

## Resposta de genótipos de milho à inoculação com bactérias promotoras do crescimento de plantas

André Luís Martins Maia<sup>2</sup>, Roberto dos Santos Trindade<sup>3</sup>, Christiane Abreu de Oliveira Paiva<sup>3</sup>, Eliane Aparecida Gomes<sup>3</sup>, Ubiraci Gomes de Paula Lana<sup>3</sup>, Sylvia Moraes de Sousa Tinôco<sup>3</sup>, Jonnathan Whiny Moraes dos Santos<sup>4</sup>, Rafaela Ferreira de Ávila Souza<sup>4</sup>, Douglas Venâncio Alexandre da Silva<sup>4</sup>, e Isabela Figueiredo de Oliveira<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Trabalho financiado pelo Embrapa/Finep/CNPq, <sup>2</sup>Estudante do Curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário de Sete Lagoas (UNIFEMM) a Bolsista PIBIC do Convênio Fapemig/CNPq/Embrapa/Faped, <sup>3</sup> Pesquisadores da Embrapa Milho e Sorgo, <sup>4</sup> Bolsista da Embrapa Milho e Sorgo.

**Resumo** - O milho é um dos cereais mais importantes globalmente. No entanto, a maioria dos solos brasileiros possui baixa fertilidade natural, representando um desafio para a agricultura. Para aumentar a produtividade e reduzir o impacto ambiental, novas tecnologias, como os inoculantes microbianos, têm sido desenvolvidas. Esses inoculantes contêm microrganismos que promovem o crescimento das plantas, oferecendo uma alternativa mais sustentável em comparação aos fertilizantes químicos. O objetivo deste trabalho foi avaliar híbridos de milho em pré-lançamento e comerciais quanto à responsividade à inoculação por bactérias promotoras de crescimento de plantas em condição controlada. Foram avaliados 42 híbridos de milho quanto à resposta à inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas em condições controladas. Após o período de crescimento, foram analisadas características do sistema radicular e do peso seco das plantas. Os resultados mostraram que houve variação na resposta à inoculação entre os genótipos de milho, com alguns híbridos apresentando respostas positivas, negativas ou neutras. Essa variação também foi observada quando as cepas bacterianas foram avaliadas separadamente. A interação entre as plantas e as bactérias promotoras de crescimento é influenciada por diversos fatores, incluindo o genótipo da planta e das bactérias. Embora as BPCPs possam estimular o crescimento radicular e aumentar a absorção de nutrientes, o sucesso dessa associação depende de mecanismos complexos, destacando a importância do background genético das plantas e das bactérias na regulação dessa interação.

**Palavras-chave:** Bioinoculante, fenotipagem, híbrido, raiz, *Zea mays*.

## Response of corn genotypes to inoculation with plant growth-promoting bacteria

**Abstract** - Corn is one of the most important cereals globally. However, most Brazilian soils have low natural fertility, posing a challenge for agriculture. To increase productivity and reduce environmental impact, new technologies, such as microbial inoculants, have been developed. These inoculants contain microorganisms that promote plant growth, offering a more sustainable alternative

to chemical fertilizers. The objective of this study was to evaluate pre-release and commercial corn hybrids for their responsiveness to inoculation with plant growth-promoting bacteria under controlled conditions. Forty-two corn hybrids were evaluated for their response to inoculation with plant growth-promoting bacteria under controlled conditions. After the growth period, root system characteristics and plant dry weight were analyzed. The results showed variation in response to inoculation among corn genotypes, with some hybrids exhibiting positive, negative, or neutral responses. This variation was also observed when the bacterial strains were evaluated separately. The interaction between plants and growth-promoting bacteria is influenced by several factors, including the genotype of both the plant and the bacteria. Although BPCPs can stimulate root growth and increase nutrient uptake, the success of this association depends on complex mechanisms, highlighting the importance of the genetic background of both plants and bacteria in regulating this interaction.

**Index terms:** Bioinoculant, phenotyping, hybrid, root, *Zea mays*.

## Introdução

O milho está entre os cereais mais produzidos, consumidos e exportados no mundo por causa da sua ampla utilização na alimentação humana e animal, e em indústrias de alta tecnologia (FAO, 2019). Na safra 2021/2022, o Brasil obteve um aumento de 32,8% na produção de milho, chegando a 115,66 milhões de toneladas cultivadas numa área de 21,665 milhões hectares (Conab, 2022). Apesar de o Brasil apresentar uma crescente produção deste cereal, a maior parte dos solos brasileiros apresenta baixa fertilidade natural. Além disso, cerca de 30% dos solos agricultáveis brasileiros estão na região do Cerrado, que, apesar das vantagens agrônômicas relacionadas à topografia e às condições físicas do solo, apresentam sérias limitações químicas.

O milho possui alta variabilidade genética, o que permite seu cultivo em climas tropicais, subtropicais e temperados. No entanto, os sistemas de produção atuais são altamente dependentes de insumos químicos, que aumentam o custo de produção e têm impacto ecológico, quando usados em excesso. Novas tecnologias têm sido desenvolvidas a cada ano com o objetivo de aumentar a produtividade, reduzir o impacto ambiental e promover a sustentabilidade com maior rentabilidade para os agricultores. Os microrganismos promotores de crescimento de plantas são alternativas atraentes e viáveis para aumentar a produção agrícola e fazem parte de uma nova revolução verde. Dentre os insumos biológicos mais utilizados estão os inoculantes microbianos. Um inoculante microbiano é caracterizado como um produto que contém uma ou mais cepas de microrganismos que atuam no desenvolvimento das plantas, incluindo bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCPs) (Calvo et al. 2014). Existem diversos inoculantes comerciais disponíveis no mercado, formulados a partir de estirpes bacterianas capazes de promover aumento da produção de biomassa, do conteúdo de nutrientes e da área de superfície radicular em milho e da produção de grãos (de Sousa et al, 2020; Oliveira-Paiva et al., 2020). Os inoculantes microbianos têm sido cada vez mais utilizados na cultura do milho, por serem uma alternativa de baixo impacto ambiental que leva à maior produtividade com melhor custo-benefício do que o uso isolado de fertilizantes químicos.

Apesar do grande êxito dos bioinoculantes, há diversos parâmetros que podem influenciar a interação planta-microrganismo. As características moduladas pelas bactérias promotoras de

crescimento de plantas (BPCPs) diferem de acordo com a interação com diferentes espécies e genótipos inoculados (Vidotti et al., 2019; Velloso et al., 2020). Dessa forma, é importante compreender as características das estirpes e a resposta à inoculação com BPCPs em diferentes genótipos de milho. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar híbridos de milho em pré-lançamento e comerciais quanto à responsividade à inoculação por bactérias promotoras de crescimento de plantas em condição controlada.

## Material e métodos

Sementes de 44 híbridos de milho (Tabela 1) foram inoculadas com duas cepas de *Bacillus*, previamente selecionadas como eficientes na solubilização de fosfatos. Após a inoculação, as sementes foram secas em temperatura ambiente e colocadas a seguir em papel de germinação em câmara de crescimento por sete dias. Dois híbridos foram descartados das avaliações por apresentarem desuniformidades na germinação, sendo, portanto, avaliados 42 genótipos. Após a germinação, plântulas uniformes foram transplantadas para um sistema floating, formado por bandejas contendo oito litros de solução nutritiva Hoagland meia força pH 5,65 (Liu et al., 1998), com copos de polietileno, dispostos em placas plásticas. A cada três dias, a solução nutritiva foi substituída. As bandejas foram mantidas em câmara de crescimento sob condições controladas, com temperatura diurna de 27 °C e noturna de 20 °C, fotoperíodo de 12 horas e aeração contínua, onde permaneceram por quatorze dias. O delineamento foi inteiramente casualizado, com três repetições, com três plantas em cada repetição. Foram montados quatro experimentos com 14 híbridos de milho, sendo quatro híbridos comerciais usados como testemunhas (Tabela 1), com inoculação e sem inoculação em cada experimento.

**Tabela 1.** Genótipos de milho avaliados quanto à resposta à inoculação sob condições controladas. T: testemunhas comuns.

Experimento 1		Experimento 2		Experimento 3		Experimento 4	
Genótipo		Genótipo		Genótipo		Genótipo	
1	1Q2366	11	3R2575	21	1R2539	31	1R2530
2	1Q2403	12	1R2628	22	1N1958	32	2R2642
3	1P2215	13	1Q2423	23	1R2622	33	1F640PRO2
4	3P2200	14	1Q2359	24	1R2521	34	1P2181
5	1Q2370	15	1R2629	25	1Q2427	35	1Q2400
6	1Q2473	16	1Q2425	26	1R2529	36	2R2643
7	1P2206	17	1Q2363	27	3R2593	37	BM709Pro2
8	1Q2461	18	BRS 1055	28	1R2526	38	P30F53
9	1R2536	19	1R2540	29	1R2546	39	AG8061VTPro2
10	AG8088PRO2	20	1R2620	30	1R2631	40	DKB310VTPro2
T1	DKB390VTPro2	T1	DKB390VTPro2	T1	DKB390VTPro2	T1	DKB390VTPro2
T2	BRS3042VTPro2	T2	BRS3042VTPro2	T2	BRS3042VTPro2	T2	BRS3042VTPro2
T3	SHS7930Pro2	T3	SHS7930Pro2	T3	SHS7930Pro2	T3	SHS7930Pro2
T4	AG8088VTPro2	T4	AG8088VTPro2	T4	AG8088VTPro2	T4	AG8088VTPro2

Após o término do experimento, o sistema radicular foi separado da parte aérea e foi avaliado com o software Winrhizo v. 4.0 (Regent Systems, Quebec, Canadá), acoplado ao escâner Epson XL 10000 equipado com unidade de luz adicional (TPU), a fim de analisar parâmetros da morfologia radicular, de acordo com de Sousa et al. (2012). Foram avaliados o volume radicular total, o diâmetro médio das raízes, a área total superficial das raízes, o volume e a área superficial das raízes com diâmetros entre 0 mm e 1 mm (superfinas), entre 1 mm e 2 mm (finas) e maior que 2 mm (grossas). Posteriormente, as raízes foram secas em estufa com circulação de ar a 65 °C durante 72 horas, e em seguida o peso seco foi aferido com uma balança de precisão.

Todas as diferenças entre as médias ajustadas dos tratamentos foram comparadas para cada característica utilizando o teste de Tukey com nível de significância 5% do programa R (versão 3.6.1), utilizando o pacote Agricolae (Mendiburu, 2015).

## Resultados e discussão

Neste trabalho, diversos genótipos de milho foram avaliados com e sem inoculação com duas estirpes de *Bacillus* previamente identificadas como promotoras de crescimento de plantas e solubilizadoras de fosfatos, em condições de hidroponia, para screening precoce. O sistema hidropônico é um método rápido e eficaz para a análise da morfologia radicular e para a triagem de BPCPs no estágio de plântulas antes de experimentos em campo, os quais são mais trabalhosos e demandam maior tempo (de Sousa et al., 2021). A análise de variância das características morfológicas do sistema radicular e do peso seco para os 42 híbridos de milho avaliados com e sem inoculação com duas estirpes de BPCPs mostrou que há variabilidade entre genótipos, inoculação e experimentos (Tabela 1). Os genótipos 1R2629 e 1Q2425 não apresentaram germinação, portanto não foram considerados nas análises. Foi observado coeficiente de variação médio para a maioria das características (Tabela 2).

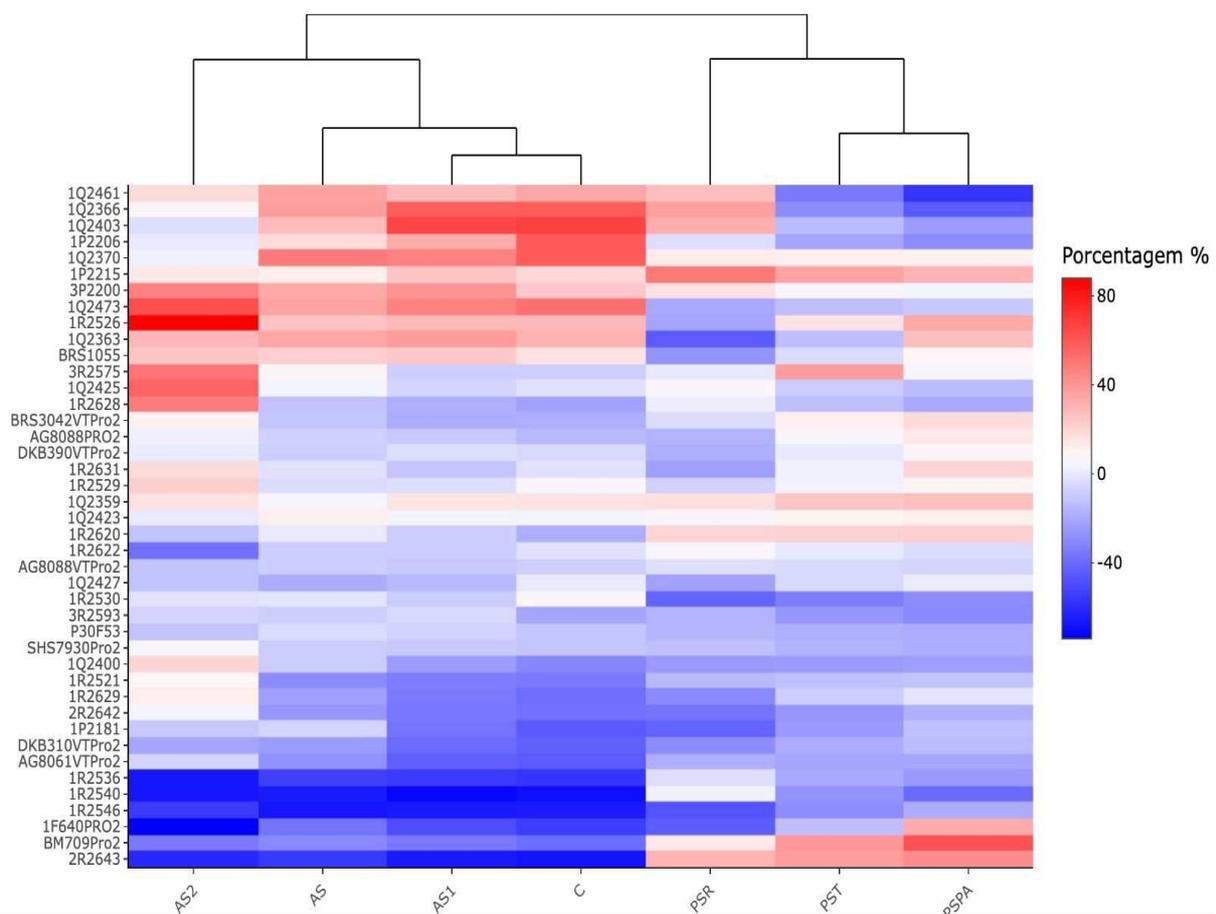
**Tabela 2.** Resumo da análise de variância para as médias das características radiculares e de peso seco para 42 genótipos de milho inoculados com duas cepas de BPCPs.

	GL	Quadrado Médio						
		C (cm)	AS (cm <sup>2</sup> )	AS1 (cm <sup>2</sup> )	AS2 (cm <sup>2</sup> )	PSPA (g)	PSR (g)	PST (g)
<b>Genótipo</b>	41	637396***	15213,7***	5995,0***	746,11***	0,0310***	0,0043***	0,0401***
<b>Inoculante</b>	1	1897389***	19655,3**	14083,7***	4,73ns	0,00996ns	0,0068**	0,0339**
<b>Experimento</b>	3	445805*	10347,7***	3539,4*	739,36***	0,08840***	0,3335**	0,1221***
<b>Erro</b>	259	163781	2459,1	1198,1	100,81	0,0035	0,0008	0,004
<b>Total</b>	304							
<b>CV (%)</b>		29,69	24,54	28,38	28,65	23,54	27,18	17,96
<b>Média Geral</b>		1362,98	202,08	121,96	35,04	0,25	0,1	0,35

Comprimento total de raiz (C); área de superfície total de raiz (AS); áreas de superfície de raízes de 0 cm<sup>2</sup> a 1 cm<sup>2</sup> (AS1) e 1 cm<sup>2</sup> a 2 cm<sup>2</sup> (AS2); peso seco da raiz (PSR), da parte aérea (PSPA) e peso seco total (PST); ns=não significativo; \*=significativo a 5%; \*\*= significativo a 1%; \*\*\*= significativo a 0,1% de probabilidade pelo teste Tukey.

Houve resposta positiva, negativa e neutra para a inoculação com as duas cepas de BPCPs, dependendo dos genótipos de milho e das características. O híbrido 1P2215 apresentou resposta

positiva para todas as características avaliadas, enquanto os híbridos 1R2622, AG8088VTPro2, 1Q2427, 1R2530, 3R2593, P30F53, SHS7930Pro2, 1R2521, 1R2629, 2R2642, 1P2181, DKB310VTPro2, AG8061VTPro2, 1R2536, 1R2540, 1R2546 apresentaram resposta negativa à inoculação para todas as características avaliadas (Figura 1). Os demais genótipos apresentaram respostas tanto positivas quanto negativas, dependendo da característica avaliada. Esta variação foi também observada quando avaliados genótipos de milho inoculados com duas cepas bacterianas separadamente (Velloso et al., 2020). As BPCPs podem estimular o crescimento radicular nos estágios iniciais do desenvolvimento das plantas, promovendo uma maior absorção de nutrientes e o crescimento das plantas, compensando o custo inicial da associação planta-bactéria. No entanto, o estabelecimento da associação planta-BPCPs envolve mecanismos complexos, sendo que o background genético da planta hospedeira e das bactérias desempenha um papel crucial na regulação dessa associação (Vidotti et al., 2019).



**Figura 1.** Mapa de calor de genótipos de milho inoculados com duas cepas de BPCPs comparados com controle não inoculado. C: comprimento total de raiz (cm); AS: área de superfície total de raiz (cm<sup>2</sup>); AS1 e AS2 (cm<sup>2</sup>): áreas de superfície de raízes de 0 a 1 cm<sup>2</sup> e 1 a 2 cm<sup>2</sup>, respectivamente; PSR: peso seco de raiz (g); PSPA: peso seco de parte aérea (g); PST: peso seco total (g).

## Conclusão

A magnitude da resposta à inoculação com bactérias promotoras de crescimento é dependente do genótipo da planta. O genótipo 1P2215 apresentou resposta positiva para todas as características radiculares e de peso seco em ensaios conduzidos em solução nutritiva. Para melhor entendimento de respostas genéticas, fisiológicas e morfológicas de cultivares de milho à

inoculação, e das possíveis interações entre plantas e cepas de BPCPs, são necessários ensaios complementares, inclusive de resposta em campo.

## Referências

CALVO, P.; NELSON, L.; KLOPPER, J.W.; (2014). **Agricultural uses of plant biostimulants**. *Plant Soil*, v. 383, n. 1-2), p. 3-41.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). (2023). Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>>.

DE SOUSA, S. M.; CLARK, R. T.; MENDES, F. F.; DE OLIVEIRA, A. C.; DE VASCONCELOS, M. J. V.; PARENTONI, S. N.; KOCHIAN, L. V.; GUIMARÃES, C.T.; MAGALHÃES, J. V. (2012). **A role for root morphology and related candidate genes in P acquisition efficiency in maize**. *Functional Plant Biology*, v. 39, n. 11, p. 925-935, 2012.

DE SOUSA, S.M.; DE OLIVEIRA, C.A.; ANDRADE, D.L.; CARALHO, C.G.; RIBEIRO, P. V.; PASTINA, M.M.; MARRIEL, I.E.; LANA, U.G.P.; GOMES, E.A. (2021). **Tropical *Bacillus* strains inoculation enhances maize root surface area, dry weight, nutrient uptake and grain yield**. *Journal of Plant Growth Regulation*, v. 40, p. 867-877.

FAO - **Food and Agricultural Organization (2023)**. FAOSTAT, FAO Statistical Databases. Disponível em:< <http://www.fao.org/faostat/en/#home>>

OLIVEIRA-PAIVA, C.A.; MARRIEL, I.E.; GOMES, E.A.; COTA, L.V.; SANTOS, F.C.; DE SOUSA, S.M.; LANA, U.G.P.; OLIVEIRA, M.C.; MATTOS, B.B.; ALVES, V.M.C.; RIBEIRO, V.P.; VASCO-JUNIOR, R. **Recomendação agrônômica de cepas de *Bacillus subtilis* e *Bacillus megaterium* na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa, 2020 (Circular Técnica).

LIU, C.; MUCHHAL, U.S.; UTHAPPA, M. et al. (1998). **Tomato phosphate transporter genes are differentially regulated in plant tissues by phosphorus**. *Plant Physiol.* v. 116, p. 91–99.

MENDIBURU, F.D. agricolae: **Statistical Procedures for Agricultural Research**. R Package V. 1.2-3. (2015). Disponível em: < <https://cran.rproject.org/web/packages/agricolae/index.html>> .

VELLOSO, C.C.V.; OLIVEIRA-PAIVA, C.A.; GOMES, E.A.; LANA, U.G.P.; CARVALHO, G.C.; GUIMARÃES, L.J.M.; PASTINA, M.M.; DE SOUSA, S.M. (2020). **Genome-guided insights of tropical *Bacillus* strains efficient in maize growth promotion**, *FEMS Microbiology Ecology*, v. 9, n. 9, f157.

VIDOTTI, M. S.; MATIAS, F. I.; ALVES, F. C.; PÉREZ-RODRÍGUEZ, P.; BELTRAN, G. A.; BURGUEÑO, J.; CROSSA, J.; FRITSCHÉ-NETO, R. (2019). **Maize responsiveness to *Azospirillum brasilense*: Insights into genetic control, heterosis and genomic prediction**. *PloS One*, v. 14, n. 6, p. e0217571.