

COLONIZAÇÃO *IN VITRO* DE RAÍZES DE SORGO POR RIZOBACTÉRIAS

Rebeca Guedes Cabral¹, Rafila Burjack Cardoso¹, Gentil Cavalheiro Adorian², Roberta Zani da Silva², Evelynne Urzêdo Leão²

RESUMO:

A incorporação de rizobactérias promotoras de crescimento aos sistemas de produção vem se tornando uma estratégia promissora para minimizar os fatores limitantes nos cultivos, como o estresse hídrico e os problemas fitossanitários. Diante disso, objetivou-se com este trabalho avaliar a colonização *in vitro* de raízes de sorgo por rizobactérias através de métodos de microbiolização das sementes. O trabalho foi conduzido em laboratório, no Complexo de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Estadual do Tocantins, Palmas/TO. Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial (2x5), com dois métodos de microbiolização e cinco tratamentos, com quatro repetições. Os métodos de microbiolização foram sementes sem pré-germinação e sementes pré-germinadas. Os tratamentos foram produtos comerciais a base de rizobactérias: *Azospirillum brasilense*, cepas AbV5 e AbV6 (UFPR) (Azokop[®]); *Bacillus methylotrophicus* UFPEDA 20 (Onix[®]); *Bacillus subtilis* UFPEDA 764 (Rizos[®]); *Bacillus megaterium* + *Bacillus subtilis* (BiomaPhos[®]) e testemunha (água destilada). A avaliação da colonização radicular foi realizada visualmente, considerando que a presença de uma névoa turva e esbranquiçada ao longo e em torno da raiz indicava colonização pelas rizobactérias. Avaliou-se também a porcentagem de germinação e o comprimento da parte aérea e raiz. As sementes inoculadas com os produtos comerciais a base de *B. methylotrophicus* e da combinação de *B. megaterium* + *B. subtilis* demonstraram um percentual maior em relação a colonização radicular e germinação de sementes de sorgo, quando comparadas aos produtos comerciais a base de *A. brasilense*, *B. subtilis* e a testemunha. Não houve diferença significativa para a variável altura da parte aérea entre as médias analisadas nos tratamentos e métodos utilizados. Já para o comprimento da raiz, não houve diferença significativa entre os tratamentos, porém houve diferença entre os métodos. Os resultados obtidos no estudo demonstraram que a utilização de produtos comerciais a base de rizobactérias em sementes de sorgo tem potencial para serem utilizadas em estudos futuros, visando promover a utilização das rizobactérias na promoção do crescimento desta gramínea.

Palavras-chave: *Azospirillum* sp; *Bacillus* sp.; Bactérias promotoras de crescimento; Grãos; *Sorghum bicolor*.

IN VITRO COLONIZATION OF SORGHUM ROOTS BY RHIZOBACTERIA

ABSTRACT:

The incorporation of growth promoting rhizobacteria to the production systems has become a promising strategy to minimize limiting factors in crops, such as water stress and phytosanitary problems. Therefore, this work aimed to evaluate the *in vitro* colonization of sorghum roots by rhizobacteria through seed microbiolization methods. The work was conducted in the laboratory, in the Agricultural Sciences Complex - ASC of the State University of Tocantins, Palmas - TO. An entirely randomized design was used, in a factorial scheme (2x5), with two microbiolization methods and five treatments, with four repetitions. The microbiolization methods were seeds without pre-germination and pre-germinated seeds. The treatments were

¹Engenheiras Agrônomas, cabralrebeca@unitins.br, <https://orcid.org/0009-0002-3537-809X>; rafillacardoso00@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0006-2880-0538>.

²Docentes da Universidade Estadual do Tocantins. Palmas - TO. Brasil. gentil.ca@unitins.br, <https://orcid.org/0000-0002-0648-9615>; roberta.zs@unitins.br; <https://orcid.org/0000-0002-3817-8520>; evelynne.ul@unitins.br, <https://orcid.org/0000-0002-1974-6043>.

commercial products based on rhizobacteria: *Azospirillum brasilense*, strains AbV5 and AbV6 (UFPR) (Azokop®); *Bacillus methylotrophicus* UFPEDA 20 (Onix®); *Bacillus subtilis* UFPEDA 764 (Rizos®); *Bacillus megaterium* + *Bacillus subtilis* (BiomaPhos®) and control (distilled water). The evaluation of root colonization was performed visually, considering that the presence of a cloudy and whitish haze along and around the root indicated colonization by rhizobacteria. The germination percentage and the length of the aerial part and root were also evaluated. Seeds inoculated with commercial products based on *Bacillus methylotrophicus* and the combination of *Bacillus megaterium* + *Bacillus subtilis* showed a higher percentage in relation to root colonization and germination of sorghum seeds, when compared to commercial products based on *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis* and the control. There was no significant difference for the variable aboveground height, between the analyzed means in the treatments and methods used. For root length, there was no significant difference between treatments, but there was a difference between the methods. The results obtained in this study showed that the use of commercial products based on rhizobacteria in sorghum seeds has the potential to be used in future studies, aiming to promote the use of rhizobacteria in promoting the growth of this grass.

Keywords: *Azospirillum* sp.; *Bacillus* sp.; Grains; Growth promoting bacteria; *Sorghum bicolor*.

O sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] é o quinto cereal mais produzido no mundo e está entre as principais culturas cultivadas no Brasil (Tabosa et al., 2019). Segundo a CONAB (2022), a safra 2021/2022 obteve um acréscimo de 22% em área plantada de sorgo em relação à safra anterior, evidenciando um crescimento exponencial quando comparado aos números do início da década. Ainda nesta safra, a produção média do grão foi de 2.853,6 mil ton com produtividade média de 2.763 kg ha⁻¹ (CONAB, 2022). Em geral, o cultivo do sorgo no Brasil acontece na segunda safra, como também a do milho (*Zea mays* L.), que tem resultado em menores produtividades em segunda safra, mas tem favorecido a expansão de sorgo, principalmente nas regiões do Cerrado. Com isso, o sorgo tornou-se uma alternativa viável e está presente em maior proporção nas regiões do país que cultivam a segunda safra.

A crescente demanda por grãos, no mundo, associada ao substancial melhoramento genético dos híbridos de sorgo, tem alavancado, a cada ano, a área plantada e a produtividade da cultura do sorgo no Brasil (Almeida Filho et al., 2010), como mencionado anteriormente. Por ser uma planta de clima tropical e dias curtos, possui certa tolerância à seca, sendo cultivado em diversas regiões com baixos índices de precipitação anual. Em razão da baixa exigência de nutrientes no seu cultivo, o investimento exigido é baixo, quando comparado ao milho, segundo dados da Reunião Técnica Anual da Pesquisa do Milho (EMBRAPA, 2017).

Apesar da crescente demanda pelo grão, a produtividade ainda é baixa e está diretamente relacionada à falta de investimento na lavoura, visto que o sorgo é cultivado em poucas regiões e com práticas de manejo reduzidas. Logo, a busca de alternativas menos onerosas no manejo vem sendo propostas para incrementar a produtividade da cultura.

A utilização de rizobactérias, por exemplo, é uma alternativa ao manejo da cultura do sorgo, visto que a sua utilização no milho já se observa incrementos na produtividade, seja pelo controle biológico de doenças ou pela regulação de importantes processos de mineralização de nutrientes no solo, como no ciclo do nitrogênio e carbono e na solubilização de fosfatos ou mesmo através da produção de fitohormônios, importantes no desenvolvimento vegetal (Bhattacharyya & Jha, 2012).

Avaliando o efeito potencial da inoculação única e da co-inoculação de estirpes de *Azospirillum brasilense* e de *Bacillus* spp. no desenvolvimento e desempenho produtivo de milho sob três regimes de irrigação, Reis et al. (2022) observaram que os tratamentos *A. brasilense* e a combinação *A. brasilense* + *Bacillus* spp. promoveram maiores massas de espigas e de grãos em comparação com os demais tratamentos em plantas expostas a déficit hídrico severo. Os autores relataram ainda que em condições ambientais desfavoráveis, como no déficit hídrico, as rizobactérias possuem um papel importante, auxiliando na adaptação e tolerância em plantas.

Já no sorgo, Nakao et al. (2018) avaliando o manejo da adubação nitrogenada em grãos de sorgo inoculados ou não com *A. brasilense* em cultivo solteiro ou consorciado com *Urochloa brizantha* (cv. Paiaguás) na entressafra, constataram que em condições de clima seco, a inoculação de sementes de sorgo com *A. brasilense* aumentou a produtividade de grãos.

De modo geral, os benefícios advindos da utilização de rizobactérias em culturas como o sorgo vem sendo consolidados (Carlson et al., 2020). No entanto, o estabelecimento das rizobactérias na rizosfera é uma condição fundamental para que o microrganismo possa interagir com a planta, seja o sorgo ou outras culturas. Além disso, é necessário que as bactérias se espalhem ao longo da raiz e não perca a capacidade de sobreviver e multiplicar-se de maneira competitiva em relação à comunidade nativa. A colonização radicular é um processo muito complexo, pois diferentes microrganismos estão sujeitos a diversos fatores bióticos e abióticos, como umidade do solo, luz, exsudação radicular etc. (Chiarini et al., 1997; Benizri et al., 2001). Tentar monitorar a colonização radicular utilizando técnicas *in vitro* é necessário quando se está buscando visualizar a ocorrência da interação entre a rizobactéria e a planta para então levar a estudos mais robustos verificando os principais benefícios oriundos desta colonização.

Diante do exposto, objetivou-se com este trabalho avaliar a colonização *in vitro* de raízes de sorgo por rizobactérias através de métodos de microbiolização das sementes.

Os experimentos foram conduzidos em condições de laboratório no Complexo de Ciências Agrárias – (CCA) da Universidade Estadual do Tocantins – UNITINS no município de Palmas/TO. Utilizou-se sementes de sorgo granífero cv. BM 737.

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial (2x5), com dois métodos de microbiolização da semente e cinco tratamentos, com quatro repetições. Os métodos de microbiolização foram: sementes sem pré-germinação (Romeiro, 2007) e sementes pré-germinadas (Sottero et al. 2006). Os tratamentos foram a utilização de produtos comerciais a base de rizobactérias, sendo eles: *Azospirillum brasilense*, cepas AbV5 e AbV6 (UFPR) (Azokop® - garantia de 2×10^8 UFC/mL); *Bacillus methylotrophicus* UFPEDA 20 (Onix® - garantia de 1×10^9 UFC/mL); *Bacillus subtilis* UFPEDA 764 (Rizos® - garantia de 3×10^9 UFC/mL); *Bacillus megaterium* + *Bacillus subtilis* (BiomaPhos® – garantia de 4×10^9 UFC/mL) e testemunha (água destilada).

Para a microbiolização das sementes sem pré-germinação, utilizou-se o método descrito por Romeiro (2007), adaptado, onde as sementes de sorgo foram desinfestadas em álcool a 70% por 60 segundos, e hipoclorito de sódio a 2%, durante 60 segundos, lavadas em água destilada esterilizada e imersas separadamente nas soluções dos produtos comerciais utilizados, com a dosagem recomendada pelo fabricante, durante 24 horas, e secas em temperatura ambiente por uma hora. Em seguida, cinco sementes de cada um dos tratamentos foram transferidas individualmente para tubos de ensaio contendo meio ágar-água a 8%. Os tubos foram mantidos em B.O.D (Demanda Bioquímica de Oxigênio) a 25 °C, sob fotoperíodo de 12 horas, durante 10 dias.

No segundo método, pré-germinadas, seguindo o proposto por Sottero et al. (2006), as sementes de sorgo foram submetidas a desinfecção em hipoclorito de sódio a 2%, durante 60 segundos, e posteriormente lavadas em 100 ml água destilada esterilizada, para remoção do resíduo do hipoclorito. Na sequência, as sementes foram distribuídas em placas de Petri com algodão e papel filtro umedecido, as placas foram devidamente embrulhadas em papel alumínio e deixadas na B.O.D por 24 horas. As

sementes foram retiradas após as 24 horas e colocadas na suspensão dos tratamentos, conforme descritos anteriormente, por 10 minutos. Após este tempo de repouso, as sementes foram distribuídas em papel toalha para secagem durante 10 minutos. Quatro sementes de cada um dos tratamentos foram transferidas, individualmente, para tubos de ensaio contendo meio ágar-água a 8%. Os tubos foram mantidos em B.O.D a 25 °C, sob fotoperíodo de 12 horas, durante 10 dias.

Após os dez dias, realizou-se a análise da colonização radicular do sorgo de ambos os métodos, visualmente, com o auxílio de um microscópio estereoscópico (Lupa). A presença de uma névoa turva e esbranquiçada ao longo e em torno da raiz do sorgo em formação indicou crescimento bacteriano, recebendo o sinal de (+). Quando não se observou tal névoa, considerou-se que a colonização não ocorreu e assim recebeu sinal (-). Após os dez dias também foram avaliadas as plântulas de sorgo, quanto à germinação, comprimento da raiz principal e parte aérea. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas com o teste de Tukey a 5% utilizando o programa estatístico Assistat (versão 7.7 pt).

Na Tabela 1 pode-se evidenciar os efeitos entre os diferentes métodos de microbiolização e tratamentos com produtos comerciais a base de rizobactérias na germinação e colonização de raízes de sorgo. Ao comparar métodos de microbiolização, é notório que no segundo método, com sementes pré-germinadas, houve uma menor taxa de germinação. Esta menor germinação pode estar relacionada ao maior risco de contaminação, uma vez que o processo conta com mais etapas do que o método com sementes sem pré-germinação. Essa condição pode ter interferido diretamente no processo de germinação e colonização das bactérias nas plântulas de sorgo.

Na microbiolização sem pré-germinação de sementes, foi possível visualizar a colonização em todos os tratamentos com produtos comerciais a base de rizobactérias (Tabela 1). Já no método com as sementes pré-germinadas não foi possível observar colonização das raízes no tratamento com o produto comercial contendo a rizobactéria *B. subtilis* e na testemunha.

Tabela 1 - Efeito de diferentes métodos de microbiolização e tratamento com produtos comerciais a base de rizobactérias na germinação das sementes e colonização de raízes de sorgo

Tratamentos	Métodos de Microbiolização			
	A ¹	B ²	A	B
	-----Colonização ³ -----		-----% Germinação-----	
<i>Azospirillum brasilense</i>	(+)	(+)	100	80
<i>Bacillus methylotrophicus</i>	(++)	(+)	100	100
<i>Bacillus subtilis</i>	(+)	(-)	80	80
<i>Bacillus megaterium</i> + <i>Bacillus</i>	(++)	(+)	100	100
Testemunha	(-)	(-)	100	80

¹ Método A – sem pré-germinação; ² Método B – com pré-germinação das sementes; ³(-) não visualização da colonização; (+) visualização da colonização em pelo menos 1 uma repetição; (++) visualização da colonização em mais de 1 uma repetição.

Romeiro (2007) e Queiroz et al. (2006) relatam que a colonização de raízes por rizobactéria pode ser verificada através da microbiolização de sementes depositadas em tubo contendo meio não nutritivo como ágar-água ou Phytigel, sendo que as bactérias que possuem capacidade de colonizar mostram, ao longo das raízes, a presença de material com aspecto leitoso, resultante do crescimento bacteriano promovido pelo exsudato das raízes, já que o meio não fornece condições para seu desenvolvimento.

De acordo com os resultados de Queiroz et al. (2006) o Phytigel tem uma maior sensibilidade na detecção da bactéria no sistema radicular, onde mesmo visualmente, ou com auxílio de microscópio estereoscópico, pode-se detectar o crescimento bacteriano ao longo das radículas. Este é um meio extremamente transparente que facilita a triagem rápida de muitas bactérias, com potencial de colonizar o sistema radicular, no entanto é oneroso e somente em laboratórios que realizam triagens rotineiras com bactérias utiliza-o. Uma alternativa viável é a utilização do meio ágar-água, nas concentrações variando de 0,4 a 0,8% de ágar, que apesar não ser tão transparente quanto o Phytigel, possibilita a visualização da colonização radicular e não requerer altos investimentos.

Segundo Habe e Uesugi, (2000) e Silva et al. (2003) os métodos *in vitro* de monitoramento da colonização radicular podem ser eficientes para selecionar possíveis agentes de controle biológico *in vivo* ou promotores de crescimento. Sottero et al. (2006) afirma ainda que a vantagem da avaliação da

colonização *in vitro* reside no fato de permitir a avaliação rápida de um grande número de isolados.

Considerando os resultados de colonização das raízes de sorgo, observou-se que os produtos comerciais à base das rizobactérias *B. methylotrophicus* seguida de *B. megaterium* +*Bacillus subtilis* proporcionaram maior frequência de colonização do que os outros dois tratamentos avaliados. Em relação a germinação das plântulas de sorgo os dois tratamentos, mencionados anteriormente, também obtiveram maior destaque, com a taxa de germinação em 100%. Os produtos comerciais a base das rizobactérias, *A. brasilense* e *B. subtilis*, obtiveram média menor em relação a colonização e germinação das plântulas, sendo que a germinação das sementes de sorgo, após o tratamento com os dois produtos, apresentou uma taxa de germinação de cerca de 80%. Para a testemunha, a taxa de germinação das sementes no primeiro método foi de 100% e para o segundo método 80%. Essa baixa taxa pode ser justificada devido a contaminação por fungos que impediu a germinação de algumas sementes.

De acordo com a análise de variância descrita na Tabela 2, para a variável altura da parte aérea e comprimento da raiz, não ocorreu diferença significativa entre os tratamentos com produtos comerciais a base de rizobactérias. Entretanto, os métodos de microbiolização das sementes testados influenciaram o comprimento da raiz principal e não influenciaram na altura da parte aérea.

Tabela 2 - Resumo da análise de variância das médias de altura da parte aérea e comprimento da raiz de plântulas de sorgo cultivadas *in vitro*, em meio ágar-água a 8%, submetidas a métodos de microbiolização das sementes e tratamentos com produtos comerciais a base de rizobactéria.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Quadrado médio	
		Altura	Comprimento
Métodos	1	0,19600 ^{ns}	68,90625*
Tratamentos	4	13,40037 ^{ns}	8,50938 ^{ns}
Métodos x Tratamentos	4	1,54288 ^{ns}	59,42188**
Repetição	9	6,66322 ^{ns}	37,84792**
CV (%)		24,84	25,83

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$); ^{ns}não significativo ($p \geq 0,05$).

Ao avaliar o efeito de diferentes métodos de microbiolização e tratamento com produtos comerciais a base de rizobactérias na altura e comprimento da raiz de plântulas de sorgo cultivadas *in vitro*, conforme descritos na Tabela 3, foi possível observar que não houve diferença significativa para a variável altura da parte aérea entre as médias analisadas nos tratamentos e métodos utilizados. Dodd et al. (2010) e Kang et al. (2014) entretanto, destacam que o crescimento da parte aérea, assim como do número de folhas e aérea foliar pode ser atribuído a capacidade das rizobactérias de induzir a síntese de giberelinas e citocininas que regulam a expansão foliar e a síntese de clorofilas.

Para a variável comprimento da raiz, como descrito na Tabela 3, houve diferença significativa entre os métodos analisados. Já os tratamentos com os produtos comerciais à base de rizobactérias não influenciaram o crescimento radicular das plântulas, neste estudo. O método A, sem a pré germinação das

sementes, mostrou-se superior na avaliação do comprimento da raiz.

O estabelecimento bacteriano na rizosfera é fundamental para que haja interação entre o microrganismo com a planta. Porém, nem sempre as bactérias repetem sua atuação como promotoras de crescimento, mesmo em testes realizados em condições semelhantes. A inconstância dos resultados é citada por diversos autores (Sottero et al., 2006; Queiroz, et al., 2006).

Leão et al. (2014) avaliando o potencial *in vitro* de *Bacillus* spp. no controle de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em feijoeiro-comum e colonização radicular observaram que não houve diferença no desenvolvimento das plântulas, tanto em relação ao comprimento da raiz e da parte aérea quanto aos efeitos promovidos pelas bactérias ensaiadas. Fato este que os autores mencionam que pode ser explicado pela pouca idade e pelas condições de desenvolvimento das plântulas em Phytigel, semelhante ao observado em nosso estudo.

Tabela 1 - Efeito de dois métodos de microbiolização e tratamento de sementes com produtos comerciais a base de rizobactérias na altura e comprimento da raiz de plântulas de sorgo cultivadas *in vitro* em meio ágar-água a 8%.

Tratamentos	Métodos de Microbiolização			
	A ¹	B ²	A	B
	Alt. Parte Aérea (cm)		Comp. Raiz (cm) ³	
<i>Azospirillum brasilense</i>	10,75	10,50	9,87	14,25
<i>Bacillus methylotrophicus</i>	12,75	11,25	11,25	13,25
<i>Bacillus subtilis</i>	9,12	9,25	16,5	9,12
<i>Bacillus megaterium</i> + <i>Bacillus</i>	11,87	11,87	14,75	9,75
Testemunha	9,07	10,00	18,12	11,00
Média	10,71A	10,57A	14,10 A	11,47 B

¹ Método A – sem pré-germinação; ² Método B – com pré-germinação das sementes; ³ As médias seguidas pela mesma letra maiúscula, entre os métodos, não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

De modo geral, as sementes inoculadas com os produtos comerciais a base de *B. methylotrophicus* e da combinação de *B. megaterium* + *B. subtilis* demonstraram um percentual maior em relação a colonização radicular e germinação de sementes de sorgo, quando comparadas aos produtos comerciais a base de *A. brasilense*, *B. subtilis* e a Testemunha.

Portanto, os resultados obtidos no estudo demonstram que a utilização de produtos comerciais a base de rizobactérias em sementes de sorgo têm potencial para serem utilizadas em estudos futuros, visando promover a utilização das rizobactérias na promoção do crescimento desta gramínea.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida Filho, J. E.; Tardin, F.D.; Souza, S.A.; Godinho, V.P.C.; Cardoso, M.J. (2016) Desempenho agrônomo e estabilidade fenotípica de híbridos de sorgo granífero. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, 9(1): 51-64.
- Benizri, E.; Baudoin, E.; Gukert, A. (2001) Root colonization by inoculated plant growth-promoting rhizobacteria. **Biocontrol Science and Technology**, 11(5):557-574.
- Bhattacharyya, P. N.; JHA, D. K. (2012) Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR): Emergence in Agriculture. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 28(4): 1327-1350.
- Carlson, R.; Tugizimana, F.; Steenkamp, P.A.; Dubery, I.A.; Hassen, A.I.; Labuschagne, N. (2020) Rhizobacteria-induced systemic tolerance against drought stress in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. **Microbiological Research**, 232: 126388. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.126388>
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento de safra brasileiro – grãos: Sexto levantamento, 2022 – safra 2021/2022**: Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento. 2022.
- Luigi Chiarini, L.; Bevivino, A.; Tabacchioni, S.; Dalmastri, C. (1998). Inoculation of *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas fluorescens* and *Enterobacter* sp. on *Sorghum bicolor*: Root colonization and plant growth promotion of dual strain inocula. **Soil Biology and Biochemistry**, 30(1):81-87. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(97\)00096-5](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(97)00096-5).
- Dodd, I.C.; Zinovkina, N.Y.; Safronova, V.I.; Belimov, A.A. (2010). Rhizobacterial mediation of plant hormone status. **Annals of Applied Biology**, 157: 361-379. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2010.00439.x>
- EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Reunião Técnica Anual da Pesquisa do Milho. **Indicações técnicas para o cultivo de milho e de sorgo no Rio Grande do Sul: safras 2017/2018 e 2018/2019**. In: LXII Reunião Técnica Anual da Pesquisa do Milho; XLV Reunião Técnica Anual da Pesquisa do Sorgo, Brasília, DF: Embrapa, 2017.
- Habe, M.H.; Uesugi, C.H. (2000) Método in vitro para avaliar a capacidade colonizadora de bactérias em raízes de tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, 25(4):657-660.
- Kang, S.M.; Khan, A.L.; You, Y.H.; Kim, J.G.; Kamran, M.; Lee, I.J. (2014). Gibberellin production by newly isolated strain *Leifsonia soli* SE134 and its potential to promote plant growth. **Journal of Microbiology and Biotechnology**. 24(1):106-12. DOI: 10.4014/jmb.1304.04015. PMID: 24100624.
- Leão, E.U.; Silva, J.C.; Medeiros, F.R.; Macêdo, G.S.S.R.; Adorian, G.C.; Maringoni, A.C. (2016). Potencial in vitro de *Bacillus* spp. no controle de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em feijoeiro-comum. **Summa Phytopathologica**, 42(4):360-362.
- Nakao, A. H.; Andreotti, M.; Soares, D.A.; Modesto, V.C.; & Dickmann, L. (2018). Intercropping *Urochloa brizantha* and sorghum inoculated with *Azospirillum brasilense* for silage. **Revista Ciência Agronômica**, 49(3), 501–511. <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20180057>
- Queiroz, B. P.V.; Aguilar-Vildoso, C. I.; Melo, I. S. (2006). Phytigel otimizando a visualização da colonização da rizosfera por bactérias. **Summa Phytopathologica**, 27(1):95-97.
- Reis, C.O.; Souza, I.R.P.; Magalhães, P.C.; Marriel, I.E.; Andrade, C.L.T. (2022). **Resposta do Milho à**

Inoculação com Rizobactérias sob Diferentes Níveis de Estresse Hídrico. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2022. 31 p.

Romeiro, R. S. (2007). **Controle biológico de enfermidades de plantas: procedimentos.** Viçosa: Ed. UFV. 172p.

Silva, H.S.A.; Romeiro, R.S. & Mounteer, A. (2003). Development of a root colonization bioassay for rapid screening of rhizobacteria for potential biocontrol agents. **Journal of Phytopathology**, 151:42-46.

Sottero, A. N.; Freitas, S. dos S.; Melo, A.M.T.; Trani, P.E. (2006). Rizobactérias e alface: colonização rizosférica, promoção de crescimento e controle biológico. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 30(2), 225–234. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832006000200004>

Tabosa, J. N.; Barros, A. H. C.; Silva, F. G.; Brito, A. R. M. B.; Simões, A. L.; Mesquita, F. L. T. De; Nascimento, M. M. A.; Silva Filho, J. G.; França, J. G. E.; Silva, A. B.; Ferraz, I.; Carvalho, E. X.; Cordeiro, A. L.; Simplício, J. B. (2019). **Importância do melhoramento genético de diferentes tipos de sorgo para as mesorregiões do Agreste, Sertão e afins do Semiárido Brasileiro.** In: XIMENES, L. F.; Silva, M.S.L.; Brito, L.T.L. (Ed). *Tecnologias de convivência com o Semiárido brasileiro.* Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, 2019. cap. 4, p. 515-569.