



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS ERECHIM**

CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - BACHARELADO

EYKO NATHAN SILVA DO PRADO

**FOSFATO NATURAL REATIVO E MICRORGANISMOS PROMOVEM O
CRESCIMENTO DE *Zea mays* CULTIVADO SOB DÉFICIT HÍDRICO**

ERECHIM

2024

EYKO NATHAN SILVA DO PRADO

**FOSFATO NATURAL REATIVO E MICRORGANISMOS PROMOVEM O
CRESCIMENTO DE *Zea mays* CULTIVADO SOB DÉFICIT HÍDRICO**

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 I.

Orientadora: Dra. Denise Cargnelutti
Coorientador: Dr. Alfredo Castamann

ERECHIM

2024

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Prado, Eyko Nathan Silva do
FOSFATO NATURAL REATIVO E MICRORGANISMOS PROMOVEM O
CRESCIMENTO DE Zea mays CULTIVADO SOB DÉFICIT HÍDRICO /
Eyko Nathan Silva do Prado. -- 2024.
25 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.

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).

EYKONATHAN SILVA DO PRADO

**FOSFATO NATURAL REATIVO E MICRORGANISMOS PROMOVEM O
CRESCIMENTO DE *Zea mays* CULTIVADO SOB DÉFICIT HÍDRICO**

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 14/06/2024

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Denise Cargnelutti – Universidade Federal da Fronteira Sul
Orientadora

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

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

LISTA DE TABELAS

Tabela 01	05
Tabela 02	07
Tabela 03	08
Tabela 04	09
Tabela 05	09
Tabela 06	11

LISTA DE FIGURAS

Figura 01	12
------------------------	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Taxa de fotossíntese líquida
A/C _i	Eficiência da carboxilação
C _i	Concentração interna de dióxido de carbono
CP	Capacidade de pote
DAS	Dias após a semeadura
E	Taxa de transpiração
EUA	Eficiência do uso da água
FNR	Fosfato reativo natural
G _s	Condutância estomática
IRGA	Analisador do gás por infravermelho
MPCP	Microrganismos promotores de crescimento em plantas
ME	Microrganismos eficientes
NFP	Número de folhas por plantas
PA	Parte aérea
SISGEN	Sistema Natural de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado
SPAD	Teor relativo de clorofila
UFFS	Universidade Federal da Fronteira Sul

Primeiramente, agradeço a minha orientadora: Dra. Prof^a Denise Cargnelutti, por me guiar durante todas as etapas do projeto.

Ao meu coorientador Dr. Prof^o Alfredo Castamann e ao Dr. Prof^o Yugo que somaram partes fundamentais para a execução deste projeto. Além deles, meus colegas de laboratório que auxiliaram em cada etapa, em especial minha namorada Bruna Macedo que me acompanhou em cada momento da pesquisa.

SUMÁRIO

1. RESUMO.....	01
2. INTRODUÇÃO.....	02
3. METODOLOGIA.....	03
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	05
5. CONCLUSÃO.....	11
6. REFERÊNCIAS.....	11

Resumo: O presente estudo teve como objetivo avaliar se o fosfato natural reativo (FNR), combinado com a presença de microrganismos eficientes (ME), bactérias do gênero *Azospirillum* e BiomaPhos, promovem o crescimento de plantas do milho crioulo (*Zea mays* L.) cultivadas na presença de déficit hídrico. Além disso, objetivamos também avaliar se a aplicação dos FNR em associação com os microrganismos é capaz de amenizar os efeitos nocivos induzidos pela seca em *Z. mays*. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições. As sementes foram colocadas para germinar em vasos de 8 L de substrato mais solo, em casa de vegetação. O FNR (155 mg kg⁻¹ de substrato) foi incorporado ao solo antes da semeadura. Os microrganismos (*Azospirillum*, *Bacillus subtilis* + *B. megaterium* (*BsBm*) e, Microrganismos Eficientes) foram aplicados tanto como tratamento de sementes quanto diretamente ao solo e plantas (borrifando 4 mL) na proporção de 1:500. Estas soluções diluídas foram utilizadas separadamente, por pote na planta e no solo, sendo aplicadas a cada sete (07) dias, no momento da irrigação. No tratamento controle foi borrifado apenas água bidestilada. As plantas foram submetidas ao déficit hídrico (omitindo-se 50% na quantidade de água e no controle não foi omitido a água) 16 dias após a semeadura permanecendo nesta condição até o estágio V6. Em aproximadamente 35 dias após a semeadura, as plantas foram coletadas e divididas em raízes e parte aérea e avaliadas a altura da parte aérea, número de folhas e diâmetro do caule. Também foi determinado o teor de clorofila (TC) e as análises fisiológicas foram obtidas por meio do analisador de gases no infravermelho (IRGA) e fluorômetro. Os resultados do presente estudo demonstraram que os melhores tratamentos tanto para plantas cultivadas a 100% da CP quanto aquelas plantas cultivadas a 50% CP foram FNR + AZ, FNR + *BsBm* e FNR + ME, os quais induziram um aumento de 27% na altura de *Z. mays* quando comparado com a média dos tratamentos controle. A concentração interna de CO₂ (C_i) foi reduzida significativamente (22% e 12%, respectivamente) em folhas de *Z. mays* cultivado sob restrição hídrica (50% CP) no tratamento controle (sem bioinsumo) e o utilizando AZ, quando comparado com o tratamento controle, sem restrição hídrica. A eficiência do uso da água (EUA) e a eficiência de carboxilação (A/C_i) foram superiores em folhas cultivadas com restrição hídrica e na presença de AZ. Em *Z. mays* cultivado sem restrição hídrica, o maior índice de EUA foi observado nos tratamentos FNR + *BsBm* ou FNR + ME. Portanto, a utilização dos microrganismos associados ao fosfato natural reativo amenizou os efeitos do estresse provocado pelo déficit hídrico em *Z. mays*. No entanto, mais estudos devem ser realizados

para definir dosagens e mecanismos acerca do funcionamento dessa relação microrganismo-planta em situação de déficit hídrico.

Palavras-chave: milho crioulo, estresse hídrico, microrganismos eficientes, fosfato reativo natural, *Azospirillum*.

1. INTRODUÇÃO

As condições ambientais são um fator que afetam significativamente o desenvolvimento das plantas, pois estas estão sujeitas a diversos estresses abióticos e bióticos, que se intensificam ao se somarem. O estresse hídrico é um empecilho para o desenvolvimento de vegetais, pois a água é de fundamental importância para funções metabólicas e a regulação de temperatura em organismos vivos. Assim, o aumento da temperatura somado à baixa frequência de precipitação pode provocar o déficit hídrico nos vegetais, afetando o desenvolvimento de frutos e sementes. Nas últimas décadas estudos têm mostrado uma tendência de aumento da temperatura do clima e consequente aumento de regiões áridas e o desequilíbrio, portanto, da frequência de precipitações, o que implica direta ou indiretamente em áreas de plantio. Estima-se que mais de 40% da população mundial terá dificuldade ao acesso de água nos próximos anos (Unesco, 2020). Esses efeitos ao afetar a produtividade de lavouras implicam não somente em questões ambientais, mas também em questões socioeconômicas (Vale *et al.*, 2020). Fenômenos atmosféricos como El Niño e La Niña tendem a se intensificar e provocar ainda mais secas e aumento de chuvas nas regiões afetadas. No sudeste do Brasil, foi presenciado um aumento da temperatura e com isso o aumento de áreas secas (Hao *et al.* 2018). Assim, tendo em vista as mudanças climáticas e as consequências no que se refere as áreas de plantio, é necessário reavaliar o modo como é executado o manejo da agricultura.

Nesse cenário surge a necessidade de soluções tecnológicas visando o auxílio do produtor, para que desse modo ele possa lidar com as adversidades impostas por esses eventos, amenizando o dano causado na produtividade da sua plantação. Os microrganismos são uma alternativa para atenuar o dano resultante da seca, pois estudos realizados pela EMBRAPA já demonstram que bactérias isoladas do ambiente são

capazes de promover o crescimento do milho crioulo (*Zea mays* L.) (Kavamura *et al.*, 2013). Assim, a busca por microrganismos eficientes em ambientes inexplorados se torna uma alternativa para lidar com a falta de água no desenvolvimento dos vegetais. A ativação de enzimas e a síntese de proteínas podem ser otimizadas graças à utilização desses microrganismos (Talaat, 2014). Portanto, o uso desse recurso para o melhor rendimento é promissor em situações em que a cultura do milho se encontra exposta ao estresse hídrico.

Fatores externos, sejam abióticos ou bióticos, afetam de maneira significativa a produtividade primária do milho. Devido à água participar de funções metabólicas, a sua falta pode impactar negativamente no crescimento da planta, reduzindo seu rendimento (Moussa *et al.*, 2019) e sendo o principal empecilho no desenvolvimento de grãos (Fritche-Neto e Borém, 2011).

Microrganismos promotores do crescimento de plantas (MPCP) são comuns no ambiente, existindo vários, cada um com sua função especializada (Taalat, 2019). Dentro dessa variedade há rizóbios que ao se fixarem nas raízes de algumas plantas auxiliam na produção de nutrientes para o metabolismo do vegetal (Compant *et al.*, 2010). Ao fazer a inoculação em matéria orgânica ou em composto fermentado, a matéria orgânica da qual os microrganismos eficientes necessitam fica prontamente disponível, proporcionando também uma maior disponibilidade de nutrientes para os vegetais (Pereg, 2015). Bactérias do gênero *Bacillus* e *Azospirillum* são conhecidas como rizobactérias (Meena *et al.*, 2017) e vendidas como inoculantes para culturas agrícolas, como milho, feijão, cana-de-açúcar (Vejan *et al.*, 2016) atuando como bioinsumos. O presente trabalho objetivou avaliar se o fosfato reativo natural associado aos microrganismos eficientes, bactérias do gênero *Azospirillum* e/ou BiomaPhos (*Bacillus subtilis* + *Bacillus megaterium*) auxiliam no crescimento de plantas do milho crioulo (*Z. mays* L.) crescendo sob déficit hídrico.

2. 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, deixando-se uma plântula por vaso.

Tabela 1. Tratamentos. 100 % CP – sem déficit hídrico, 50 % CP – com déficit hídrico (metade da água ideal para crescimento, AZ – *Azospirillum*, ME – microrganismos eficientes, *BsBm* – *Bacillus subtilis* + *Bacillus megaterium*, FNR – Fósforo reativo natural.

	100% CP	50% CP
TC	Controle – 100% CP	Controle – 50% CP
AZ	<i>Azospirillum</i>	<i>Azospirillum</i>
ME	ME	ME
<i>BsBm</i>	BiomaPhos	BiomaPhos
FNR + Az	Fósforo + <i>Azospirillum</i>	Fósforo + <i>Azospirillum</i>
FNR + <i>BsBm</i>	Fósforo + BiomaPhos	Fósforo + BiomaPhos
FNR + ME	Fósforo + ME	Fósforo + ME

A capacidade de pote (CP) foi determinada admitindo-se o peso do solo saturado com água por capilaridade mais a massa do vaso. Para a determinação da capacidade de pote de 50% foi omitido metade da quantidade de água determinando para estes uma massa. 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 continham plantas e dos que não continham plantas. A reposição da água evapotranspirada no período foi realizada com uso de regador manual, mantendo-se os vasos próximos à capacidade de pote e omitindo-se a irrigação em 50% (representado por 50% CP) da capacidade do pote naqueles tratamentos em condições de estresse. 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 ME 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), o *Azospirillum* e o

BiomaPhos foram adquiridos comercialmente. Os microrganismos, *Azospirillum* (Cepas ABV5/ABV6) e BiomaPhos (Cepa BRM 2084) e/ou os ME, 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 35 DAS. No tratamento controle foi borrifado apenas água. O fosfato natural na dose de 75 g por vaso foi incorporado ao solo no momento da preparação do substrato para o cultivo das plantas. A dose de fosfato natural foi calculada com base na análise de solo.

As análises dos parâmetros biométricos foram realizadas aos 35 DAS, avaliando as seguintes variáveis: altura das plantas, diâmetro do caule e número de folhas por planta (NFP). A altura das plantas foi avaliada utilizando-se uma fita métrica graduada. O diâmetro do caule foi determinado utilizando-se um paquímetro digital, com a mensuração realizada a uma altura de 10 cm a partir do colo da planta. Além disso, foram contabilizados o NFP, descartando-se as folhas danificadas. O teor de clorofila foi mensurado com o uso do clorofilômetro portátil ClorofiLOG), medindo a variável de dois pontos em cada planta. A atividade dos fotossistemas foi determinada utilizando um fluorômetro de clorofila *a* (modelo OS5p+, Opti-Sciences) a partir do terço médio da primeira folha completamente expandida. Para avaliar as trocas gasosas das folhas, foi usado um Analisador de Gases por Infravermelho (IRGA), marca ADC Bioscientific, modelo LCpro-T (Analytical Development Co. Ltd, Hoddesdon, UK), do qual foram obtidos os seguintes parâmetros: taxa de fotossíntese líquida (A), concentração interna de CO_2 (C_i), taxa de transpiração (E), condutância estomática (G_s), eficiência do uso de água (EUA) e eficiência de carboxilação (A/C_i), também partir do terço médio da primeira folha completamente expandida.

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-se o software genes e as análises de correlações foram obtidas por meio do software GraphPad Prism 10.

3. RESULTADO E DISCUSSÃOS

Os resultados do presente estudo para os parâmetros de crescimento estão ilustrados na tabela 02, a qual apresenta o resumo da análise de variância (ANOVA) para

as variáveis altura da parte aérea (PA), diâmetro do caule, (NFP), teores de clorofila e a eficiência quântica máxima do fotossistema II (Fv/Fm). Dos parâmetros de crescimento analisados, apenas foram observadas interações significativas para a altura da PA. A interação significativa foi observada entre os bioinsumos e entre o déficit hídrico (100% e 50%, CP).

Tabela 02 - Resumo da análise de variância ANOVA (fatorial seguindo delineamento inteiramente casualizado) para as variáveis Altura da parte aérea (cm), diâmetro do caule (cm), número de folhas por planta (NFP), teor de clorofilas (índice SPAD) e eficiência quântica do PSII (Fv/Fm) em plantas de *Zea mays* tratadas com bioinsumos (Az, *Azospirillum*; ME, microrganismos eficientes; *BsBm*, *Bacillus subtilis* mais *Bacillus megaterium*; FNR + Az, fosfato natural reativo mais Az; FNR + *BsBm*, fosfato natural reativo mais *BsBm*; FNR + ME, Fosfato natural reativo mais microrganismos eficientes) ou não (TC, tratamento controle) e cultivado na presença (capacidade de pote 50%) ou não (CP 100%) de restrição hídrica. CV – Coeficiente de variância.

Fonte de Variação	Quadrados Médios					
	GL	Altura da PA (cm)	Diâmetro do caule (cm)	NFP	Clorofila (índice SPAD)	Fv/Fm
Bioinsumos	6	230.396*	1.566 ^{ns}	0.434 ^{ns}	6.729 ^{ns}	0.0031 ^{ns}
Déficit hídrico (DH)	1	411.757*	4.435 ^{ns}	0.0 ^{ns}	14.120 ^{ns}	0.00175 ^{ns}
Bioinsumos x DH	6	81.226 ^{ns}	0.149 ^{ns}	1.208 ^{ns}	18.888 ^{ns}	0.00118 ^{ns}
Média geral		57.127	7.88	8.142	36.608	0.777
CV (%)		11.909	14.42	14.306	11.392	3.368

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

O desdobramento desta análise (Tukey a 95% de confiança) mostrou que os melhores tratamentos tanto para plantas cultivadas a 100% da CP quanto plantas cultivadas a 50% CP foram FNR + AZ, FNR + *BsBm* e FNR + ME, os quais induziram um aumento de 27% na altura de *Z. mays* quando comparado com a média dos tratamentos controle. No desdobramento déficit hídrico, os dados mostraram que a altura da PA de *Z. mays* cultivado sob restrição hídrica (50% CP) foi 10% maior ($p \leq 0.05$) quando comparado com as plantas cultivadas sem restrição hídrica (100% CP) (Tabela 03), sugerindo que o déficit hídrico não afetou a altura da planta.

Os elementos fósforos e nitrogênio são essenciais para a produção de nucleotídeos do DNA e ATP (adenosina trifosfato), moléculas cruciais para o metabolismo vegetal. O

nitrogênio também é importante constituinte das proteínas e, portanto, enzimas que atuam no metabolismo. Os microrganismos assumem papel importante na fixação do nitrogênio, deste modo, a combinação de fosfato natural reativo com os microrganismos induziu um incremento significativo na altura das plantas, no presente estudo (Tabela 03). A *Azospirillum* também opera na promoção da absorção do nitrogênio, além de atuar na solubilização de nutrientes, auxiliando o vegetal contra estresses abióticos. Dado semelhante foi observado por Vinnikova *et al.* (2023), em que a bactéria *Azospirillum* promoveu o incremento a altura da planta quando esta estava sob déficit hídrico, superando a altura da planta em condições ideais de irrigação. Portanto, a aplicação do FNR associado a capacidade destes microrganismos em solubilizar os nutrientes minerais pode ter aumentado a absorção dos nutrientes pelas plantas sob déficit hídrico, proporcionando um incremento na altura da PA destas.

Tabela 03 - Efeito de interação entre as médias da variável Fv/Fm, eficiência quântica do PSII de folhas de *Zea mays* tratado com bioinsumos (Az, *Azospirillum*; ME, microrganismos eficientes; BsBm, *Bacillus subtilis* mais *Bacillus megaterium*; FNR + Az, fosfato natural reativo mais Az; FNR + BsBm, fosfato natural reativo mais BsBm; FNR + ME, fosfato natural reativo mais microrganismos eficientes) ou não (TC, tratamento controle) e cultivado na presença (Capacidade de pote 50%) ou não (CP 100%) de restrição hídrica. \bar{x} - média.

Bioinsumos	Altura PA				Diâmetro do Caule ^{ns}		NFP ^{ns}	
	(cm)		\bar{x} (100%:50%)		(cm)		100%	50%
	100%	50%			100%	50%	100%	50%
TC	46.73	50.5	48.62	b	7.89	8.08	8.25	8.50
Az ¹	48.37	59.5	53.94	ab	6.96	7.69	7.00	8.50
ME	55.37	55.75	55.56	ab	7.05	7.44	8.75	7.75
BsBm	54.37	55.5	54.94	ab	7.5	8.16	8.25	8.25
FNR + Az	56.87	66.25	61.56	a	7.58	8.56	8.00	8.00
FNR + BsBm	62.75	60.25	61.5	a	7.99	8.65	8.50	8.25
FNR + ME	56.42	71.12	63.78	a	8.18	8.51	8.25	7.75
Média	54.42 B	59.84 A			7.59	8.15	8.14	8.14
CV (%)	11.909				14.42		14.31	

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.

Além disso, o BiomaPhos possui na sua composição *Bacillus megaterium* e *Bacillus subtilis*, bactérias conhecidas por amenizar alguns estresses abióticos, conhecidas como rizobactérias, promovendo o crescimento de plantas (Kloepper *et al.*, 1999). A bactéria *Bacillus subtilis* promove uma maior exsudação radicular que é a liberação de substâncias como aminoácidos que auxiliam na síntese de metabólitos secundários (Vardharajula *et al.*, 2010). Deste modo, no presente estudo a associação do FNR + BsBm proporcionou uma condição mais completa para o crescimento de *Zea mays*.

Outrossim, os ME são uma variedade de microrganismos comumente presentes nos solos (Pugas *et al.*, 2013), os quais permitem que a capacidade do solo melhore (Pegorer *et al.*, 1995) permitindo a melhor produtividade do milho.

Tabela 04 - Efeito de interação entre as médias das variáveis clorofila (SPAD) e Fv/Fm - eficiência quântica do PSII 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 mais *BsBm*; FNR + ME, Fosfato natural reativo mais ME) ou não (TC, tratamento controle) e cultivado na presença (Capacidade de pote 50%) ou não (CP 100%) de restrição hídrica.

Bioinsumos	Clorofila ^{ns}		Fv/Fm ^{ns}	
	(SPAD)			
	100%	50%	100%	50%
TC	37.54	36.6	0.763	0.791
Az	32.70	39.57	0.744	0.795
ME	39.04	37.02	0.764	0.789
<i>BsBm</i>	36.71	36.36	0.790	0.771
FNR + Az	35.14	35.65	0.780	0.780
FNR + <i>BsBm</i>	34.14	37.46	0.788	0.786
FNR + ME	37.47	37.10	0.773	0.767
Média	36.71	37.02	0.774	0.787
CV (%)	11.39		3.368	

^{ns} Não significativo pelo teste Tukey a 95% de confiança ($p \leq 0.05$).

A tabela 04 demonstra as médias para a o teor de clorofila e para a Fv/Fm, evidenciando uma falta de significância entre os dados coletados, tanto entre os bioinsumos quanto para a aplicação do déficit hídrico.

A tabela 05 ilustra o resumo da análise de variância ANOVA para os parâmetros C_i (concentração interna de dióxido de carbono CO_2), E (taxa de transpiração), G_s (condutância estomática), A (taxa de fotossíntese líquida), EUA (eficiência do uso da água) e A/ C_i . Dos parâmetros avaliados, foram observadas interação significativa entre Bioinsumos e déficit hídrico apenas para C_i , EUA e A/ C_i . Em relação aos demais parâmetros (E, G_s e A) foram observadas interação entre os bioinsumos.

Tabela 05 - Resumo da análise de variância ANOVA (Fatorial seguindo delineamento inteiramente casualizado) para as variáveis C_i - Concentração interna de CO_2 , E - taxa de transpiração, G_s - condutância estomática, A - Taxa de fotossíntese líquida, EUA - Eficiência do uso de água e A/ C_i - eficiência de carboxilação 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 mais *BsBm*; FNR + ME, Fosfato natural reativo mais 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	C_i	E	G_s	A	EUA	A/ C_i
Bioinsumos	6	1598.24*	0.85*	0.013*	27.12*	0.435*	0.0024*
Déficit hídrico (DH)	1	78.22 ^{ns}	0.11 ^{ns}	0.005 ^{ns}	3.67 ^{ns}	0.015 ^{ns}	0.0 ^{ns}
Bioinsumos x DH	6	836.03*	0.13 ^{ns}	0.002 ^{ns}	19.34 ^{ns}	1.087*	0.0034*

Média geral	144.31	4.27	0.261	27.24	6.385	0.0814
CV (%)	10.02	11.03	21.61	12.22	4.390	14.96

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

Tabela 05 - Resumo da análise de variância ANOVA (Fatorial seguindo delineamento inteiramente casualizado) para as variáveis C_i - Concentração interna de CO_2 , *E* - taxa de transpiração, G_s - condutância estomática, *A* - Taxa de fotossíntese líquida, *EUA* - Eficiência do uso de água e A/C_i - eficiência de carboxilação 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 mais *BsBm*; *FNR + ME*, Fosfato natural reativo mais *ME*) ou não (*TC*, tratamento controle) e cultivado na presença (Capacidade de pote 50%) ou não (*CP 100%*) de restrição hídrica.

Os resultados do presente estudo mostraram uma diminuição significativa de 22% e 12% para a C_i nas folhas de *Z. mays* cultivado sob restrição hídrica (50% CP) nos tratamentos controle (sem bioinsumo) ou *Az*, respectivamente, quando comparado com o tratamento controle sem restrição hídrica (100% CP) (Tabela 06). Ao analisar os resultados da C_i para os tratamentos sem restrição hídrica, a principal diferença significativa foi entre o tratamento com aplicação de *Azospirillum* e o tratamento com a combinação do fosfato natural reativo com *ME*, sendo o primeiro 22% maior que o segundo. Neste grupo, a aplicação isolada de *ME* e associados com o *FNR* não obtiveram maior C_i que o grupo controle (Tabela 06).

A C_i de folhas de milho cultivadas sob restrição hídrica (50% da CP) foi cerca de 1,4 vezes maior nos tratamentos utilizando *BsBm*, *FNR + Az* e *FNR + BsBm*, quando comparado com o tratamento controle (sem bioinsumos). A aplicação de tais microrganismos proporcionou o aumento na C_i possivelmente pelo fato destes auxiliarem na solubilização do elemento potássio, principal cátion intracelular que atua na contração e dilatação das células guarda do estômato, permitindo uma regulação correta da entrada e saída de gases (Taiz *et al.*, 2013). Este elemento atua também na ativação de enzimas cruciais para a fotossíntese e respiração celular (Parente *et al.*, 2016). Estes resultados também diferiram dos observados por Araujo *et al.* (2023), além do obtido por Marques *et al.* (2021), que utilizaram diversas cepas de *Azospirillum*. As bactérias presentes no BiomaPhos apresentaram efeito semelhante ao do *Azospirillum* adicionado junto ao *FNR* por possuir efeitos similares no solo, também proporcionando maior solubilização de elementos importantes para o metabolismo e regulação da osmose, estando diretamente relacionado com a G_s (Tabela 06 e 07).

Os resultados do presente estudo mostraram que os tratamentos responsáveis pelos

maiores (8% e 12%, respectivamente) índices de EUA foram FNR + BsBm e FNR + ME quando comparados com o tratamento controle (100% CP). Sob restrição hídrica, o único tratamento significativamente superior para o mesmo parâmetro foi o Az e o tratamento controle (sem bioinsumos), quando comparado a EUA de plantas de *Z. mays* cultivadas na ausência de restrição hídrica (100% CP). Conforme ilustrado na tabela 06, a aplicação de FNR + ME em plantas cultivadas sem restrição hídrica (100% CP) induziu o maior incremento na EUA. Isso ocorre, pois o EUA tem relação com a biomassa produzida pela fotossíntese com o mínimo de água produzida, assim os benefícios dos ME aliados ao FNR e à disponibilidade ideal de água garantem um elevado índice de EUA (Tabela 06). Nas plantas submetidas ao déficit hídrico (50% CP), todos os tratamentos resultaram na diminuição do EUA, sendo a aplicação de *Azospirillum* o tratamento que mais se aproximou da média do controle, sendo 2% menor. Isso é explicado pelo fato deste microrganismo promover regulações osmóticas no espaço apoplástico e/ou simplástico (Kasim *et al.* 2013) (Tabela 06).

Tabela 06 – Efeito de interação entre as médias das variáveis, Ci - Concentração interna de CO₂, EUA – eficiência no uso da água e proporção, A/C_i eficiência de carboxilação 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 mais *BsBm*; FNR + ME, Fosfato natural reativo mais ME) ou não (TC, tratamento controle) e cultivado na presença (Capacidade de pote 50%) ou não (CP 100%) de restrição hídrica.

Bioinsumos	Ci						EUA						A/C _i					
	(μmol CO ₂ mol ar ⁻¹)						(micromol/m ² /s)/(mol/m ² /s)						(micromol/m ² /s)/(micromol/mol)					
	100%			50%			100%			50%			100%			50%		
TC	149.6	ab	A	116.4	d	B	6.09	cd	B	6.98	a	A	0.17	ab	B	0.23	a	A
Az ¹	154.4	a	A	134.6	bcd	B	5.72	d	B	6.80	ab	A	0.15	b	B	0.202	ab	A
ME	144.8	ab	A	156.6	ab	A	6.58	abc	A	6.33	bc	A	0.20	ab	A	0.182	ab	A
<i>BsBm</i> ⁴	149.4	ab	A	163	a	A	6.39	abc	A	6.03	c	B	0.19	ab	A	0.172	b	A
FNR + Az ¹	151.8	ab	A	164.4	a	A	6.19	bcd	A	5.95	c	A	0.18	ab	A	0.166	b	A
FNR + <i>BsBm</i> ⁴	142	ab	A	147.6	abc	A	6.66	ab	A	6.31	bc	A	0.22	a	A	0.198	ab	A
FNR + ME	125.6	b	A	120.2	cd	A	6.93	a	A	6.40	bc	B	0.23	a	A	0.196	ab	A
Média	149.4			147.6			6.40			6.03			0.192			0.196		
CV (%)	10.02						4.39						14.96					

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≤0.05).

A A/C_i apresentou médias significativamente maiores em folhas de *Z. mays* sob restrição hídrica (50% CP) quando comparado com plantas sob 100% da CP somente nos tratamentos controle e com aplicação de *Azospirillum*, sendo estes 32% e 34% maiores, respectivamente (Tabela 06). Os demais tratamentos de plantas cultivadas sobre restrição hídrica (50% CP) apresentaram A/C_i menor, no entanto uma maior A/C_i não foi observado para o grupo de plantas sem restrição hídrica (100% CP) ao compara esse tratamento com o controle com restrição hídrica.. Uma maior C_i resulta em menor A/C_i de acordo com Santos *et al.* (2017). Tal fenômeno também foi observado no presente estudo, pois o tratamento (100% da CP) que apresentou a menor A/C_i de também mostrou a maior C_i , tratamento em que foi aplicado isoladamente o *Azospirillum* (Tabela 06). A aplicação de bioinsumos permite a solubilização de nitrogênio e fósforo que permitem a síntese da Rubisco, enzima responsável pela carboxilação do gás carbônico, a baixa quantidade de nitrogênio afeta significativamente a atividade da Rubisco (Rosado *et al.*, 2013), o que explica o aumento em todos os tratamentos com bioinsumos no grupo de 100% da CP. No entanto, o comportamento observado anteriormente não se repetiu para as plantas submetidas ao déficit hídrico (50% CP). Neste, todos os tratamentos com bioinsumos apresentam média menores que o tratamento controle, que também possui elevada EUA, porém uma reduzida G_s (Tabela 07). Esses resultados indicam que, mesmo em baixo potencial hídrico e baixa concentração de CO_2 , este é utilizado de maneira eficiente pela Rubisco.

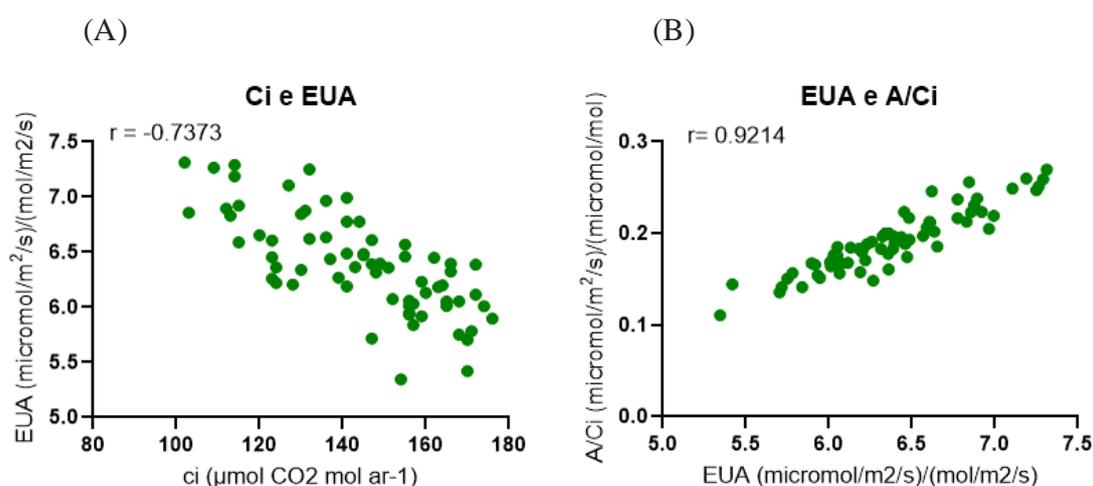


Figura 01 - Coeficientes de correlação de Pearson significativos para C_i - Concentração interna de CO_2 , EUA – eficiência no uso da água e proporção, A/C_i eficiência de

carboxilação de folhas de *Zea mays* tratado com bioinsumos (*Az*, *Azospirillum*; *ME*, microrganismos eficientes; *BsBm*, *Bacillus subtilis* e *Bacillus megaterium*⁴; FNR + *Az*, Fosfato natural reativo mais *Az*; FNR + *BsBm*, Fosfato natural reativo mais *BsBm*; FNR + *ME*, Fosfato natural reativo mais *ME*) ou não (*TC*, tratamento controle) e cultivado na presença (Capacidade de pote 50%) ou não (CP 100%) de restrição hídrica.

A G_s não apresentou diferença significativa entre os grupos de tratamentos de 50% e 100% da CP sugerindo que o déficit hídrico não alterou essa condição e por isso foi feita a média dos dados e comparadas entre si (Tabela 07). O tratamento que obteve a maior média de G_s foi o com aplicação isolada de *ME*, sendo ela 35% maior quando comparada com o tratamento controle. No entanto, a soma da aplicação de *ME* com o adubo orgânico provocou uma queda de 38% na média da G_s em relação a aplicação isolada de *ME* (Tabela 07).

Tabela 07 - Efeito de interação entre as médias das variáveis, E - taxa de transpiração, Gs - condutância estomática e A - Taxa de fotossíntese líquida de folhas de *Zea mays* tratado com bioinsumos (Az, *Azospirillum*; ME, microrganismos eficientes; *BsBm*, *Bacillus subtilis* e *Bacillus megaterium*⁴; FNR + Az, Fosfato natural reativo mais Az; FNR + *BsBm*, Fosfato natural reativo mais *BsBm*; FNR + ME, Fosfato natural reativo mais ME) ou não (TC, tratamento controle) e cultivado na presença (Capacidade de pote 50%) ou não (CP 100%) de restrição hídrica.

Bioinsumos	E			Gs			A					
	(mmol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)			(mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)			(μmol m ⁻² s ⁻¹)					
	100%	50%	\bar{x} (100%:50%)	100%	50%	\bar{x} (100%:50%)	100%	50%	\bar{x} (100%:50%)			
TC	4.164	3.748	3.956	a	0.24	0.206	0.223	b	25.322	26.262	25.792	a
Az ¹	4.016	4.034	4.025	a	0.214	0.244	0.229	ab	23.022	27.432	25.227	a
ME	4.44	4.518	4.479	a	0.292	0.312	0.302	a	29.152	28.592	28.872	a
<i>BsBm</i> ⁴	4.48	4.57	4.525	a	0.282	0.296	0.289	ab	28.602	27.608	28.105	a
FNR + Az ¹	4.402	4.528	4.465	a	0.274	0.286	0.28	ab	27.272	26.934	27.103	a
FNR + <i>BsBm</i> ⁴	4.576	4.508	4.542	a	0.294	0.278	0.286	ab	30.51	28.572	29.541	a
FNR + ME	4.096	3.706	3.901	a	0.25	0.186	0.218	b	28.422	23.694	26.058	a
CV (%)	11.03			21.61			12.22					

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical dentro de cada condição bioinsumos não diferem entre si pelo teste Tukey a 95% de confiança ($p \leq 0.05$).

O déficit hídrico naturalmente provoca o fechamento dos estômatos para evitar a perda de água (Reis *et al.* 2018), contudo os bioinsumos incrementaram na G_s , promovendo uma maior circulação de gases dentro da folha da planta, resultados estes que divergem com os dados obtidos por Araujo *et al.* (2023), Bono *et al.* (2001) e Marques *et al.* (2021).

4. CONCLUSÃO

Os resultados evidenciaram que a presença de bioinsumos proporcionaram um efeito positivo na altura de *Zea mays* cultivado sob déficit hídrico, embora os demais parâmetros morfológicos não tenham demonstrado alterações significativas. O fosfato natural reativo (FNR) associado aos microrganismos não promoveu incremento significativo no teor de clorofila e eficiência quântica do PSII. Por outro lado, a aplicação de *Azospirillum* proporcionou uma maior eficiência de carboxilação em folhas de *Z. mays* submetido ao déficit hídrico.

A utilização dos microrganismos, principalmente associados ao FNR incrementaram em alguns parâmetros cruciais para amenizar os efeitos colaterais da falta de água em *Z. mays*, necessitando de estudos mais aprofundados sobre dosagem e o funcionamento dessa relação microrganismo/planta em situação de escassez de água.

5. REFERÊNCIAS

ARAUJO, Josinaldo Lopes *et al.* Beneficial microorganisms affect soil microbiological activity and corn yield under deficit irrigation. **Agriculture**, v. 13, n. 6, p. 1169, 2023.

BONO, L.; BERGAMASCHI, H.; ROSA, L. M. G.; FRANÇA, S.; RADIN, B.; SANTOS, A. O.; BERGONCI, J. I. Alterações no padrão de resposta à luz da condutância estomática do milho causadas pelo déficit hídrico. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Santa Maria/RS, v. 9, ed. 1, ISSN 0104-1347, 2001. Disponível em: <https://www.sbagro.org/files/biblioteca/1270.pdf>. Acesso em: 18 out. 2023.

COMPANT, S.; CLÉMENT, C.; SESSITSCH, A. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 42, n. 5, p. 669-678, 2010.

EMBRAPA. 17/11/21. Produção de microrganismos para uso próprio na agricultura (onfarm) - **Official statements**, [S. l.], 17 nov. 2021. Disponível em:

https://www.embrapa.br/en/esclarecimentos-oficiais/-/asset_publisher/TMQZKu1jxu5K/content/nota-tecnica-producao-de-microrganismos-parauso-proprio-na-agricultura-onfarm?inheritRedirect=false&redirect=https%3A%2F%2Fwww.embrapa.br%2Fen%2Fesclarecimentos-oficiais%3Fp_p_id%3D101_INSTANCE_TMQZKu1jxu5K%26p_p_lifecycle%3D0%26p_p_state%3Dnormal%26p_p_mode%3Dview%26p_p_col_id%3Dcolumn1%26p_p_col_count%3D1. Acesso em: 22 set. 2023.

FRITCHE-NETO, R.; BORÉM, A. Melhoramento de plantas para condição de estresses abióticos. **Viçosa: Suprema**, 2011. 250 p.

HAO, Z; HAO, F; SINGH, V. P; ZHANG, X. Quantifying the relationship between compound dry and hot events and El Niño-southern Oscillation (ENSO) at the global scale. **Journal of Hidrology**, v. 567, 2018. P. 332-338. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2018.10.022>.

KASIM, WA; OSMAN, ME.; OMAR, MN.; EL-DAMIN, IAA; BEJAI, S; MEIJER, J.. Control of drought stress in wheat using plant-growth-promoting bacteria. **J. Plant Growth Regul.** 2013;32(1):122-30.

KLOPPER, J.W.; LIFSHITZ, R.; ZABLOTOWICZ, R.M. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. **Trends in Biotechnology**, v.7, p.39-43, [http://dx.doi.org/10.1016/0167-7799\(89\)90057-7](http://dx.doi.org/10.1016/0167-7799(89)90057-7).

LEITE, C. D; MEIRA, A. L. Preparo de Microrganismos Eficientes. In: MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Fichas Agroecológicas: Tecnologias apropriadas para agricultura orgânica: Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas.** 2016. (b) Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sustentabilidade/organicos/fichas-agroecologicas/arquivos-fertilidade-do-solo/31-preparo-de-microrganismos-eficientes-e-m.pdf>.

MARENGO, J.A.; SOARES, W.R. SAULO, C.; NICOLINI, M. Climatology of the Low-Level Jet East of the Andes as Derived from the NCEP-NCAR Reanalyses: Characteristics and Temporal Variability. **Journal of Climate**, v. 17, n. 12, p.2261-2280, 2004.

MARQUES, Daniele Maria *et al.* Gas exchange, root morphology and nutrients in maize plants inoculated with *Azospirillum brasilense* cultivated under two water conditions. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 64, p. e21190580, 2021.

MEENA, V. S.; MEENA, S. K.; VERMA, J. P.; KUMAR, A.; AERON, A.; MISHRA, P. K.; BISHT, J. K.; PATTANAYAK, A.; NAVEED, M.; DOTANIYA, M. L. Plant beneficial rhizospheric microorganism (PBRM) strategies to improve nutrients use efficiency: A review. **Ecological Engineering**, v. 107, p. 8-32, 2017.

MOUSSA, Ziad; OLIVEIRA, Z. M.; AHMED, Saleh A. Antioxidantes exógenos e endógenos não enzimáticos. **Medicina e biologia dos radicais livres**, v. 1, p. 11-22, 2019.

PARENTE, T. L. *et al.* Potássio em cobertura no milho e efeito residual na soja em sucessão. **Revista Agro@Mambiente On-Line**, 10: 193-200, 2016.

PEGORER, A. P. R.; FRANCH, C. M. C.; FRANCH, J. L.; SIQUEIRA, M. F. B.; MOTTA, S. D. Informações sobre o uso do E.M. (Microorganismos Eficazes) – Apostila. **AGRICULTURA NATURAL MESSIÂNICA** - Fundação Mokiti Okada – Rio de Janeiro, 1995. 14p.

PUGAS, A. S.; GOMES, S. S.; DUARTE, A. P. R.; SANTOS, T. E. M.; ROCHA, F. C. Efeito dos Microrganismos Eficientes na taxa de germinação e no crescimento da Abobrinha (*Curcubita Pepo* L.). **Cadernos de Agroecologia**, v. 8, p. 1-5, 2013.

REIS, C. O.; MAGALHÃES, P. C.; ÁVILA, R. G.; ALMEIDA, L.G.; RABELO, V. M.; CARVALHO, D. T. *et al.* Ação de derivados N-succinil e N, O-dicarboximetilquitosana na fotossíntese e fluorescência da clorofila em milho sensível à seca. **J. Regulação do Crescimento Vegetal**. 2018; 1-12. <https://doi.org/10.1007/s00344-018-9877-9>

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>.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia Vegetal*. 5ª Edição. **Artmed Editora**, 2013, 954p.

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, 2019.

TAKETANI, Rodrigo G.; ANDREOTE, Fernando D.; DE MELO, Itamar S. **Screening of Brazilian cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought. Microbiological Research**. v. 168, n. 4, p. 183-191, 2013.

TEDESCO, Marino J.; GIANELLO, Clésio; BISSANI, Carlos A.; BOHNEN, Humberto; VOLKWIESS, Sérgio J. Análises de solo, plantas e outros materiais. **Boletim técnico nº 5**, 2ª edição, 1995.

UNESCO, WWAP. United Nations World Report on Water Resources Development 2020: Water and Climate Change, **Executive Summary**. 2020. Available online: https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000372882_eng.

VARDHARAJURA, S.; ZULFIKAR Ali, S.; GROVER, M.; REDDY, G.; BANDI, V. Drought-tolerant plant growth promoting *Bacillus* spp.: effect on growth, osmolytes, and antioxidant status of maize under drought stress. **Journal of Plant Interactions**, 6(1), 1–14, 2011. <https://doi.org/10.1080/17429145.2010.535178>.

VEJAN, P.; ABDULLAH, R.; KHADIRAN, T.; ISMAIL, S.; BOYCE, A. N. Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability-A review. *Molecules*, v. 21, n. 5, p. 1-17, 2016.

VALE; TÁSIA, M. C; SPYRIDES; CONSTANTINO M. Helena; ANDRADE; BARBOSA, Lara de Melo; BEZERRA; Bergson G.; BERGSON, G.; DA SILVA; POLLYANE, E. Subsistence Agriculture Productivity and Climate Extreme Events. **Atmosphere**, 11: 2-21, 2020. <https://doi.org/10.3390/atmos11121287>.

VINNIKOVA, O. I.; SCHOGOLEV, I. M.; RAIEVSKA, V. N. Effects of bacterization on the development of *Zea mays* during droughts in the conditions of a vegetation experiment. **Australian journal of Crop Science**, 16(3), pp. 357-364. 10.21475/ajcs.22.16.03. p3381