas e redução das precipitações.

Palavras-chaves: milho, déficit hídrico, microrganismos promotores de crescimento de plantas, ERO.

Abstract: The state of Rio Grande do Sul in Brazil is directly influenced by the Amazon climate, which brings air masses that generate either droughts or rainfall. Natural phosphate serves as an alternative source of phosphorus, an essential element for plants, commonly used in organic agriculture and agroecology. The Mata Atlântica (Atlantic Forest), predominantly found in the northeastern region of Rio Grande do Sul, stores a significant amount of carbon in its soil. However, with rising temperatures, decomposition processes may reduce this carbon storage, leading to increased carbon dioxide emissions. Additionally, corn (*Zea mays* L.) is highly sensitive to water stress, which disrupts both growth and biochemical processes in the plant. Natural phosphate provides an alternative phosphorus source, promoting robust root growth, aiding soil pH correction, enhancing nutrient availability, and improving plant resilience under water stress conditions. The objective of this study was to evaluate the effects of applying reactive natural phosphate and plant growth-promoting microorganisms (MPCP) during corn cultivation under water deficit conditions. Greenhouse experiments were conducted, with plants grown in pots and subjected to either 50% or 100% of pot capacity (50% CP and 100% CP, respectively) for 16 days after sowing. Different combinations of MPCP and natural phosphate were applied. At 35 days after sowing, plant samples were collected and analyzed for antioxidant enzyme activity (guaiacol peroxidase, GPOD), proline content, total protein quantification, and lipid peroxidation

(TBARS). The study results revealed that root protein levels increased in plants exposed to water deficit, regardless of the treatments used, compared to the average of control treatments (averaged between 100% CP and 50% CP). Furthermore, root protein levels were higher (4.75 mg mL⁻¹) under water deficit conditions than in non-stressed plants (13.59 mg mL⁻¹). In corn plants subjected to water deficit (50% CP), GPOD activity increased with the application of all bioinputs. Additionally, GPOD activity in *Z. mays* leaves was higher for these treatments compared to plants treated with 100% CP. Regarding proline levels at 100% CP, the treatment resulting in the highest accumulation was reactive natural phosphate combined with Biomaphos (FNR+BsBm). However, under water restriction (50% CP), BsBm induced the greatest proline accumulation in leaves, being 3.7 times higher than the control treatment (50% CP without bioinput). The highest TBARS levels were observed in *Z. mays* leaves in the control treatment, as well as in plants treated with *Azospirillum*, BsBm, or FNR+BsBm under 100% CP, compared to the same treatments under water deficit conditions (50% CP). In roots, there was a difference in mean values between 100% CP and 50% CP, with the former being 1.4 times higher than the latter. In conclusion, the use of natural phosphate and MPCP offers a sustainable and efficient approach to mitigate the effects of water deficit in corn, providing accessible and cost-effective technologies for farmers, especially in the context of climate change and reduced precipitation.

Keywords: Maize, water deficit, plant growth-promoting microorganisms, ROS.

1. INTRODUÇÃO

A água é um elemento essencial para a vida e seu surgimento que se supõe ter originado dos oceanos e migrado para terra (local mais sujeito a estresses) ao longo da evolução das espécies (PIMENTEL, [s.d.]). Compõe grande parte do conteúdo celular de plantas herbáceas podendo chegar a 95%, sendo o aumento do conteúdo de água de sementes e plantas em desenvolvimento essencial para o crescimento e desenvolvimento vegetativo. Ademais, é na água (devido sua capacidade de solubilização, por isso chamada de solvente universal) que ocorre a difusão de minerais, solutos celulares e gases, nas células e nos órgãos da planta (RAMOS, 2022). As características físico-químicas da água como adesão, coesão e tensão, permitem também a translocação de minerais por um gradiente de pressão e translocação de solutos pelo gradiente de potencial hídrico.

Para regiões tropicais e subtropicais a desregulamentação dos períodos das estações leva a grandes perdas, devido às variações bruscas, gerando uma grande vulnerabilidade do sistema de produção atual (NOBRE, 2001). O Rio Grande do Sul é diretamente afetado pelo clima Amazônico que traz massas de ar que geram secas ou chuvas. Um dos efeitos gerados com o desmatamento da Amazônia são de redução da evapotranspiração que provocam o fenômeno El Niño mais intenso, desencadeado pelo aumento de temperatura e diminuição da umidade (Morengo e Soares, 2001). A Mata Atlântica, que no Rio Grande do Sul é predominante na região nordeste, guarda em seu solo grande quantidade de carbono que, com o aumento das temperaturas, tende a diminuir pela decomposição, aumentando a emissão de dióxido de carbono. O nitrogênio fixado também é muito sensível às mudanças climáticas e ao estresse hídrico (PBMCI, 2015).

O milho (*Zea mays* L.) é uma cultura de extrema importância no Brasil e no mundo, pois possui relevância no aspecto de segurança alimentar, na alimentação humana e principalmente, animal (CONTINI et al., 2019) sendo uma das principais fontes de renda dos agricultores familiares, como mostra o boletim de safra brasileira no ano de 2023 (Conab, 2023). O milho é muito sensível ao estresse causado pela falta de água que leva a desequilíbrios tanto no crescimento quanto nos processos bioquímicos e fisiológicos, fenômenos estes que ocasionam drásticas reduções na produtividade (MOUSSA et al., 2019). Além disso, os solos agrícolas, de modo geral, apresentam teores totais de P variando de 200 a 3.000 mg dm⁻³, porém, menos de 0,1% dessas reservas encontra-se disponível às plantas (ESTRELLA, 2016). Na agricultura tropical, geralmente aplicam-se adubos fosfatados em quantidades muito superiores às necessidades das plantas (JOHNSTON 2014). O fosfato natural é uma fonte alternativa de fósforo, elemento essencial para as plantas, utilizada em agricultura orgânica e

agroecologia.

Dentre as alternativas para o cultivo de plantas sob condições de estresse está o uso de amenizadores, tais como os microrganismos. Marulanda e cols. (2009) relatam que as atividades microbianas de cepas adaptadas representam um efeito positivo no desenvolvimento da planta sob condições de seca. A ativação de enzimas e a síntese de proteínas podem ser otimizadas graças à utilização desses microrganismos (Talaat, 2014). Assim, a busca por microrganismos novos e eficientes, oriundos de ambientes inexplorados, a serem utilizados em associação com plantas para amenizar os efeitos negativos impostos pelo estresse hídrico, é uma alternativa interessante (KAVAMURA et al., 2013). Bactérias do gênero *Bacillus* e *Azospirillum* são conhecidas como rizobactérias (Meena et al., 2017) e comercializadas como inoculantes para culturas agrícolas, como milho, feijão, cana-de-açúcar (Vejan et al., 2016) atuando como bioinsumos altamente eficientes.

Todos estes efeitos negativos que ocorrem na planta proveniente do estresse, seja pela deficiência de água ou de nutrientes essenciais, tal como o fósforo, podem induzir a produção aumentada de espécies reativas de oxigênio (ERO). Tais espécies são produzidas naturalmente nas células vegetais, as quais possuem um sistema de defesa antioxidante enzimático e não enzimático capaz de remover eficientemente estes oxidantes. Porém, em uma situação de estresse abiótico, tal produção de ERO é aumentada e o sistema de defesa antioxidante da planta pode não ser eficiente o suficiente para remover o excesso destas espécies, situação essa que coloca a planta em uma condição de estresse oxidativo, com danos às biomoléculas, tais como lipídios, DNA e proteínas (BARBOSA et al., 2010).

Deste modo, o uso de microrganismos e a aplicação de fontes naturais de fósforo podem ser benéficas para as plantas quando elas forem expostas a situações de déficit hídrico, pois os microrganismos podem atuar na produção de hormônios vegetais, tal como as auxinas, e enzimas, as quais atuam na promoção do crescimento de plantas e na resiliência a estresses (BUENO, 2023). Além disso, o uso de fontes alternativas de fosfato, tal como o fosfato natural, possui relevância tendo em vista que tais fertilizantes fosfatados são importados e apresentam custos altos para os produtores.

Assim, este projeto de pesquisa poderá contribuir com a comunidade científica e agricultores através da disponibilização de tecnologias acessíveis e sustentáveis a qual será útil no cenário atual, tendo em vista as precipitações irregulares em função das mudanças climáticas.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais:

Avaliar o efeito da aplicação de microrganismos promotores do crescimento de plantas no manejo de *Zea mays* L. crescendo sob condições de déficit hídrico.

2.2 Objetivos específicos:

Avaliar o comportamento do sistema antioxidante de plantas de *Zea mays* submetidas ao fosfato natural e aos microrganismos promotores do crescimento de plantas; determinar os níveis de estresse oxidativo de plantas de *Zea mays* expostas aos tratamentos usando fosfato natural e microrganismos promotores do crescimento de plantas através da análise da peroxidação lipídica; avaliar se os tratamentos estão envolvidos em aumentar a resistência de plantas cultivadas contra o déficit hídrico.

3. METODOLOGIA

Os ensaios foram desenvolvidos no Laboratório de Microscopia, laboratório de Entomologia e Bioquímica e na casa de vegetação da Universidade Federal da Fronteira Sul, campus de Erechim. Os experimentos foram conduzidos em vasos utilizando o delineamento inteiramente casualizado, com 5 repetições por tratamento (Tabela 1.). Foram utilizadas sementes de milho de variedades crioulas obtidas junto ao Centro de Apoio e Promoção da Agroecologia: CAPA – Erechim, RS (Número de registro no SISGEN: A5A4971). As sementes foram colocadas em vasos contendo 8 L de substrato mais solo (solo + composto orgânico + areia, na proporção 1:1:1), sendo colocadas 3 sementes por vaso e após 15 dias foi realizado raleio, mantendo-se uma planta por vaso.

Tabela 1. Tratamentos utilizados na pesquisa.

Tratamentos	100% CP	50% CP
Controle	Controle (100% CP)	Controle (50% CP)
<i>Az</i>	<i>Azospirillum</i> , 100% CP	<i>Azospirillum</i> , 50% CP
EM	EM 1:500, 100% CP	EM 1:500, 50% CP
<i>BsBm</i>	BiomaPhos, 100% CP	BiomaPhos, 50% CP
FNR+ <i>Az</i>	Fosfato+ <i>Azospirillum</i> , 100% CP	Fosfato+ <i>Azospirillum</i> , 50% CP
FNR+ <i>BsBm</i>	Fosfato+BiomaPhos, 100% CP	Fosfato+BiomaPhos, 50% CP
FNR+EM	Fosfato+EM 1:500, 100% CP	Fosfato+EM 1:500, 50% CP

A capacidade de pote (CP) foi determinada admitindo-se o peso do solo saturado com água por capilaridade mais a massa do vaso. Para os vasos induzidos a 50% de restrição hídrica, foi retirado metade do peso do solo saturado com água que foi determinado para os vasos de 100% CP. Os potes sem as plantas foram pesados com intervalo de dois dias, para conhecer a quantidade de água evapotranspirada, sendo previamente conhecida a massa dos vasos que contém plantas e dos que não contém plantas. A reposição da água evapotranspirada no período foi realizada com uso de regador manual, mantendo-se os vasos próximos à capacidade de pote para o tratamento controle (100% CP) e omitindo-se a irrigação em 50% para o tratamento de indução de déficit hídrico (50% CP). As plantas foram submetidas ao déficit hídrico 16 dias após a semeadura (DAS) as quais permaneceram nesta condição até a colheita. Os tratamentos foram determinados a partir da definição em laboratório da capacidade de retenção de água do substrato, da densidade do substrato, do volume dos sólidos e dos poros, do volume do substrato em cada pote e do espaço de aeração.

Os MPCP utilizados nesta pesquisa foram obtidos e capturados de acordo com as normas do Ministério da Agricultura da Pecuária e Abastecimento, por meio das Fichas Agroecológicas (Leite *et al.*, 2016; Santiago *et al.*, 2022) na área experimental da UFFS, Campus Erechim (Número de registro no SISGEN: A5A4971). Os microrganismos, *Azospirillum* (Cepas ABV5/ABV6) e BiomaPhos (Cepa BRM 2084) e/ou os MPCP, na forma de solução diluída (1:500) foram aplicados em tratamento de sementes e borrifados 4 mL por vaso na planta e no solo. As aplicações dos microrganismos foram semanais, realizadas sempre no período da tarde e se estenderam até os 35 DAS. No tratamento controle foi borrifada apenas água. O fosfato natural na dose de 75 g por vaso foi incorporado ao substrato no momento da preparação do mesmo para o cultivo das plantas. A dose de fosfato natural foi calculada com base na análise de solo.

Aos 35 DAS, as plantas foram coletadas para as determinações bioquímicas, as quais foram gentilmente lavadas em água destilada. O excesso de água foi removido com papel toalha e então divididas em folhas e raízes, as quais foram imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas a -80 °C.

Para determinar a atividade da enzima guaiacol peroxidase (GPOD), as amostras frescas de raízes e folhas de *Z. mays* foram usadas para os ensaios enzimáticos. Um grama de tecido fresco foi homogeneizado em 3 mL de tampão fosfato de sódio (pH 7,8) 0,05 M, contendo 1 mM de EDTA e 2% (w/v) de polivinilpirrolidona (PVP). O

homogeneizado foi centrifugado a 13.000 x g por 20 minutos a 4 °C e o sobrenadante foi usado para a determinação da atividade da enzima antioxidante. A atividade das peroxidases não específicas presentes no extrato foi determinada segundo Zeraik et al. (2008), utilizando-se o guaiacol como substrato.

Para a mensuração do conteúdo de prolina foi utilizado o procedimento descrito por Bates et al. (1973), em que 0,4 g de folhas foram homogeneizadas em 4 mL de ácido sulfosalicílico 10% e centrifugado a 5000 x g à 4 °C durante 20 minutos. A mistura de reação foi composta por 1 mL de sobrenadante, 1 mL de solução ácida de ninhidrina (composta por ácido acético-glacial, ácido fosfórico 6 M e ninhidrina) e 1 mL de ácido acético glacial. Esta mistura foi incubada a 100 °C por 1 hora e resfriada em banho de gelo. Foi adicionado 1 mL de tolueno seguido de agitação em vortex durante 20 segundos. A fase contendo o tolueno foi aspirada e utilizada para leitura à 520 nm.

A concentração de proteínas solúveis foi determinada utilizando-se o método de Bradford (1976), fazendo-se o uso da albumina sérica bovina como padrão. Os resultados obtidos para os níveis de proteínas foram expressos em mg mL^{-1} proteína.

As análises de peroxidação de lipídios da membrana (TBARS) foi estimado seguindo o método de El-Moshaty et al. (1993). Amostras frescas de raízes e folhas (1 g) foram maceradas em nitrogênio líquido e homogeneizadas em 10 mL de 0,2 M de tampão citrato (pH 6,5) contendo 0,5% de Triton X-100. O homogeneizado foi centrifugado por 15 minutos a 20.000 x g. Um mL do sobrenadante foi adicionado a 1 mL de ácido tricloroacético 20% (w/v) contendo 0,5% (w/v) de ácido tiobarbitúrico. A mistura foi aquecida a 95 °C por 40 min e então resfriada por 15 min, centrifugada a 5.000 x g por 15 min. A absorbância do sobrenadante foi lida a 532 e 600 nm (para corrigir a turbidez não específica). A peroxidação lipídica foi expressa como nmol MDA mg^{-1} de proteína.

Os dados foram submetidos à análise de variância (teste *F*) e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software genes e as análises de correlações foram obtidas por meio do software GraphPad Prism 10.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.

Os dados do presente estudo mostraram interação estatisticamente significativa entre o déficit hídrico e os bioinsumos para as variáveis concentração de proteína das folhas, atividade da guaiacol peroxidase (GPOD) de folhas e raízes, peroxidação lipídica (TBARS) de folhas e concentração de prolina das folhas de *Zea mays* L. expostas ou não ao déficit hídrico e tratado com os bioinsumos (Tabela 02). Além disso, o efeito de tratamento e déficit hídrico foi observado para a concentração de proteínas e peroxidação lipídica em raízes de *Z. mays*.

Tabela 02 - Resumo da análise de variância ANOVA (Fatorial seguindo delineamento inteiramente casualizado) para as variáveis proteína, atividade da enzima Guaiacol Peroxidase (GPOD), peroxidação lipídica (TBARS) de folhas e raízes, respectivamente e concentração de prolina de folhas, de *Zea mays* tratado com bioinsumos (*Az*, *Azospirillum*; *ME*, microrganismos eficientes; *BsBm*, *Bacillus subtilis* e *Bacillus megaterium*; *FNR + Az*, Fósforo natural reativo e *Az*; *FNR + BsBm*, Fósforo natural reativo mais *BsBm*; *FNR + ME*, Fósforo natural reativo e *ME*) ou não (*TC*, tratamento controle) e cultivado na presença (Capacidade de pote 50%) ou não (CP 100%) de restrição hídrica.

Fonte de variação	Quadrados Médios							
	GL	Proteína		GPOD		TBARS		Prolina
		(mg mL ⁻¹)		(μmol de tetraguaiacol min ⁻¹ mg ⁻¹) proteína		(nmol MDA g ⁻¹ MF)		(mmol g ⁻¹ MF)
		Folhas	Raízes	Folhas	Raízes	Folha	Raízes	Folhas
Bioinsumos (B)	6	0.0568*	50.894*	1453169.76*	98362.204*	2.16*	0.16*	25.80*
Déficit hídrico (DH)	1	0.0029 ^{ns}	819.998*	2738056.79*	427357.946*	17.40*	3.13*	0.21 ^{ns}
B x DH	6	0.1078*	0.1154 ^{ns}	2388009.94*	81612.619*	3.74*	0.11 ^{ns}	26.52*
Resíduo	28	0.0174	0.1061	24126.82	2128.601	0.65	0.04	2.98
Média geral		0.548	9.167	712.133	150.502	7.23	1.73	5.22
CV (%)		24.056	3.554	21.81	30.65	11.15	12.75	33.06

* e ns: Significativo e não significativo, respectivamente, a 5% de probabilidade pelo teste de *F*.

No desdobramento da análise de variância, o teste de médias (Tukey, $p \leq 0.05$) mostrou que plantas tratadas com ME e expostas a 100% CP apresentaram teores de

proteínas duas vezes menores quando comparado ao tratamento controle (100% CP) bem como quando comparado com *Z. mays* tratado com ME e exposto ao déficit hídrico (50% CP) (Tabela 03). A redução das médias de proteínas solúveis pode ser atribuída ao aumento da atividade de enzimas proteolíticas, responsáveis pela degradação das proteínas de reserva das plantas (Carvalho et al., 2007; Xiong et al., 2002). Por outro lado, em relação às proteínas das raízes foi observado um incremento para a média de plantas expostas ou não ao déficit hídrico, para todos os tratamentos utilizados, quando comparado com a média dos tratamentos controle (média entre 100% e 50% CP) (Tabela 03). Tais dados sugerem que todos os tratamentos incrementaram os níveis de proteínas das raízes de *Z. mays* expostas ou não ao déficit hídrico. Durante o ciclo da cultura do milho, as plantas podem ser submetidas ou não ao déficit hídrico, logo, tais tratamentos seriam benéficos em ambas as condições. Além disso, as análises do desdobramento para a condição DH mostraram valores médios superiores para a concentração de proteínas de raízes em plantas expostas ao déficit hídrico (4.75 mg mL^{-1}), quando comparado com plantas não submetidas ao déficit (13.59 mg mL^{-1}) (Tabela 03), ou seja, a restrição hídrica induz alterações metabólicas em *Z. mays*, observadas inicialmente pela tradução de proteínas, possivelmente com função de defesa envolvidas em remover os oxidantes produzidos durante o estresse.

Tabela 03 – Efeito de interação entre as médias da variável, concentração de proteínas das folhas e raízes de *Zea mays* tratado com bioinsumos (Az, *Azospirillum*; ME, microrganismos eficientes; *BsBm*, *Bacillus subtilis* e *Bacillus megaterium*; FNR + Az, Fósforo natural reativo mais Az; FNR + *BsBm*, Fósforo natural reativo e *BsBm*; FNR + ME, Fósforo natural reativo e ME) ou não (TC, tratamento controle) e cultivado na presença (Capacidade de pote 50%) ou não (CP 100%) de restrição hídrica.

Bioinsumos	Proteína (mg mL^{-1})									
	Folhas					Raízes				
	100%			50%		100%	50%		$\bar{x}$	
									(100%:50%)	
TC	0.657	a	A	0.610	a	A	0.70	9.36	5.03	g
Az	0.477	ab	A	0.653	a	A	1.80	10.17	5.98	f
ME	0.310	b	B	0.637	a	A	3.78	12.59	8.19	e

<i>BsBm</i>	0.467	ab	A	0.580	a	A	4.88	14.13	9.51	d
FNR + <i>Az</i>	0.580	ab	A	0.687	a	A	6.57	15.45	11.01	c
FNR + <i>BsBm</i>	0.637	ab	A	0.120	b	B	7.32	16.19	11.75	b
FNR + ME	0.653	a	A	0.610	a	A	8.19	17.21	12.70	a
Média	0.580			0.610			4.75 B	13.59 A		
CV (%)	24.056						3.554			

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na horizontal dentro de cada condição/capacidade de pote, e minúscula na vertical dentro de cada condição Bioinsumos não diferem entre si pelo teste Tukey a 95% de confiança ($p \leq 0.05$).

Plantas expostas a estresses bióticos ou abióticos exibem mudanças na tradução proteica, podendo apresentar supressão ou estimulação da biossíntese de certos componentes (Ryan, 2000). Os microrganismos promotores do crescimento de plantas (MPCP) modulam a síntese proteica e ativam enzimas as quais destoxificam peróxidos em plantas estressadas, ajudando-as a responder adaptativamente e manter a homeostase celular (Joshi et al., 2019). Portanto, os dados do presente estudo mostraram que a aplicação dos MPCP associado ou não ao FNR tem impacto na concentração de proteínas solúveis em plantas sob diferentes condições hídricas, destacando o papel crucial dos bioinsumos na resposta adaptativa das plantas ao estresse hídrico. Tais dados sugerem que os bioinsumos melhoram a capacidade das plantas em manter a homeostase celular sob estresse. O aumento de 186% na concentração de proteínas solúveis nas raízes sob restrição hídrica reforça a hipótese de que a síntese proteica é intensificada para estabilizar membranas celulares e facilitar a sinalização associada ao estresse (Tester e Davenport, 2003). Portanto, a aplicação dos bioinsumos é uma estratégia eficaz para mitigar os efeitos negativos do estresse hídrico, promovendo uma resposta adaptativa robusta e eficaz em *Z. mays*.

Antioxidantes são mobilizados nas células vegetais como mecanismo de defesa contra os efeitos deletérios das espécies reativas de oxigênio (ERO), cujas concentrações tendem a aumentar sob variados estresses ambientais (Barbosa et al., 2010). Os sistemas de defesa antioxidante em plantas são classificados como enzimáticos e não enzimáticos e têm como objetivo manter a homeostase durante condições de estresse (SOARES et al., 2019; BHAT et al., 2022). Esses sistemas são

fundamentais para controlar as espécies reativas de oxigênio (ERO), que podem causar danos oxidativos a proteínas, lipídios, organelas, DNA e RNA (MITTLER, 2017; XING et al., 2023). A atividade antioxidante aumenta em plantas sob condições de estresse, como déficit hídrico, demonstrando que a resposta antioxidante favorece a capacidade das plantas de superar esses estresses e melhorar seu desempenho (BHAT et al., 2022; LAXA et al., 2019; NADARAJAH, 2020). Entre as enzimas envolvidas na degradação de ERO e que compõe o sistema de defesa antioxidante estão a catalase (CAT), a ascorbato peroxidase (APX), a superóxido dismutase (SOD), a guaiacol peroxidase (GPOD), entre outras (SOARES et al., 2019). As peroxidases, pertencentes ao grupo das oxidorreduções, catalisam diversas reações oxidativas em plantas, utilizando peróxido como substrato ou, em certos casos, oxigênio como aceptor de hidrogênio (Freitas et al., 2008).

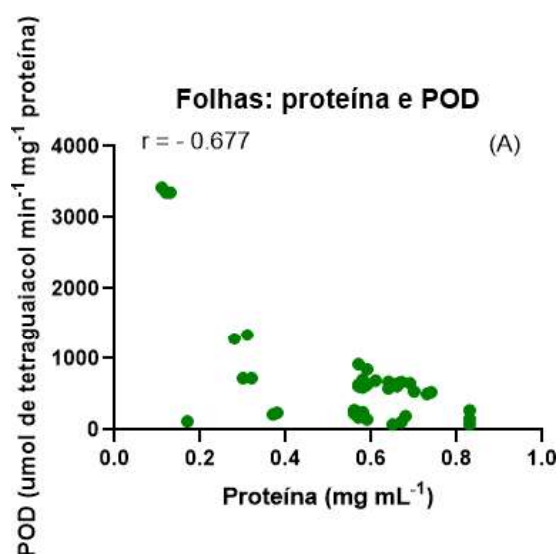
Os dados referentes ao desdobramento da atividade da GPOD estão ilustrados na tabela 04. Os tratamentos com *BsBm* ou FNR+Az ou FNR+ME induziram uma redução de aproximadamente 30% na atividade da enzima GPOD em folhas de *Z. mays* cultivado com 100% CP. Por outro lado, em plantas cultivadas sob déficit hídrico (50% CP) os níveis da atividade da GPOD foram incrementados com a aplicação de todos os bioinsumos, sendo o valor observado para o tratamento FNR+*BsBm* 29 vezes maior se comparado com o tratamento controle (50% CP). Isso indica que os bioinsumos aplicados melhoram a eficiência dos mecanismos de defesa antioxidante das plantas, induzindo redução da necessidade de alta atividade de GPOD de *Z. mays* cultivado sob condições ideais de irrigação e aumentando a atividade dessa enzima em condição de déficit hídrico. Por outro lado, sob condições de restrição hídrica, os bioinsumos incrementam a atividade da GPOD aumentando a capacidade de remoção dos oxidantes gerados durante o estresse. Tais dados não são corroborados nos níveis de proteínas (Tabela 03), as quais seguiram um padrão diferente daquele observado para a atividade da GPOD (Tabela 04). Além disso, as análises de correlação de Pearson mostraram correlações significativas negativas tanto entre GPOD e proteínas das folhas (-0.677) e raízes (-0.721) (Figura 01). Isso sugere que tais proteínas de raízes induzidas em situação de estresse hídrico, são outras proteínas de defesa antioxidante não determinadas neste estudo, tais como catalase e Ascorbato peroxidase.

Tabela 04 - Efeito de interação entre as médias da variável, atividade da enzima Guaiacol Peroxidase – GPOD – das folhas e raízes de *Zea mays* tratado com bioinsumos (Az, *Azospirillum*; ME, microrganismos eficientes; *BsBm*, *Bacillus subtilis* e *Bacillus megaterium*; FNR + Az, Fósforo natural reativo e Az; FNR +

BsBm, Fosfato natural reativo mais *BsBm*; FNR + ME, Fosfato natural reativo e ME) ou não (TC, tratamento controle) e cultivado na presença (Capacidade de pote 50%) ou não (CP 100%) de restrição hídrica.

Bioinsumos	GPOD											
	(μmol de tetraguaiacol min ⁻¹ mg ⁻¹ proteína)											
	Folhas						Raízes					
	100%			50%			100%			50%		
TC	618.13	ab	A	117.12	c	B	766.72	a	A	70.67	a	B
<i>Az</i> ¹	846.12	a	A	606.43	b	A	355.97	b	A	60.37	a	B
ME	928.19	a	A	592.67	b	B	183.42	c	A	53.04	a	B
<i>BsBm</i>	176.43	c	B	784.99	b	A	145.02	cd	A	43.66	a	B
FNR + <i>Az</i>	214.02	c	B	610.27	b	A	112.73	cd	A	41.40	a	B
FNR + <i>BsBm</i>	174.57	c	B	3372.78	a	A	109.31	cd	A	39.93	a	B
FNR + ME	240.18	bc	B	687.96	b	A	86.45	d	A	38.34	a	A
CV (%)	21.81						30.64					

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na horizontal dentro de cada condição/capacidade de pote, e minúscula na vertical dentro de cada condição Bioinsumos não diferem entre si pelo teste Tukey a 95% de confiança ($p \leq 0.05$).



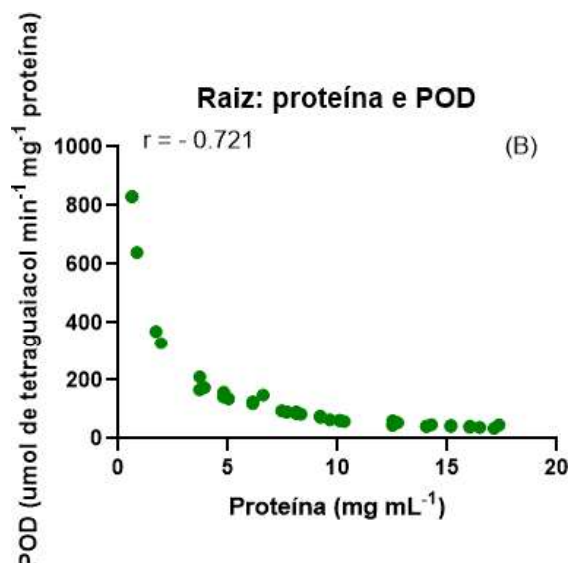


Figura 01. Análises de correlação de Pearson entre as concentrações de proteínas e atividade da enzima guaiacol peroxidase (POD) das folhas (A) e raízes (B) de *Zea mays* tratado com bioinsumos (Az, *Azospirillum*; ME, microrganismos eficientes; *BsBm*, *Bacillus subtilis* e *Bacillus megaterium*; FNR + Az, Fosfato natural reativo e Az; FNR + *BsBm*, Fosfato natural reativo mais *BsBm*; FNR + ME, Fosfato natural reativo e ME) ou não (TC, tratamento controle) e cultivado na presença (Capacidade de pote 50%) ou não (CP 100%) de restrição hídrica.

Nesta linha, antioxidantes não enzimáticos e osmólitos são produzidos pelas plantas como parte do processo de defesa e remoção dos oxidantes danosos aos componentes celulares produzidos durante o estresse hídrico. Dentre os antioxidantes está a prolina, um aminoácido que além de antioxidante possui propriedades de osmoproteção. A prolina desempenha um papel vital nas plantas expostas a estresses extremos, como seca e salinidade e atua como um dos principais constituintes das proteínas da parede celular, conferindo resistência devido à sua estrutura. Seu grupo α -amino é uma amina secundária que proporciona rigidez conformacional excepcional às proteínas, fundamentais no processo de lignificação dos ramos (Kishor et al., 2015), além de atuar no ajustamento osmótico e favorecer o aumento da tolerância na planta quando expostas a certos níveis de estresse, como o déficit hídrico (Turkan, 2011; Taiz; Zeiger, 2013).

Tabela 05 -Efeito de interação entre as médias da variável concentração de prolina de folhas de *Zea mays* tratado com bioinsumos (Az, *Azospirillum*; ME, microrganismos eficientes; *BsBm*, *Bacillus subtilis* e *Bacillus megaterium*; FNR + Az, Fosfato natural reativo mais Az; FNR + *BsBm*, Fosfato natural reativo e *BsBm*; FNR + ME, Fosfato natural reativo e ME) ou não (TC, tratamento controle) e cultivado na presença (Capacidade de pote 50%) ou não (CP 100%) de restrição hídrica.

Bioinsumos	Prolina					
	(mmol g ⁻¹ MF)					
	100%			50%		
TC	3.46	b	A	3.45	b	A
<i>Az</i> ¹	4.45	b	A	5.88	b	A
ME	6.12	ab	A	4.83	b	A
<i>BsBm</i>	5.48	ab	B	12.68	a	A
FNR + <i>Az</i>	5.07	b	A	3.57	b	A
FNR + <i>BsBm</i>	9.74	a	A	2.78	b	B
FNR + ME	2.75	b	A	2.86	b	A
CV (%)	33.06					

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na horizontal dentro de cada condição/capacidade de pote, e minúscula na vertical dentro de cada condição Bioinsumos não diferem entre si pelo teste Tukey a 95% de confiança ($p \leq 0.05$). ^{ns} Não significativo pelo mesmo teste.

A interação entre as médias da concentração de prolina em folhas de *Zea mays* tratadas com bioinsumos, cultivadas sob condições de restrição hídrica ou não, é evidenciada na Tabela 05. Os resultados do presente estudo mostraram que, nos tratamentos com 100% CP, a variação na concentração de prolina em relação ao tratamento controle (TC) foram significativas apenas no tratamento utilizando FNR+*BsBm* como bioinsumo (2,8 vezes maior quando comparado com o tratamento controle). Sob condições de estresse hídrico (50% CP), o tratamento *BsBm* foi o único a apresentar significância, com um aumento de 266% na concentração de prolina em comparação com o tratamento controle (Tabela 05). Em relação às condições (100% e 50% CP) impostas às plantas, observou-se que os tratamentos com *BsBm* e FNR+*BsBm* foram significativos. Por outro lado, o tratamento com FNR+*BsBm* induziu um incremento na concentração de prolina livre em plantas submetidas a 100% CP quando comparado com o mesmo tratamento a 50% CP (Tabela 05). O acúmulo de prolina é mais visível em plantas que enfrentam estresse por desidratação, como por exemplo, restrição na disponibilidade de água (Balestro et al. 2017). Deste modo, os resultados observados no presente estudo demonstram que a prolina desempenha um papel crucial na resposta das plantas de *Z. mays* ao estresse hídrico, sendo modulada pela aplicação de bioinsumos. Outrossim, a aplicação de bioinsumos, como *BsBm* e FNR+*BsBm*, tem um impacto significativo na acumulação de prolina em plantas de milho, tanto em

condições ideais de irrigação quanto em condições de deficiência hídrica, melhorando a sua tolerância ao estresse hídrico. O aumento na concentração de prolina em tratamentos específicos sob estresse hídrico sugere que esses bioinsumos podem promover mecanismos de osmoproteção, tais como a estabilização de estruturas celulares e a mitigação dos efeitos de radicais livres. No entanto, a diminuição observada em alguns tratamentos sob condições de déficit hídrico indica uma interação complexa entre os bioinsumos e os mecanismos de resposta ao estresse, influenciada pelas condições ambientais e pelo tipo de bioinsumo utilizado. Os bioinsumos representam uma estratégia promissora para aumentar a resistência de *Z. mays* ao estresse hídrico, ajustando a acumulação de prolina como forma adaptativa.

Tabela 06 -Efeito de interação entre as médias da variável concentração de quantificação da peroxidação lipídica (TBARS) de folhas e raízes de *Zea mays* tratado com bioinsumos (*Az*, *Azospirillum*; ME, microrganismos eficientes; *BsBm*, *Bacillus subtilis* e *Bacillus megaterium*; FNR + *Az*, Fosfato natural reativo e *Az*; FNR + *BsBm*, Fosfato natural reativo e *BsBm*; FNR + ME, Fosfato natural reativo e ME) ou não (TC, tratamento controle) e cultivado na presença (Capacidade de pote 50%) ou não (CP 100%) de restrição hídrica.

Bioinsumos	TBARS (nmol MDA g ⁻¹ MF)									
	Folhas					Raízes				
	100%		50%			100%		50%		$\bar{x}$
										(100%:50)
TC	7.80	ab	A	6.16	ab	B	2.23	1.54	3.46	bc
<i>Az</i>	9.67	a	A	5.93	ab	B	1.83	1.71	5.17	bc
ME	7.23	b	A	7.88	a	A	1.95	1.66	5.47	bc
<i>BsBm</i>	8.49	ab	A	6.93	ab	B	2.24	1.38	9.08	a
FNR + <i>Az</i>	7.50	b	A	7.91	a	A	1.85	1.09	4.32	bc
FNR + <i>BsBm</i>	7.76	ab	A	5.22	b	B	1.89	1.22	6.26	ab
FNR + ME	6.70	b	A	6.12	ab	A	2.09	1.66	2.80	c
Média	7.76			6.16			2.01	A	1.46	B
CV (%)	11.15						12.75			

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na horizontal dentro de cada condição/capacidade de pote, e minúscula na vertical dentro de cada condição Bioinsumos não diferem entre si pelo teste Tukey a 95% de confiança ($p \leq 0.05$). ^{ns} Não significativo pelo mesmo teste.

A peroxidação lipídica em tecidos vegetais, como as folhas e raízes de *Z. mays*, pode ser avaliada através do método TBARS (*Thiobarbituric Acid Reactive Substances*). Este protocolo é amplamente utilizado para avaliar a extensão da degradação oxidativa dos lipídios, proporcionando uma estimativa indireta dos danos celulares causados pelo estresse oxidativo. Alterações no sistema redox das células vegetais podem desencadear a produção de compostos como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), levando à peroxidação lipídica. A falta de água no solo intensifica o estresse oxidativo e a produção de ERO, resultando em peroxidação lipídica e danos subsequentes às membranas celulares (Chiconato et al. 2017). Diversos subprodutos que intensificam os danos oxidativos são gerados pela peroxidação lipídica, com o malondialdeído (MDA) sendo o principal e mais investigado (Del Rio, Stewart, Pellegrini, 2005). O MDA é amplamente utilizado como marcador molecular para identificar a peroxidação lipídica em células vegetais expostas a estresses abióticos, como o déficit hídrico (Davey, 2005). As espécies reativas de oxigênio (EROs), incluindo o H_2O_2 , podem se formar nos cloroplastos, onde o O_2 gerado reage com elétrons excedentes (Gill & Tuteja, 2010).

Os resultados do presente estudo mostraram que níveis maiores de TBARS em folhas de *Z. mays* no tratamento controle, *Az*, *BsBm* ou FNR+BsBm de plantas submetidas a 100% CP quando comparado com os mesmos tratamentos de plantas submetidas ao déficit hídrico (50% CP). Além disso, no desdobramento da análise de variância (teste de Tukey a 95% de confiança) para os níveis de TBARS das raízes, foi possível observar uma diferença entre as médias dos tratamentos entre 100% e 50% CP, sendo a primeira 1,4 vezes maior do que a segunda (Tabela 06). A concentração de malondialdeído (MDA) é um indicador de estresse oxidativo em plantas, resultante da peroxidação lipídica, processo no qual os lipídios das membranas celulares são danificados pela ação de radicais livres (Barbosa et al., 2010). Macedo et al. (2017) observaram uma correlação entre o teor de prolina, APX e TBARS na parte aérea, em que o malondialdeído pode estar relacionado à manutenção da atividade enzimática em um estudo do efeito do déficit hídrico em parâmetros bioquímicos e fisiológicos de *Baccharis trimera* (Less.) DC.

5. CONCLUSÃO

O uso do fosfato natural reativo associado com os microrganismos promotores do crescimento de plantas aumenta a resistência de plantas cultivadas sob déficit hídrico através da síntese de proteínas de resposta ao estresse as quais estão envolvidas na remoção dos oxidantes produzidos durante o estresse. Tais proteínas atuaram de maneira eficiente na remoção dos oxidantes, dado que não foram observadas mudanças expressivas nos níveis de TBARS.

6. REFERÊNCIAS

BARBOSA, K. B. F. et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629–643, ago. 2010.

BARROSO, C. B.; NAHAS, E. The status of soil phosphate fractions and the ability of fungi to dissolve hardly soluble phosphates. **Applied Soil Ecology**, v. 29, n. 1, p. 73–83, maio 2005.

BUENO, D. O que fazem os microrganismos Bacillus? Agrotécnico. **Disponível em:** <<https://www.agrotecnico.com.br/o-que-fazem-os-microrganismos-bacillus/#:~:text=Esses%20microrganismos%20s%C3%A3o%20conhecidos%20por>>. Acesso em: 11 dez. 2023.

BHAT, Kaisar Ahmad et al. Low temperature stress tolerance: An insight into the omics approaches for legume crops. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, 2022.

CARGNELUTTI, D. Efeitos do mercúrio sobre parâmetros bioquímicos e fisiológicos em pepino e milho: papel protetor do zinco. **Disponível em:** <<https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/4409/CARGNELUTTI,%20DENISE.pdf>>. Acesso em: 7 de nov. 2023.

CIENTÍFICAS, C. et al. [s.l: s.n.]. **Disponível em:** <<https://www.redalyc.org/pdf/1812/181238817006.pdf>>.

CONTINI, E. et al. SÉRIE DESAFIOS DO AGRONEGÓCIO BRASILEIRO (NT2) Milho- Caracterização e Desafios Tecnológicos. [s.l: s.n.]. **Disponível em:** <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/195075/1/Milho- caracterizacao.pdf>>.

COTINGUIBA, G. G. et al. Método de Avaliação da Defesa Antioxidante: Uma Revisão de Literatura. **Journal of Health Sciences**, v. 15, n. 3, 2013. **Disponível em:** <<https://academic.oup.com/jxb/article/53/372/1305/644123?login=false>>. Acesso em: 11 dez. 2023.

CHICONATO, D. A. et al. peroxidação lipídica em plantas jovens de cana-de-açúcar submetidas

ao estresse salino. **Holos Environment**, 30 ago. 2017.

DARVEY, M. W.; STALS, E.; PANIS, B.; KEULEMANS, J.; SWENNEN. High-throughput determination of malondialdehyde in plant tissues. **Analytical Biochemistry**, Philadelphia, v. 347, p.201-207, 2005.

Dreher D, Junod AF. Role of oxygen free radicals in cancer development. **Eur J Cancer**. 1996; 32A:30–8.

DEL RIO, D; STEWART, A. J; PELLEGRINI, N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. **Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.**, v. 15, n. 4, p. 2112-2124, 2008.

FAZANI, R.; SANCHES, E. Relações hídricas e respostas ao déficit hídrico da espécie *Bauhinia forficata* Link: mecanismos de manutenção do status hídrico. **Disponível em:** <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11144/tde-14092012-095136/publico/Rodrigo_Fazani_Esteves_Sanches.pdf>. Acesso em: 7 nov. 2023.

FOLONI, J. S. S. et al. Aplicação de fosfato natural e reciclagem de fósforo por milheto, braquiária, milho e soja. **Revista brasileira de ciencia do solo**, v. 32, n. 3, p. 1147–1155, 2008.

FREITAS, A. A. DE et al. Atividades das enzimas peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) nas uvas das cultivares benitaka e rubi e em seus sucos e geléias. **Food Science and Technology**, v. 28, p. 172–177, 1 mar. 2008.

FREITAS, Gabriela Moraes et al. Cold tolerance response mechanisms revealed through comparative analysis of gene and protein expression in multiple rice genotypes. **PLoS One**, v. 14, n. 6, p. e0218019, 2019.

FUMIS, T. DE F.; PEDRAS, J. F. Variação nos níveis de prolina, diamina e poliaminas em cultivares de trigo submetidas a déficits hídricos. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 37, n. 4, p. 449–453, 2002.

GILL, S.S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 48, p. 909-930, 210.

Halliwell B, Gutteridge JMC. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. **Methods Enzymol.** 1990; 186:1–85.

HERRERA-ESTRELLA, L.; LÓPEZ-ARREDONDO, D. Phosphorus: The underrated element for feeding the world. **Trends in plant science**, v. 21, n. 6, p. 461–463, 2016.

Higa, T., Parr, J.F., 1994. Beneficial and Effective Microorganisms for a Sustainable Agriculture and Environment. **International Nature Farming Research Centre, Atami, Japan**, p. 16. Disponível em: <https://www.thecompost-gardener.com/support-files/em-1-higa-paper.pdf>. Acesso em 24 de fev. 2021.

KAVAMURA, V. N. et al. Screening of Brazilian cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought. **Microbiological Research**, v. 168, n. 4, p. 183–191, maio 2013.

KÁTIA, D. et al. PROPRIEDADES FÍSICAS DO SOLO, INFLUENCIADAS PELA DISTRIBUIÇÃO DE POROS, DE SEIS CLASSES DE SOLOS DA REGIÃO DE LAVRAS-MG. **Soil physical properties, influenced by pores distribution, of six soil classes in the region of Lavras-MG.** v. 4, p. 1167–1175, 2007.

KAVAMURA, V. N. et al. Screening of Brazilian cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought. **Microbiological Research**, v. 168, n. 4, p. 183–191, maio 2013.

KISHOR, K.; POLAVARAPU, B.; HIMA KUMARI, P.; SUNITA, M. S. L.; SREENIVASULU, N. Role of proline in cell wall synthesis and plant development and its implications in plant ontogeny. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 544, 2015.

LAXA, Miriam et al. The role of the plant antioxidant system in drought tolerance. **Antioxidants**, v. 8, n. 4, p. 94, 2019.

LOPES, M. J. C. et al. Atividade da Enzima Peroxidase do Ascorbato em Plântulas de Diferentes Ciclos de Seleção do Milho 'Saracura' sob Encharcamento Contínuo. **Disponível em:** <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/490083/1/Enzimaperoxidase.pdf>>. Acesso em: 7 nov. 2023.

LEITE, C. D; MEIRA, A. L. Inoculação de sementes com microrganismos eficientes. In: MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Fichas Agroecológicas Tecnologias apropriadas para agricultura orgânica: Produção Vegetal**. 2016 (a). Disponível em:

<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sustentabilidade/organicos/fichasagroecologicas/arquivos-producao-vegetal/20-inoculacao-de-sementes-com-microrganismos-eficientes.pdf>.

Macedo, f. f. de; Cargnelutti, d.; Rovaris, g. b. efeito do déficit hídrico em parâmetros bioquímicos e fisiológicos de *baccharis trimera* (less.) dc. **jornada de iniciação científica e tecnológica**, v. 1, n. 7, 5 set. 2017.

MADAN, S. Proline and Proline Metabolising Enzymes in in-vitro Selected NaCl- tolerant *Brassica juncea* L. under Salt Stress. **Annals of Botany**, v. 76, n. 1, p. 51–57, jul. 1995.

MADARA, A. A. et al. Anti-malarial activity of ethanolic leaf extract of *Piliostigma thonningii* Schum. (Caesalpiniaceae) in mice infected with *Plasmodium berghei berghei*. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 23, p. 3475–3480, 2010.

MARTINS, P. K. et al. Selection of reliable reference genes for RT-qPCR analysis during developmental stages and abiotic stress in *Setaria viridis*. **Scientific reports**, v. 6, p. 28348, 20 jun. 2016.

MIRANDA, R. A. de. Uma história de sucesso da civilização. *A Granja*, v. 74, n. 829, p. 24-27, jan. 2018.

Mittler, R. (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, 7, 405-410.

MITTLER, Ron. ROS are good. **Trends in plant science**, v. 22, n. 1, p. 11-19, 2017.

MITTLER, R. et al. Reactive oxygen species signalling in plant stress responses. **Nature Reviews. Molecular Cell Biology**, v. 23, n. 10, p. 663–679, 1 out. 2022.

NADARAJAH, Kalaivani K. ROS homeostasis in abiotic stress tolerance in plants. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 15, p. 5208, 2020.

NAHAS, E. Ciclo do fósforo: transformações microbianas. **Jaboticabal, Funep**, 1991. 67p.

NEPOMUCENO, A. L.; NEUMAIER, N.; FARIAS, J. R. B.; OYA, T. Tolerância à seca em plantas: mecanismos fisiológicos e moleculares. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento, Brasília**, n. 23, p. 12-18, 2001.

Novais, R.F.; Neves, J.C.L.; Barros, N.F.; Casali, V.W.D.; Fabres, A.S. 1993. The influence of the soil phosphate capacity factor on soil and plant phosphorus critical levels of different vegetables. In: Fragoso, M.A.C.; Beusichem, M.L.V. (Eds). Optimization of plant nutrition. **Kluwer Academic Publishers, Netherlands**. p.73-76.

PIMENTEL, C. A Relação da Planta com a Água. [s.l: s.n.]. **Disponível em:** <<https://www.bibliotecaagptea.org.br/agricultura/irrigacao/livros/A%20RELACAO%20DA%20PLANTA%20COM%20A%20AGUA.pdf>>.

RADY, M. M. et al. Maize (*Zea mays* L.) grains extract mitigates the deleterious effects of salt stress on common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) growth and physiology. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, v. 94, n. 6, p. 777–789, 13 jun. 2019.

RADY, M. M. et al. Maize (*Zea mays* L.) grains extract mitigates the deleterious effects of salt stress on common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) growth and physiology. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, v. 94, n. 6, p. 777–789, 13 jun. 2019.

RAIJ, B. Van; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H. & QUAGGIO, J. A. Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais. **Campinas, Instituto Agrônomo, 2001**.

RAMOS. Avaliação de estratégias de imobilização e estabilização de β -galactosidase de *Bacillus licheniformis*. **Repositorio.ufu.br**, 2022.

Response of Maize (*Zea mays* L.) Hybrids to Diurnal Variation of Vapor Pressure Deficit (VPD) and Progressive Soil Moisture Depletion. **Science Publishing Group**. Disponível em: <<https://www.sciencepublishinggroup.com/article/10035822>>. Acesso em: 10 dez. 2023.

RURAL, C.; MARIA, S. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Plant generation and enzymatic detoxification of reactive oxygen species**. n. 3, p. 453–460, 2014.

SANTIAGO, G. de M.; CARGNELUTTI, D.; CASTAMAM, A. Efficient microorganisms: An alternative tool for drought management in bean plants?. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Editora Verde, ISSN 1981- 8203, v. 17, ed. 1, p. 01-09, 2022. DOI <https://doi.org/10.18378/rvads.v17i1.9171>. Disponível em: <https://www.gvaa.com.br/revista/index.php/RVADS/article/view/9171>.

SANTOS, R. F.; CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológico e fisiológico das plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 2, n. 3, p. 287-294, 1998.

SBRUZZI, X. M. et al. CARACTERÍSTICAS PRODUTIVAS DA AGRICULTURA FAMILIAR EM ARATIBA-RS. **Salão Integrado de Ensino, Pesquisa e Extensão da Uergs (SIEPEX)**, v. 1, n. 10, 13 nov. 2021.

SOARES, Cristiano et al. Plants facing oxidative challenges—A little help from the antioxidant networks. **Environmental and Experimental Botany**, v. 161, p. 4-25, 2019.

SOUZA, C. C.; OLIVEIRA, F. A. de; SILVA, I. de F. da; NETO, M. da S. A. Avaliação de métodos de determinação de água disponível e manejo da irrigação em terra roxa sob cultivo de algodoeiro herbáceo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.4, n.3, p.338-342, 2000.

TALAAT, N. B. **Effective microorganisms: An innovative tool for inducing common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) salt-tolerance by regulating photosynthetic rate and endogenous phytohormones production**. *Scientia Horticulturae*, v. 250, p. 254–265, maio de 2019.

TALAAT, Neveen B. Effective microorganisms enhance the scavenging capacity of the ascorbate-glutathione cycle in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants grown in salty soils. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 80, p. 136–143, 2014.

TAIZ L.; ZEIGER, E **Fisiologia Vegetal**. Trad. SANTARÉM, E. R. ..[et al.J. - 4 ed. -Porto Alegre; Artmed, 2013. p.719

TESTER M.; DAVENPORT R. Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. **Annals of Botany**, v. 91, p. 503-527, 2003.

TURKAN, I. **Plant Responses to Drought and Salinity Stress: Developments in PostGenomic Era** In Advances in Botanical Research. Vol. 57. Elsevier p 593. 2011.

Universidade do estado de santa catarina -udesc centro de ciências agroveterinárias -cav curso de doutorado em produção vegetal matheus santin padilha vigor em sementes de feijão para superar condições de estresse abiótico lages 2023 matheus santin padilha. [s.l: s.n.]. disponível em: <https://www.udesc.br/arquivos/cav/id_cpmenu/3037/01__tese__matheus_santin_padilha_31072023_16933302313652_3037.pdf>. acesso em: 15 jun. 2024.

View of A formação e os efeitos das espécies reativas de oxigênio no meio biológico. Disponível em: <<https://seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/6617/4350>>. Acesso em: 7 nov. 2023.

XING, Muye et al. Physiological Alterations and Nondestructive Test Methods of Crop Seed Vigor: A Comprehensive Review. **Agriculture**, v. 13, n. 3, p. 527, 2023.