



---

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**SHEILLA RIOS ASSIS SANTANA**

**Respostas morfofisiológicas de plantas forrageiras submetidas  
ao déficit hídrico com inoculação de bactérias diazotróficas**

Petrolina-PE

2016

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**SHEILLA RIOS ASSIS SANTANA**

**Respostas morfofisiológicas de plantas forrageiras submetidas  
ao déficit hídrico com inoculação de bactérias diazotróficas**

Dissertação apresentada a  
Universidade Federal do Vale do São  
Francisco-UNIVASF, Campus Ciências  
Agrárias como requisito da obtenção do  
título de mestre em Ciência Animal

Orientador: Prof. Dr. Tadeu Vinhas  
Voltolini

Petrolina-PE

2016

Santana, Sheilla Rios Assis  
S231r Respostas morfofisiológicas de plantas forrageiras submetidas ao déficit hídrico com inoculação de bactérias diazotróficas/ Sheilla Rios Assis Santana. -- Petrolina, 2016.  
74 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Ciências Agrárias, Petrolina, 2016.

Orientador: Prof. Dr. Tadeu Vinhas Voltolini.

1. Plantas forrageiras. 2. Morfofisiológica. 3. Semiárido I. Título.  
II. Universidade Federal do Vale do São Francisco

CDD 633.2

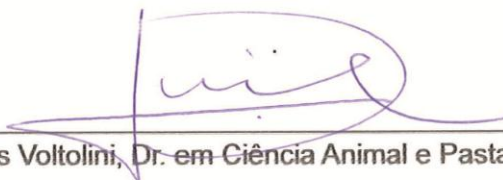
**UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**FOLHA DE APROVAÇÃO**

**SHEILLA RIO ASSIS SANTANA**

**Respostas morfofisiológicas de plantas forrageiras submetidas  
ao déficit hídrico com inoculação de bactérias diazotróficas**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de  
Mestre em Ciências animal, pela Universidade Federal do Vale do São  
Francisco.



(Tadeu Vinhas Voltolini, Dr. em Ciência Animal e Pastagens- Embrapa).



(Cláudio Mistura, Dr. em Zootecnia - Uneb).



(Lindete Míria Vieira Martins, Dr<sup>a</sup>. em Agronomia - Uneb).

Petrolina, 26 de fevereiro de 2016.

## *Dedico*

*À DEUS, por ser o autor e  
consumador da minha fé, e à  
minha família pelo apoio  
incondicional.*

## AGRADECIMENTOS

Por detrás das nossas realizações pessoais, além de um considerável esforço próprio, esconde-se normalmente um número muito grande de contribuições, apoios, sugestões, comentários ou críticas, vindos de muitas pessoas, e o mais importante de tudo, a eterna bondade de DEUS nos guiando e dando forças a cada dia, por isso agradeço em primeiro lugar a ele.

Ao concluir este trabalho, resta-me então expressar o meu sincero agradecimento a todas essas pessoas que de algum modo contribuíram para a sua realização.

Aos meus orientadores científicos, Professor Dr. Tadeu Vinhas Voltolini e Dr. Paulo Ivan Fernandes Júnior, pela inteira disponibilidade, bem como pelos conhecimentos que me transmitiram, por apoio e dedicação demonstrados.

À EMBRAPA SEMIÁRIDO pela infra-estrutura oferecida para a realização da pesquisa.

À Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF), pela oportunidade de realização do curso.

À CAPES pela bolsa concedida.

A minha família que é sempre a base de tudo na minha vida, dando-me sempre o apoio necessário, em especial a minha mãe Laudeci Rios que é uma fonte de inspiração e encorajamento para vencer as barreiras encontradas no meu caminhar. Aos meus avós Dalva Rios e Silvino Rodrigues pelo cuidado e Amor sempre demonstrados. A minha irmã Michelle Rios que além de irmã é uma eterna amiga.

Em especial, ao meu esposo Jeovani Figueiredo, que está sempre ao meu lado me incentivando e ajudando no que for necessário, além de fiel companheiro.

Aos meus amigos e colegas, que de forma direta ou indireta contribuíram para o desenvolvimento do trabalho. Em especial aos colegas da Embrapa Semiárido: Indra Alex, Filipe, Valterlina, Fleming, Aline, Amélia, Letícia, Laise, Fernanda, Emanuel, Benjamim.

## RESUMO

As plantas forrageiras podem ser influenciadas por estresses abióticos como a baixa fertilidade do solo que afeta consideravelmente a produtividade das pastagens. Porém os fertilizantes nitrogenados utilizados na agricultura moderna são os insumos mais caros do custo de produção além de causar sérios danos ao meio ambiente. As bactérias diazotróficas, apresentam a capacidade de se associar às plantas por meio da Fixação biológica do nitrogênio (FBN), aumentando a produtividade das culturas em condições hídricas restritivas. Desta forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar as respostas produtivas e as características morfofisiológicas do sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) moench), capim-buffel (*Cenchrus ciliaris* L.), Mombaça (*Panicum maximum* cv. Mombaça) e *braquiária decumbens* (*Brachiaria decumbes* cv. Basilisk) em condições de deficit hídrico inoculadas com bactérias diazotróficas. No primeiro estudo foram utilizadas quatro espécies de gramíneas forrageiras: capim-buffel, sorgo, capim mombaça e capim basilisk. O delineamento experimental foi em blocos casualizado (DBC), com 11 tratamentos, sendo oito estirpes (*Pantoea* sp., *Bacillus* sp., *Rhizobium* sp., *Bacillus* sp. *Bacillus* sp., *Enterobacter* sp., *Bacillus* sp., *Herbaspirillum*., mix) um inoculante comercial (*Herbaspirillum* sp.) além de duas testemunhas (sem inoculação e com aplicação de nitrogênio (N) mineral e outro sem inoculação e sem aplicação de N ) em três repetições, em condições de deficit hídrico. As variáveis analisadas foram: número de folhas por planta (NFP), número de perfilhos por planta (NPP), peso de folhas (PF), peso do colmo (PC) massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), biomassa total (BT), proteína bruta (PB) teor de clorofila (CL) altura da planta (AP) das forrageiras utilizadas. Não houve diferenças estatísticas entre os tratamentos em nenhuma das espécies estudadas para todas as variáveis analisadas. No segundo estudo foram utilizadas três espécies de gramíneas forrageiras: capim-buffel, sorgo e capim mombaça. O delineamento experimental foi em blocos casualizado (DBC), com 11 tratamentos sendo seis estirpes (1-*Bacillus* sp., 3-*Enterobacter* sp., 4-*Bacillus* sp., 5- *Agrobacterium* sp., 6-*Rhizobium* sp., 8-s14) ,dois inoculantes comerciais isolados do milho (7-*Herbaspirillum* sp. e 2-*Azospirillum* sp.) e três tratamentos controle (sem inoculação e com aplicação de N mineral, sem inoculação e sem aplicação de N e sem inoculação e sem aplicação de N com irrigação durante todo o experimento) em cinco repetições, submetidos ao deficit hídrico seguido de reidratação. As variáveis analisadas foram as mesmas do primeiro estudo. Foram feitas também medidas de trocas gasosas (taxa de fotossíntese, condutância estomática e taxa de transpiração). No capim buffel e no mombaça todos os inóculos, proporcionaram aumentos de MSR quando comparado ao tratamento controle, já o sorgo apresentou maior MSR e BT quando inoculado com o tratamento 6, e os tratamentos 3, 4, 7 e 8 influenciaram as características fisiológicas dessa espécie. Em condições de deficit hídrico seguido de reidratação as bactérias diazotróficas apresentaram ganhos na produtividade das três espécies de capim avaliados. A estirpe 6 destacou-se entre as três cultivares estudadas favorecendo a manutenção do crescimento das plantas, sob condições hídricas restritivas.

**Palavras chave:** Capim-buffel, Fixação biológica do Nitrogênio, Semiárido, Sorgo.

## ABSTRACT

Forage crops can be influenced by abiotic stresses such as low soil fertility which greatly affects the productivity of pastures. But the nitrogen fertilizer widely used in modern agriculture are the most expensive inputs of the production cost as well as causing serious damage to the environment. The diazotrophs, have the ability to associate to plants through biological nitrogen fixation (BNF), increasing crop productivity in restrictive water conditions. Thus, this study aimed to evaluate the productive responses and morphological and physiological characteristics of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), Buffel grass (*Cenchrus ciliaris* L.), Mombasa (*Panicum maximum* cv. Mombasa) and *Brachiaria decumbens* (*Brachiaria decumbens* cv. Basilisk) in drought conditions inoculated with diazotrophs. In the first study we used four species of grasses: buffel grass, sorghum, grass and Mombasa basilisk grass. The experimental design was randomized blocks (DBC), with 11 treatments, eight strains (*Pantoea* sp., *Bacillus* sp., *Rhizobium* sp., *Bacillus* sp. *Bacillus* sp., *Enterobacter* spp., *Bacillus* sp., *Herbaspirillum*., Mix ) a commercial inoculant (*Herbaspirillum* sp.) and two witnesses (without inoculation and nitrogen (N) mineral and one without inoculation and without nitrogen) in three replications in drought conditions. The variables analyzed were: number of leaves per plant (NFP), number of tillers per plant (NPP), leaf weight (PF), weight of the stem (PC) dry mass of the aerial part (MSPA), root dry mass (MSR), total biomass (BT), crude protein (CP) content of chlorophyll (CL) plant height (AP) use of fodder. There was no statistical difference between treatments in any of the studied species for all variables. In the second study we used three species of forage grasses: buffel grass, sorghum and Mombasa grass. The experimental design was randomized blocks (DBC), with 11 treatments and six strains (1, *Bacillus* sp., *Enterobacter* sp-3., 4-*Bacillus* sp., 5 *Agrobacterium* sp., 6-*Rhizobium* sp., 8 s14), two strains of corn inoculants (7-*Herbaspirillum* sp. and 2-*Azospirillum* sp.) and three control treatments (without inoculation and mineral N application without inoculation and without nitrogen and without inoculation and without application of N irrigation throughout the experiment) in five replications, subjected to drought followed by rehydration. The variables analyzed were the same as the first study. They were also made gas exchange measurements (photosynthesis, stomatal conductance and transpiration rate). In Buffel grass and Mombasa all inoculants, provided MSR increases when compared to the control treatment, since sorghum showed higher MSR and BT when inoculated with treatment 6, and treatments 3, 4, 7 and 8 positively influenced the physiological characteristics this species. In drought conditions followed by rehydrating the diazotrophs showed gains in productivity of the three species evaluated grass. Strain 6 stood out among the three cultivars favoring the maintenance of plant growth under restrictive water conditions is recommended for future studies.

**Keywords:** biological fixation of nitrogen, buffel grass, sorghum, semi-arid.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Plantas em período de estresse hídrico.....	29
Figura 2. Plantas após a reidratação.....	29
Figura 3. Capim-buffel ( <i>Cenchrus ciliaris</i> L.) submetido ao deficit hídrico com e sem inoculação de bactéria diazotrófica. 1- planta sem inoculação, 2- planta inoculada com <i>Rhizobium</i> sp. Isolado do <i>Tripogon spicatus</i> .....	40
Figura 4. Capim Mombaça ( <i>Panicum maximum</i> cv. <i>Mombaça</i> ) submetido ao déficit hídrico com e sem inoculação de bactérias diazotróficas. 1- planta sem inoculação, 2- planta inoculada com <i>Rhizobium</i> sp. Isolado do <i>Tripogon spicatus</i> .	47
Figura 5. Sorgo ( <i>Sorghum bicolor</i> (L.) moench) submetido ao deficit hídrico com e sem inoculação de bactérias diazotróficas. 1- sem inoculação 2- sem inoculação e com adubação nitrogenada 3- inoculação com <i>Herbaspirillum</i> sp. 4- inoculação com <i>Rhizobium</i> sp isolado do <i>Tripogon Spicatus</i> .....	53

## LISTA DE TABELA

Tabela 1. Características químicas e físicas do solo.....	26
Tabela 2. Características morfofisiológicas e produtivas do capim <i>Brachiaria decumbens</i> cv. Basilisk submetidas a inoculação com bactérias diazotróficas.....	33
Tabela 3. Características morfofisiológicas e produtivas do Sorgo ( <i>Sorghum bicolor</i> (L.) Moench) submetidas a inoculação com bactérias diazotróficas.....	36
Tabela 4. Características morfofisiológicas e produtivas do capim buffel ( <i>Cenchrus ciliaris</i> ) submetidas a inoculação com bactérias diazotróficas.....	37
Tabela 5. Características morfofisiológicas e produtivas do capim mombaça ( <i>Panicum maximum</i> cv. Mombaça) submetidas a inoculação com bactérias diazotróficas.....	39
Tabela 6. Características morfofisiológicas e produtivas do capim buffel ( <i>Cenchrus ciliaris</i> ) inoculado com bactérias diazotróficas associativas submetidos ao deficit hídrico seguido de reidratação.....	42
Tabela 7. Taxa de fotossíntese líquida ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-2}$ ) em folhas de capim-buffel ( <i>Cenchrus ciliaries</i> L.) em função da inoculação com bactérias diazotróficas associativas submetido ao deficit hídrico seguido de reidratação.....	43
Tabela 8. Condutância estomática ( $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) em folhas de capim-buffe ( <i>Cenchrus ciliaris</i> L.) em função da inoculação com bactéria diazotrófica associativa submetido ao deficit hídrico seguido de reidratação.....	44
Tabela 9. Taxa de transpiração ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) em folhas de capim-buffel ( <i>Cenchrus ciliaris</i> L.) em função da inoculação com bactérias diazotróficas associativas submetido ao deficit hídrico seguido de reidratação.....	45
Tabela 10. Características morfofisiológicas e produtivas do capim mombaça ( <i>Panicum maximum</i> cv. Mombaça) inoculado com bactérias diazotróficas associativas submetidos ao déficit hídrico seguido de reidratação.....	48

Tabela 11. Taxa de fotossíntese líquida ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-2}$ ) em folhas de capim Mombaça ( <i>Panicum maximum cv. Mombaça</i> ) em função da inoculação com bactérias diazotróficas associativas submetido ao déficit hídrico seguido de reidratação.....	49
Tabela 12. Condutância estomática ( $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) em folhas do capim Mombaça ( <i>Panicum maximum cv. Mombaça</i> ) em função da inoculação com bactérias diazotróficas associativas submetido ao déficit hídrico seguido de reidratação.....	50
Tabela 13. Taxa de transpiração ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) em folhas de capim Mombaça ( <i>Panicum maximum cv. Mombaça</i> ) em função da inoculação com bactérias diazotróficas associativas submetido ao déficit hídrico seguido de reidratação.....	51
Tabela 14. Características morfofisiológicas e produtivas do Sorgo ( <i>Sorghum bicolor</i> (L.) Moench) inoculado com bactérias diazotróficas associativas submetidos ao déficit hídrico seguido de reidratação.....	55
Tabela 15. Taxa de fotossíntese líquida ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-2}$ ) em folhas de Sorgo ( <i>Sorghum bicolor</i> (L.) Moench) em função da inoculação com bactéria diazotrófica associativa submetido ao déficit hídrico seguido de reidratação.....	56
Tabela 16. Condutância estomática ( $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) em folhas de sorgo ( <i>Sorghum bicolor</i> (L.) Moench) em função da inoculação com bactérias diazotróficas associativas submetido ao déficit hídrico seguido de reidratação.....	58
Tabela 17. Taxa de transpiração ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) em folhas de sorgo ( <i>Sorghum bicolor</i> (L.) Moench) em função da inoculação com bactérias diazotróficas associativas submetido ao déficit hídrico seguido de reidratação.....	59

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**FBN: Fixação biológica do nitrogênio**

**N: Nitrogênio**

**P: Fósforo**

**BPCP: Bactéria promotora do crescimento de plantas**

**AIA: Ácido indolacético**

**Kg: Kilogramas**

**Ha<sup>-1</sup>: Hectare**

**Cm: Centímetros**

**DIC: Delineamento inteiramente casualizado**

**NFP: Número de folhas por planta**

**NPP: Número de perfilhos por planta**

**PFP: Peso de folhas por planta**

**PCP: Peso do colmo por planta**

**MSPA: Massa seca da parte aérea**

**MSR: Massa seca da raiz**

**BT: Biomassa total**

**PB: Proteína bruta**

**CL: Clorofila**

**AP: Altura da planta**

## SUMÁRIO

<b>1. Introdução .....</b>	<b>12</b>
<b>2. Revisão bibliográfica .....</b>	<b>14</b>
<b>2.1. Potencial forrageiro do Semiárido brasileiro.....</b>	<b>14</b>
<b>2.2. Adubação nitrogenada em plantas forrageiras.....</b>	<b>15</b>
<b>2.3 Efeito do déficit hídrico na fisiologia de plantas forrageiras.....</b>	<b>16</b>
<b>2.4. Bactérias Promotoras do Crescimento Vegetal.....</b>	<b>18</b>
<b>2.4.1. Solubilização de fosfato .....</b>	<b>20</b>
<b>2.4.2. Produção de Fitormônios.....</b>	<b>21</b>
<b>2.4.3.Fixação biológica do nitrogênio em graminieas .....</b>	<b>22</b>
<b>2.4.4. Bactérias Promotoras do crescimento Vegetal e a Proteção contra o estresse hídrico .....</b>	<b>24</b>
<b>3. Material e métodos .....</b>	<b>26</b>
<b>3.1. Experimento 1.....</b>	<b>26</b>
<b>3.2. Experimento 2.....</b>	<b>28</b>
<b>4. Resultados e discussão .....</b>	<b>31</b>
<b>4.1. Experimento 1.....</b>	<b>31</b>
<b>4.2. Experimento 2.....</b>	<b>40</b>
<b>5. Conclusões.....</b>	<b>60</b>
<b>6. Referências bibliográficas .....</b>	<b>61</b>

## 1. Introdução

Os sistemas de produção pecuários do Semiárido baseiam-se principalmente no uso de pastagens, sobretudo as nativas. Na maioria das situações, as limitações quanti-qualitativas do pasto nativo comprometem o aporte alimentar dos rebanhos (CAVALCANTI et al., 2003), e espécies forrageiras exóticas podem ser utilizadas em complementariedade para a alimentação dos animais. Dentre elas podem ser destacadas o capim-buffel (*Cenchrus ciliaris* L.) o sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) moenche) as plantas forrageiras dos gêneros *Panicum* e *Brachiaria*.

Em geral, as plantas forrageiras podem ser influenciadas por estresses biótico e abiótico. A baixa fertilidade do solo pode ser caracterizada como um estresse abiótico e afetar consideravelmente a produtividade dos pastos. O nitrogênio (N) é considerado o nutriente mais importante para o crescimento de plantas, representando cerca de 2 a 5 % da matéria seca vegetal, sendo limitante para o crescimento das plantas e à produtividade das culturas (DÖBEREINER, 1992). Os solos brasileiros apresentam, em sua maioria, baixo teor de N tornando a adubação nitrogenada uma prática importante e, dessa forma, os fertilizantes inorgânicos se constituem como uma forma de adicionar nutrientes ao solo (DARTORA et al., 2013).

Porém os fertilizantes nitrogenados largamente utilizados na agricultura moderna são oriundos de combustíveis fósseis que são fontes não renováveis, e sendo estes os insumos mais caros do custo de produção (CANTARELLA, 2007) além de causar sérios danos ao meio ambiente. O uso eficiente do nitrogênio atmosférico é um fator essencial para a agricultura e sua sustentabilidade no mundo do agronegócio (ALVES, 2011).

Alguns micro-organismos, principalmente as bactérias diazotróficas, apresentam a capacidade de se associar às plantas e estimular o seu desenvolvimento por meio da Fixação biológica do nitrogênio (FBN). Segundo Baldani et al. (1997), as bactérias diazotróficas associativas são divididas em dois sub-grupos: bactérias endofíticas facultativas e bactérias endofíticas obrigatórias, sendo as facultativas aquelas que podem colonizar tanto a rizosfera como o interior de raízes, enquanto que os endofíticos compreende aqueles que colonizam o interior de raízes e também a parte aérea de plantas não leguminosas.

Estas bactérias podem promover o crescimento da planta por meio da produção de substâncias promotoras de crescimento (auxinas, giberelinas e citocininas) proporcionando desenvolvimento radicular e, conseqüentemente, maior absorção de água e nutrientes (CORREA et al., 2008) resultando em uma planta mais vigorosa e produtiva (HUNGRIA, 2011).

Nas gramíneas a associação com bactérias diazotróficas ocorre sem a formação de uma estrutura especializada para a fixação do nitrogênio, enquanto em leguminosas, a FBN ocorre por um processo simbiótico entre o micro-organismo e a planta. Essa simbiose forma nódulos radiculares, que são estruturas anatômica e bioquimicamente especializadas para a ocorrência da FBN (FERNANDES JÚNIOR & REIS, 2008) nas raízes habitadas por micro-organismos específicos como as bactérias do gênero *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* que fixam o N atmosférico. As bactérias promotoras de crescimento de plantas possuem práticas aplicações e são, frequentemente, utilizadas por meio da inoculação em sementes (MASTRETTA et al. 2009).

Estes micro-organismos benéficos podem melhorar o desempenho de plantas sob condições de estresse e, conseqüentemente, aumentar a produtividade das culturas sem causar maiores danos ao ambiente. Desta forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar as respostas produtivas e as características morfofisiológicas do sorgo, capim-buffel, *Panicum Maximum* cv. Mombaça e *Braquiária decumbens* cv. Basilisk em condições de deficit hídrico inoculadas com bactérias diazotróficas.

## 2. Revisão bibliográfica

### 2.1 Potencial forrageiro do Semiárido brasileiro

A região Semiárida do Brasil é coberta por solos rasos de baixa fertilidade e caracterizada pela vegetação da Caatinga, cuja a escassez e irregularidade de chuvas são os aspectos limitantes preponderantes. Intermitentemente, ocorrem estiagens prolongadas, que atingem de forma danosa a economia com custos sociais elevados. Entretanto, em função das características edafoclimáticas, a pecuária tem se constituído, ao longo do tempo, na atividade econômica e social de grande importância para a população rural desta região (CANDIDO et al., 2005.)

As plantas forrageiras são a principal fonte de alimentos dos rebanhos na região semiárida, predominando áreas de pastagem nativa (COUTINHO et al., 2013). Em relação a grupos de espécies botânicas, as gramíneas e dicotiledôneas herbáceas perfazem acima de 80% da dieta dos ruminantes, durante o período chuvoso.

Porém, nos sistemas de pecuária extensiva que têm como base alimentar a Caatinga, a produção animal é altamente vulnerável a oscilação da massa de forragem em consequência de secas periódicas e irregularidades na distribuição das chuvas. Assim, evidencia-se a necessidade da adoção de estratégias como a conservação de forragem, a suplementação alimentar dos animais, a melhoria no manejo do pastejo assim como na produtividade dos pastos a fim de se obter melhor aporte alimentar aos rebanhos durante o ano (ARAÚJO et al., 2006).

A produção de forragem pode ser incrementada pela introdução de forrageiras exóticas adaptadas às condições semiáridas. Para tanto, várias são as espécies de plantas forrageiras adaptadas a região que podem ser cultivadas para a formação de áreas para o pastejo dos animais, entre elas: capim-buffel (*Cenchrus ciliaris* L.), capim-corrente (*Urochloa mosambicensis*), capim-gramão (*Cynodon dactylon*), capim-tanzânia, capim-aruaana, capim-mombaça, capim-massai, (*Panicum maximum*) etc, e leguminosas como a cunhã (*Clitoria ternatea*) e erva-de-ovelha (*Stylosanthe humilis*). Já em relação ao estrato lenhoso, o sabiá (*Mimosa caesalpinifolia*), o mororó (*Bahuinia cheilantha*), quebra-faca (*Crotoncon duplicatus*), leucena (*Leucaena leucocephala*), algaroba (*Prosopis juliflora*) e o carquejo (*Caliandra*



*pauperata*) (OLIVEIRA, 1996) .

No entanto, para que haja êxito na produção dessas culturas é necessário a adoção de algumas medidas como a fertilização das áreas, que exercem efeitos positivos na produção e no valor nutricional das plantas (ANDRADE et al., 2003) principalmente quanto a adubação nitrogenada pois, de modo geral, o nitrogênio é o nutriente que mais limita a produção das gramíneas.

## **2.2 Adubação nitrogenada em plantas forrageiras**

Um dos fatores, dos quais dependem os processos de crescimento e desenvolvimento da planta é a disponibilidade de N, que se caracteriza, sobretudo em proporcionar maior rapidez de formação das gemas axilares e de iniciação dos perfilhos vegetais (NABINGER & MEDEIROS, 1995).

Atualmente, o consumo mundial de fertilizantes nitrogenados é da ordem de 80 milhões de toneladas por ano (MENDONÇA, 2015). Este consumo tem aumentado, principalmente nos países em desenvolvimento e estima-se que em 2020 sejam consumidas cerca de 134 milhões de toneladas. No entanto, a eficiência de uso destes fertilizantes é baixa, pois, cerca da metade do adubo nitrogenado aplicado nos campos, anualmente, é perdido facilmente por lixiviação, volatilização e desnitrificação (BALSALOBRE & SANTOS, 2001).

O conhecimento sobre as diversas fontes de N também é fundamental, uma vez que esses fertilizantes apresentam diferenças quanto à concentração e quando aplicados ao solo, em especial quanto às perdas de N. A uréia é o fertilizante nitrogenado mais utilizado no mundo em função das vantagens em termos de custo, facilidade de fabricação e despesa final para o agricultor (CANTARELLA, 2007).

De acordo com Porto et al. (2014) a resposta das forrageiras tropicais à adubação nitrogenada depende da dose utilizada e, dentre outros fatores, da espécie forrageira. Nesse contexto Silva et al. (2009) avaliaram as características morfogênicas e estruturais de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk adubadas com diversas doses de nitrogênio (0, 75, 150 ou 225 mg/dm<sup>3</sup>) e verificaram que as duas espécies responderam de forma crescente até a dose de 190 mg/dm<sup>3</sup> de N.

Quanto ao número de folhas verdes, este nutriente também se apresenta como

principal agente transformador dos vegetais. A observação desse comportamento está bem associada ao aumento da duração de vida da folha, que define não só a taxa de aparecimento foliar (TAF), como também a taxa de alongamento foliar como foi reportado por Garcez Neto et al.(2002).

Por outro lado, a deficiência do N causa diversos sintomas nas plantas que acarretam em crescimento lento, plantas de porte pequeno, com poucos perfilhos e o teor de proteína bruta torna-se insuficiente à alimentação animal.

Ferreira (2012), ao avaliar a sintomatologia de deficiência nutricional para macro e micronutrientes, na cultura do milho observou que as plantas com sintomas de deficiência de N apresentaram uma diminuição acentuada do porte, clorose generalizada e as folhas mais velhas adquiriram um tom rosado, seguido de necrose, evidenciado assim há necessidade do uso de fertilizantes.

Em contrapartida, o custo ambiental e econômico elevado, principalmente pelo fato de que o Brasil importa atualmente 73% do N utilizado na agricultura (HUNGRIA, 2011) tem estimulado a busca por alternativas que possam minimizar o uso de fertilizantes sem causar redução na produção.

Uma das soluções para melhorar as produtividades dos pastos e diminuir custos sem prejudicar o ambiente é a utilização do potencial genético das plantas forrageiras tropicais, aliado aos recursos biológicos do solo, como as bactérias diazotróficas, que podem fixar N para a planta e produzir hormônios que estimulam o crescimento vegetal, principalmente de raízes, por aumentar a absorção de nutrientes e água (QUADROS et al., 2014).

O uso dessas bactérias na agricultura pode ser feito a partir da adição de inoculantes que podem aumentar a produtividade e também diminuir os gastos com fertilizantes, responsáveis por boa parte dos custos do agricultor, já que são compostos por cerca de 70% de nitrogênio (DOBBELAERE, et al., 2001).

### **2.3 Efeito do deficit hídrico na fisiologia de plantas forrageiras**

Na maior parte do semiárido, o deficit hídrico é um dos fatores mais limitantes ao crescimento, produtividade e valor nutritivo das forrageiras (SILVA et al. 2006). Essas limitações devem-se aos padrões irregulares de distribuição de chuvas com baixos índices ao longo do ano. Além desse fator, a maioria dos solos dessas áreas

apresentam baixa capacidade de retenção de água devido às suas características físicas (ALMEIDA, 2012).

O déficit hídrico provoca alterações no comportamento vegetal cuja irreversibilidade vai depender do genótipo, da duração, da severidade e do estágio de desenvolvimento da planta. Segundo Levitt (1980) no entendimento das respostas das plantas ao déficit hídrico é de fundamental importância se quantificar a capacidade de armazenamento de água no solo e analisar a influência dos mecanismos de adaptação do vegetal.

Algumas plantas, para se adaptarem às condições de baixa disponibilidade de água, adotam a estratégia de redução da parte aérea, em favor das raízes (ARAÚJO et al. 2010). A produção vegetal possui estreita relação com a área foliar, que é uma característica relevante no desenvolvimento inicial de gramíneas, visto que as folhas são fonte de fotoassimilados para o desenvolvimento das raízes, que são estruturas que participam da assimilação de nutrientes e desempenham importante papel na resistência ao déficit hídrico (BONFIM-SILVA et al., 2011).

O estresse hídrico provoca alterações nos processos fisiológicos dos vegetais, inicialmente pela diminuição do potencial hídrico. A princípio há perda de turgor celular, propiciando a redução de crescimento, além de gerar limitações no metabolismo de aminoácidos e proteínas com reflexo na divisão celular. As alterações hormonais levam a regulações no funcionamento do aparato estomático, reduzindo as trocas de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), antecipação do processo reprodutivo e aceleração da senescência. Também, baixos valores de potencial hídrico impedem o processo fotossintético, tanto por prejuízo causado ao transporte de elétrons e à fotofosforilação acíclica, como pelo fechamento dos estômatos (MARTINS, 2014).

O controle estomático é considerado como uma resposta bioquímica ao estresse hídrico, pois é resultante da produção de hormônio como o ácido abscísico (ABA) e compostos osmorreguladores (TAIZ E ZEIGER, 2004).

O ABA é produzido continuamente em taxas baixas nas células do mesófilo e tende a se acumular nos cloroplastos. Este ácido tem uma dupla função frente ao estresse hídrico, a curto prazo reduz a transpiração e a longo prazo induz a síntese de proteínas que aumentam a tolerância das plantas à dessecação (CAVALCANTE et al., 2009). Já as concentrações mais elevadas de ABA resultantes de taxas mais

altas de sua síntese, parecem aumentar o efeito inicial de fechamento estomático por meio do armazenamento deste ácido.

A condutância estomática geralmente apresenta queda nos horários de maior demanda evaporativa do ar, principalmente, quando há deficit hídrico. A resistência estomática é contrária à condutância, portanto aumenta quando em maior demanda evaporativa (NOGUEIRA et al., 2002). A limitação estomática à transpiração, devido à falta de água, é uma alternativa para a manutenção do conteúdo hídrico foliar, evitando, assim, a dessecação dos tecidos.

O estresse hídrico afeta, não só a condutância estomática, como também a fotossíntese foliar. Em virtude do fechamento estomático durante os estádios iniciais do estresse hídrico, a eficiência do uso da água pode aumentar, ou seja, mais CO<sub>2</sub> pode ser absorvido por unidade de água transpirada, porque o fechamento estomático inibe a transpiração mais do que diminui as concentrações intercelulares de CO<sub>2</sub> (TAIZ; ZEIGER, 2004). Além da menor concentração de CO<sub>2</sub> a limitação da fotossíntese acontece também por consequência da menor síntese de ATP pela ATPsintase. O ATP possui papel vital no metabolismo, desta forma os danos metabólicos causados pela diminuição da quantidade desta molécula energética influenciariam uma série de processos como a redução da ribulose-1,5-bisfosfato (RuBP) que é aceptora primária de CO<sub>2</sub> (MARCOS et al., 2015).

No entanto existem micro-organismos, como as bactérias diazotróficas, que possuem a capacidade de auxiliar a planta no seu desenvolvimento fisiológico e nos processos metabólicos sob diferentes condições ambientais (AGUIAR et al., 2015). Estas bactérias podem ser utilizadas como ferramentas para aumentar a tolerância de plantas forrageiras a estresses hídricos em condições de campo, entretanto, poucos estudos têm sido conduzidos neste sentido na região semiárida do Brasil.

## **2.4 Bactérias promotoras de crescimento vegetal**

As bactérias diazotróficas são micro-organismos capazes de realizar a conversão enzimática do N<sub>2</sub> a formas acessíveis aos vegetais (NH<sub>3</sub>). Estes micro-organismos podem ser de vida livre, que fixam o nitrogênio para o seu próprio metabolismo, bactérias simbióticas, que estabelecem uma interação muito estreita com espécies vegetais (geralmente da família *Fabaceae*) e formam estruturas

diferenciadas denominadas nódulos ou bactérias associativas, que se associam a espécies vegetais, sem a formação de nódulos e excretam somente uma parte do nitrogênio fixado diretamente para a planta associada (HUNGRIA, 2011).

No caso das bactérias associativas estas, podem ser ainda diazotróficas endofíticas, que são aquelas que fixam N<sub>2</sub> atmosférico e colonizam o interior de tecidos vegetais sem causar sintomas de doenças (DÖBEREINER, 1992) ou epifíticas, quando as bactérias colonizam as superfícies de folhas (filoplano) ou mais comumente de raízes (rizoplano) (MOREIRA et al., 2010). As endofíticas são encontradas geralmente em maior número nas raízes, decrescendo progressivamente dos caules as folhas (ROESCH et al., 2006).

Dentre os grupos que se associam com hospedeiros vegetais, o mais bem estudado e caracterizado é o dos “rizóbios” que são bactérias capazes de estabelecer simbiose com leguminosas formando nódulos radiculares e/ou caulinares, que são estruturas anatômicas e bioquimicamente especializadas para a ocorrência da fixação biológica do nitrogênio FBN (FERNANDES JÚNIOR e REIS, 2008). Já, a espécie *Spirillum lipoferum* foi inicialmente descrita por Beijerinck (1984) sendo posteriormente sugerida a sua reclassificação como *Azospirillum* (REIS JÚNIOR et al., 2002). No solo, essas bactérias podem ser encontradas na rizosfera, caracterizando uma colonização externa das raízes. Na colonização interna, suas células podem penetrar nos espaços intercelulares de raízes e lá se instalaram (BALDANI et al., 1997). Este grupo vem se destacando como uma das mais importantes em relação à fixação biológica de nitrogênio, associada a forrageiras tropicais e cereais como, por exemplo, o milho, arroz, trigo, sorgo além de outras gramíneas como a cana-de-açúcar (ZAMBRANO et al., 2007).

Em virtude das diversas pesquisas sobre os vários gêneros de bactérias diazotróficas, a sua utilização torna-se cada vez mais difundida, pois estas podem auxiliar no desenvolvimento de plantas sob condições de estresse, devido ao estímulo a produção de fitormônios, solubilização do fosfato e fixação biológica de nitrogênio, que em conjunto com outras características proporcionadas por esses micro-organismos, atuam no sentido de reduzir os efeitos negativos que o estresse pode causar no desenvolvimento das plantas (POTTERS et al., 2007).

#### **2.4.1 Solubilização de fosfato**

O fósforo (P) é um elemento que possui grande importância na manutenção do metabolismo vegetal, sendo um componente integral de compostos importantes das células vegetais, incluindo fosfato - açúcares intermediários da respiração e fotossíntese, bem como os fosfolipídios que compõem as membranas vegetais (TAIZ & ZEIGER, 2004).

Micro-organismos como bactérias e fungos, presentes nos solos têm papel importante no ciclo natural do P, sendo responsáveis pela hidrólise do fósforo para a forma inorgânica, tornando-o disponível para as plantas. Estes processos são mediados por enzimas. Segundo Dey et al. (2004), as interações entre os micro-organismos e os vegetais têm grande importância na transformação, mobilização e solubilização de nutrientes do solo, possibilitando aumento da absorção pelos vegetais.

É importante evidenciar que, as bactérias endofíticas com capacidade de solubilizar fosfato inorgânico ganham importância durante o processo de colonização, pois, podem inicialmente colonizar superficialmente o hospedeiro e, conseqüentemente, provê-lo deste mineral essencial para o desenvolvimento vegetal (PEDRINHO, 2009).

Várias são as espécies bacterianas com habilidade em solubilizar compostos de fosfato inorgânico. Entre os gêneros com essa capacidade estão *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Flavobacterium* e *Erwinia* (RODRÍGUEZ E FRAGA, 1999).

As bactérias solubilizadoras de fosfato vem sendo bem estudadas (KUKLINSKY et al., 2004; DIAS et al., 2009), com o intuito de verificar a capacidade destes isolados de interagir com as plantas e promover seu desenvolvimento, no entanto, diversos fatores interferem na interação, como por exemplo, o genótipo do hospedeiro, nicho, entre outros (COMPANT et al., 2010).

Estudos com a diversidade e potencial de solubilização de fosfato por bactérias endofíticas também foram verificados associadas à cultura da palma forrageira (*Opuntia* e *Nopalea*). Silva et al. (2014), encontraram cerca de quarenta e dois isolados endofíticos que apresentaram capacidade de solubilização de fosfato, afirmando que torna-se imprescindível que esses isolados sejam caracterizados geneticamente para fins de taxonomia e comprovação do seu potencial

biotecnológico para aplicação na cultura da palma, sob a forma de inoculantes biológicos e biofertilizantes.

O fornecimento de P para as plantas através de insumos biológicos é uma alternativa sustentável e viável, levando em consideração que, o P solúvel é liberado a partir de reações de solubilização de fosfatos insolúveis envolvendo diversos micro-organismos.

#### **2.4.2 Produção de fitormônios**

Dentre os diversos mecanismos utilizados por bactérias promotoras de crescimento (BPCP), destaca-se a produção de fitormônios, como auxinas, citocinas e giberelinas (GRAY & SIMITH, 2005). Estes hormônios vegetais são reguladores naturais de crescimento das plantas, influenciando os processos fisiológicos em baixas concentrações.

Estes micro-organismos endofíticos têm apresentado a capacidade de estimular o crescimento das plantas por mecanismos diretos (fixação de nitrogênio e/ou produção de fitormônios) e indiretos quando a planta está sendo infectada por um patógeno e as BPCPs atuam como agentes de controle biológico pela produção de ácido cianídrico, bacteriocinas, antibióticos e outros nutrientes (MARIANO et al., 2004).

As principais BPCP são encontradas entre as *Pseudomonas* spp. não fluorescentes e fluorescentes; espécies de *Bacillus*, *Streptomyces*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Acetobacter* e *Herbaspirillum*;, *Agrobacterium radiobacter*, *Enterobacter cloacae* e *Burkholderia cepacia*, entre outras (MARIANO et al., 2004).

Em relação aos principais hormônios sintetizados pelas bactérias diazotróficas destacam-se as auxinas, que são responsáveis pelo aumento da área de absorção radicular e pelo desenvolvimento da planta pelo alongamento e proliferação das raízes secundárias (ASGHAR et al., 2002).

O ácido indol-acético (AIA) ou auxina é um fitormônio requerido em baixas concentrações, sendo conhecido por sua capacidade de atuar no desenvolvimento da raiz e na divisão celular. Este hormônio é comumente produzido por bactérias promotoras de crescimento como *Aeromonas veronae*, *Agrobacterium* sp., *Azospirillum brasilense*, *Bradyrhizobium* sp., *Rhizobium* sp., *Enterobacter* sp., entre

outras (VESSEY,2003). Essa substância é produzida principalmente no meristema apical (gema) do caule e transportada pelas células do parênquima até as raízes. O transporte do AIA é unidirecional, e depende de energia para ocorrer.

Camilo et al. (2014) selecionaram bactérias diazotróficas produtoras de AIA do gênero *Azospirillum* sp. isoladas de colmo, solo e raiz de milho, encontraram resultados satisfatórios ao verificar que os isolados possuem grande capacidade de acumular esse fitormônio. Porém com alta variabilidade genética entre as bactérias, sendo essas estirpes capazes de produzir AIA acima de  $170 \mu\text{g mL}^{-1}$ , afirmando o seu potencial para o desenvolvimento de inoculantes.

Ressaltando ainda a interação do gênero *Azospirillum* com gramíneas na síntese de AIA, Kuss et al. (2007) verificaram que todos os isolados deste gênero associadas a raízes de diferentes variedades de arroz irrigado produziram o fitormônio, em quantidades que variam entre 2,79 e  $13,47 \mu\text{g mL}^{-1}$ .

A capacidade das BPCPs em estimular o crescimento da planta de forma indireta como biocontrole de doenças, foi comprovada por Van Peer et al.,(1991) que relatou a aplicação de *Pseudomonas fluorescens* em raízes de cravo onde houve colonização endofítica e após uma semana o patógeno *Fusarium oxysporum* sp. foi inoculado no caule. As plantas tratadas apresentaram menor incidência e severidade de sintomas que as testemunhas.

As bactérias que apresentam mais de uma característica para a promoção de crescimento vegetal, como por exemplo, a capacidade de mineralização de nutrientes e produção de sideróforos ou solubilização de fósforo e produção de auxinas, são desejáveis para uma possível aplicação no campo, proporcionando o aumento da produção agrícola (VERMA et al., 2001).

#### **2.4.4 Fixação biológica do nitrogênio em gramíneas**

A FBN é realizada pelas bactérias diazotróficas que possuem um complexo enzimático nitrogenase, uma metaloenzima que cataliza a conversão de  $\text{N}_2$  à  $\text{NH}_3$ , colonizam as plantas inicialmente se aderindo à superfície das raízes, em seguida com a colonização das raízes laterais com penetração pela epiderme, envolvendo lipopolissacarídeos, exopolissacarídeos bacterianos, ocupando logo após os espaços intercelulares, podendo também colonizar o xilema e parte aérea das plantas



(MONTEIRO et al., 2012).

Estes micro-organismos associados a plantas da família *Poaceae* foram mais intensamente estudadas no Brasil nas décadas de 50 e 60, quando se iniciaram os estudos na área de FBN em gramíneas. Ainda na década de 60, foi identificada a espécie *Azotobacter paspali*, principal bactéria colonizada do rizoplane e responsável pela FBN, observada em *Paspalum notatum*, também conhecida como grama forquilha ou grama batatais (DOBEREINER, 1961). No atual contexto, verifica-se evidências significativas de FBN em *Poaceae* de grande relevância econômica, como cana-de-açúcar, arroz, milho, trigo, sorgo, *Brachiaria* sp., entre outras, intensificando o interesse nas pesquisas de fixação de nitrogênio em plantas não-leguminosas (REIS et al., 2006).

As maiores repercussões econômicas da FBN são observadas em espécies leguminosas, notadamente, na cultura da soja, entretanto, nos últimos anos, o isolamento e a posterior inoculação com diversas espécies de bactérias diazotróficas, em diferentes culturas, sobretudo nas gramíneas, têm revelado efeitos positivos, negativos e, muitas vezes, inconsistentes, dos benefícios provenientes dessa interação plantas x bactéria nas mais diversas culturas (PERIN et al., 2006; BALDANI & BALDANI, 2005; GUIMARÃES et al., 2011; REPKE et al., 2004), que podem ser explorados na elaboração de bioprodutos para a agricultura.

Se a associação entre esses micro-organismos e as plantas for eficiente, o N fixado pode suprir quase todas as necessidades do vegetal, dispensando o uso de fertilizantes nitrogenados e oferecendo, assim, vantagens econômicas e ecológicas, uma vez que incorporam N por meio da fixação biológica em quantidade que podem variar de 25 – 50 kg ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup> de N (BAZZICALUPO & OKON, 2000) a exemplo das estimativas da FBN em gramíneas como *Brachiaria cumbens* e *B. humidicola*, as quais são muito utilizadas para a revegetação de áreas degradadas, indicam valores de 30 a 45 Kg ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup> de N, respectivamente advindo da FBN (BODDEY & VICTORIA, 1986). Já Hungria et al. (2010) em experimento com inoculantes turfosos contendo estirpes de *Azospirillum brasilense* e *Azospirillum lipoferum*, em ensaios com trigo, encontraram resultados com incremento de 14% na produtividade de grãos, sendo importante ressaltar que, embora recebendo apenas uma dose baixa de N fertilizante, 20 kg de N ha<sup>-1</sup>, a produtividade média dos tratamentos inoculados foi de 2.653 kg ha<sup>-1</sup>, enquanto a média nacional na safra 2009/10 foi de 2.428 kg

ha<sup>-1</sup>, evidenciando mais uma vez a importância desses micro-organismos para a agricultura.

A cultura do milho é uma das mais bem estudadas e beneficiadas na interação com as endofíticas, vários autores (HUNGRIA et al 2010; KAPPES et al. 2013; SANTOS et al., 2015) citam benefícios como o favorecimento dos componentes de produção, maior produtividade de grãos, índice de clorofila foliar, diâmetro de colmo e prolificidade, além de aumentos da área foliar e da biomassa seca das plantas.

O arroz também tem sido avaliado e comprovado o seu beneficiamento a partir da inoculação de BPCV. Estudos conduzidos na região semiárida do Brasil, mostram incrementos de 82% na biomassa da planta inoculada com bactérias isoladas do *Tripogon spicatus*, quando comparada as plantas não inoculadas. Na referente pesquisa estes micro-organismos foram testados e comprovados a sua eficiência para solubilização de fosfato e produção de AIA (FERNANDES JÚNIOR et al., 2015).

Em relação às gramíneas forrageiras cultivadas no Semiárido estudos revelam aumentos na altura da planta, no número de folhas, número de perfilhos na massa seca de folhas em *Brachiaria brizantha* cv. Marandu inoculadas com estirpes similares a *Burkholderias sp.* (SANTOS, 2013) bem como aumentos no teor de PB (proteína bruta) do Tifton 85 inoculado com *Azospirillum* (FICAGNA & GAI, 2012).

Pouco se sabe ainda, sobre os efeitos que as bactérias promotoras de crescimento vegetal impõem sobre a fisiologia das plantas, havendo apenas suposições de que determinados efeitos são consequência de uma melhora na fotossíntese (ZHANG et al., 2008). Para tanto há necessidade de se intensificar as pesquisas de tais micro-organismos e suas interações com gramíneas forrageiras.

#### **2.4.5 Bactérias promotoras de crescimento vegetal e a proteção contra o estresse hídrico**

As bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) são capazes de promover o desenvolvimento da planta por meio de diferentes mecanismos (SILVEIRA, 2008) dentre eles o crescimento da raiz e/ou aumento da formação de raízes laterais que resulta na expansão da superfície de absorção e pode, por consequência, ter efeitos positivos na aquisição de água e nutrientes (DIMKPA et al., 2009), nesse contexto, esses micro-organismos benéficos podem melhorar o

desempenho de plantas sob condições de estresse e, conseqüentemente, aumentar a produtividade das culturas (SANTOS et al., 2014).

Santos et al. (2014) avaliaram dois isolados de bactérias endofíticas, como agentes de promoção de crescimento em plantas de girassol sob déficit hídrico, e verificaram que os teores de solutos orgânicos nas folhas e raízes das plantas inoculadas foram mais elevados do que nas plantas sem inoculação sugerindo que a presença de bactérias endofíticas pode aumentar a capacidade das plantas sob restrição hídrica a realizarem o ajustamento osmótico pelo maior acúmulo de solutos orgânicos, quando comparadas com as plantas sob estresse hídrico e não inoculadas.

Genótipos de cana-de-açúcar também foram comparados sob restrição hídrica, com e sem inoculação de bactérias diazotróficas endofíticas. Nesse estudo Marcos et al. (2015) verificaram efeitos positivos nas trocas gasosas e no metabolismo do nitrogênio dos genótipos de cana-de-açúcar, para o autor as bactérias podem alterar o padrão de crescimento das plantas pela produção de fitormônios, como o ácido indol-acético (AIA) aumentando a produção de massa seca.

A seca é uma das principais condições ambientais adversas capazes de reduzir a produtividade, uma vez que a produção de biomassa pelas plantas é regulada pela disponibilidade de água. Porém nessas condições kavamura et al. (2013) encontraram aumentos da área foliar, comprimento do caule e do peso seco da parte aérea do milho quando inoculado com linhagens de *Bacillus* sp., *Pantoea* sp. e *Serratia* sp. Esse aumento no crescimento, produtividade e absorção de nutrientes por vegetais deve ocorrer devido à expressão de uma ou mais características de promoção de crescimento que devem ser bastante estudados.

### 3. Material e Métodos

Os experimentos foram conduzidos na Embrapa Semiárido em Petrolina-PE. O clima local é classificado como semiárido quente BSw<sup>h</sup>, conforme classificação de Koeppen, sendo as coordenadas geográficas 09° 09' de latitude sul e 40° 22' de longitude oeste. As amostras de solo utilizada no experimento foram coletadas num horizonte de um Argissolo vermelho amarelo distrófico (EMBRAPA, 2013) na camada 0 - 20 cm. As características físicas e químicas, estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Características químicas e físicas das amostras de solo utilizadas nos dois experimentos.

Características químicas								
pH	P	K	Na	Mg	Al	H+Al	SB	CTC
	mg dm <sup>-3</sup>			cmolc dm <sup>-3</sup>				
5,0	3,28	0,22	0,03	0,60	0	1,5	2,5	4,3
Características físicas								
Porosidade (%)		Frações						
		Argila	Silte	Areia				
39,27		48,8	225,7	725,7				

#### Ensaio experimental 1

O estudo foi realizado em casa de vegetação, foram utilizadas 4 espécies de gramíneas forrageiras: capim-buffel (*Cenchrus ciliaris* L.), sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) moench), capim mombaça (*Panicum maximum* cv. Mombaça), e capim basilisk (*Brachiaria decumbens* cv. Basilisk).

O delineamento experimental foi em blocos casualizados (DBC) com três repetições sendo 11 tratamentos: sete estirpes isoladas de plantas do *Tripogon spicatus* (ESA 01-*Pantoea* sp., ESA 16-*Bacillus* sp., ESA 15-*Rhizobium* sp., ESA07-*Bacillus* sp., ESA 14- *Bacillus* ESA11-*Enterobacter* sp., ESA13-*Bacillus* sp., mix (mistura dos tratamentos ESA01, ESA16, ESA15, ESA07, ESA14, ESA11, ESA13)

selecionadas a partir de estudos *in vitro* de produção de AIA, solubilização do fosfato e por testes de desempenho de plantas de arroz em casa de vegetação (FERNANDES JÚNIOR et al., 2015). As bactérias foram provenientes da Coleção de Culturas de Micro-organismos de Interesse Agrícola da Embrapa Semiárido, e um inoculante comercial contendo *Herbaspirillum* sp. isolado do milho, além de duas testemunhas (sem inoculação e com aplicação de N mineral e outro sem inoculação e sem aplicação de N) em três repetições, totalizando 132 unidades experimentais. O cultivo foi realizado em baldes plásticos com capacidade de 10 L.

O experimento foi implantado em 20/01/15 com duração de 60 dias. A semeadura foi feita diretamente no vaso e 10 dias após a germinação foi feito o desbaste deixando apenas duas plantas por vaso.

Para o preparo do inóculo, as estirpes cresceram em meio líquido DYGS (RODRIGUES NETO et al. 1986) por 72 h, em agitador orbital a 120 rotações por minuto (rpm), a temperatura ambiente. Posteriormente ao crescimento uma alíquota de 5 mL de caldo bacteriano contendo  $10^8$  células mL<sup>-1</sup> foi aplicada sobre a semente e imediatamente foram cobertas com substrato umedecido.

As plantas foram submetidas ao déficit hídrico com o substrato mantido a 30% da capacidade de campo, iniciado 20 dias após o plantio, com duração de 40 dias. A umidade do solo foi mensurada por um equipamento de Reflectometria no Domínio do Tempo (TDR) 100 (Campbell Scientific) acoplado a sondas com hastes de 20 cm de comprimento. As sondas foram calibradas para o solo utilizado e as leituras da constante dielétrica no perfil do solo foram transformadas em umidade gravimétrica pelos modelos gerados na calibração, e em seguida convertidos em umidade volumétrica considerando a densidade do solo.

As variáveis analisadas foram: número de folhas por planta (NFP), número de perfilhos por planta (NPP), peso de folhas por planta (PFP), peso do colmo por planta (PCP) massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), biomassa total (BT), proteína bruta (PB) teor de clorofila (CL) altura da planta (AP) das forrageiras utilizadas.

A altura das plantas foi medida com régua graduada em centímetros, do solo até a curvatura da folha mais alta. A determinação do teor de clorofila foi realizada de forma indireta pela leitura SPAD com o emprego de um Clorofilômetro.

As raízes foram peneiradas em malha de 4 mm e lavadas. O material foi

acondicionado em sacos identificados e levados ao laboratório para a separação manual em folha (PFP e NFP), perfilho (PPP e NPP) e tecido morto (TM). Cada componente foi seco em estufa de ventilação forçada a 65° C até atingir peso constante e pesado para a determinação da massa seca e cálculo da proporção de folhas, colmo e material morto. Após a secagem e pesagem as amostras foram moídas em moinho tipo Willey, com peneiras de diâmetro de 1mm. A parte aérea foi submetida á análise de nitrogênio e PB segundo o método semi-micro Kjeldahl, descrito por Silva e Queiroz (2002).

Os resultados foram analisados estatisticamente, por meio da análise de variância com aplicação do teste de Tukey, considerando como significativos valores de probabilidade inferiores a 5% ( $P < 0,05$ ) utilizando-se o programa estatístico SAS (Statistical Analysis System, 1999).

## **Ensaio experimental 2**

O estudo foi conduzido no Campo Experimental da Caatinga no Setor de Metabolismo Animal, no período de Julho e Setembro de 2015.

Foram utilizadas três espécies de gramíneas forrageiras com potencial para cultivo na região semi-árida do Nordeste brasileiro: capim-buffel, sorgo e capim mombaça.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados (DBC) com cinco repetições. Neste experimento 11 tratamentos foram avaliados, sendo seis estirpes ( B13-*Bacillus* sp., ESA11-*Enterobacter* sp, ESA13-*Bacillus* sp, B11-*Agrobacterium* sp., ESA15-*Rhizobium* sp, e S14) isoladas de plantas do *Tripogon spicatus*, do capim-buffel e sorgo provenientes da Coleção de Culturas de Micro-organismos de Interesse Agrícola da Embrapa Semiárido, coleção de bactérias diazotróficas do Laboratório de Microbiologia do solo, da Embrapa Semiárido, dois inoculantes comerciais isolados do milho (BR11417-*Herbaspirillum* sp.e Ab-V6-*Azospirillum* sp.) e três tratamentos controle (sem inoculação e com aplicação de N mineral, sem inoculação e sem aplicação de N e sem inoculação e sem aplicação de N e sem emprego do deficit hídrico) em cinco repetições para os três cultivares (capim-buffel, sorgo, mombaça) em condição de restrição hídrica totalizando 165 vasos com capacidade para 10L.

O experimento foi implantado em 28/07/15 com duração de 60 dias. A semeadura foi feita diretamente no vaso e 10 dias após o plantio foi feito o desbaste deixando apenas duas plantas por vaso.

Para o preparo do inóculo, as estirpes cresceram em meio líquido DYGS (RODRIGUES NETO et al. 1986) por 72 h, em agitador orbital a 120 rotações por minuto (rpm), a temperatura ambiente. Posteriormente ao crescimento uma alíquota de 5 mL de caldo bacteriano contendo  $10^8$  células  $\text{mL}^{-1}$  foi aplicada sobre a semente e imediatamente foram cobertas com substrato umedecido.

As plantas foram irrigadas conforme necessário até os 41 dias após o plantio, a partir desse momento houve suspensão da irrigação em todas as plantas, exceto nas testemunhas sem restrição hídrica. O controle da irrigação foi determinada através de uma mensuração da umidade do solo feito com o auxílio de um equipamento de Reflectometria no Domínio do Tempo (TDR). Quando o solo atingiu um teor de umidade próximo a zero foi considerado seu máximo estresse (Figura 1), iniciando a reidratação. A suspensão teve duração de 5 dias para o capim-buffel e para o sorgo e de 2 dias para o capim mombaça, sendo reidratadas logo em seguida. Oito dias após a reidratação (Figura 2) as plantas foram coletadas através do corte rente ao solo.



Figura 1. Plantas em período de estresse hídrico



Figura 2. Plantas após a reidratação.

As variáveis analisadas foram altura da plantas (AP), número de folhas por planta por planta (NFP) e perfilhos por planta (NPP), peso de folhas por planta (PFP) peso de colmo por planta (PCP), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), biomassa total (BT), proteína bruta (PB), teor de clorofila (CL), e tecido morto (TM).

A altura das plantas foi medida com régua graduada em centímetros, do solo até a curvatura da folha mais alta. A determinação do teor de clorofila foi realizada

de forma indireta pela leitura SPAD com o emprego de um Clorofilômetro.

As raízes foram peneiradas em malha de 4 mm e lavadas. O material foi acondicionado em sacos identificados e levados ao laboratório para a separação manual em folha (PFP e NFP), colmo (PCP e NCP) e material morto (TM). Cada componente foi pesado e seco em estufa de ventilação forçada a 65° C, até atingir peso constante para a determinação da massa seca e cálculo da proporção de folhas, colmo e material morto.

Foram avaliadas também as trocas gasosas que foram realizadas em cinco períodos distintos (0- antes do deficit hídrico, 1- dois dias de deficit hídrico, 2- quatro dias de deficit hídrico, 3- dois dias após o deficit hídrico, 4- quatro dias após o deficit hídrico para o sorgo e capim-buffel e 0- antes do déficit hídrico, 1- dois dias de déficit hídrico, 2- dois dias após o deficit hídrico, 3- quatro dias após o deficit hídrico, 4- seis dias após o deficit hídrico para o capim mombaça), onde em cada planta foi escolhida a folha recém expandida de um perfilho, sendo efetuadas as medições na parte mediana da folha, sempre entre 9:00 e 11:00 h. Para efetuar as medições, foi utilizado um analisador portátil de gases a infravermelho IRGA (Infra Red Gas Analyser) modelo Li-6400 (Licor EUA). As variáveis analisadas foram: taxa de fotossíntese foliar ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-2}$ ), taxa de transpiração ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e condutância estomática ( $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ).

Os resultados foram analisados estatisticamente, por meio da análise de variância com aplicação do teste de Tukey, considerando como significativos valores de probabilidade inferiores a 5% ( $P < 0,05$ ) utilizando-se o programa estatístico SAS (Statistical Analysis System, 1999).



## 4. Resultados e discussão

### Experimento 1

A inoculação com bactérias diazotróficas na *Braquiária decumbens* (*Brachiaria decumbens* cv. Basilisk) não proporcionou diferenças nas variáveis número de folhas por planta (NFP), número de perfilhos por planta (NPP), peso de folhas por planta (PFP), peso do colmo por planta (PCP) massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), biomassa total (BT), teor de proteína bruta (PB), teor de clorofila (CL) e altura da planta (AP)(Tabela 2).

Os dados obtidos no presente estudo corroboram com Souza (2014), que também não encontrou diferenças nas frações morfológicas (peso de folha, peso de tecido morto, número de folha, número de colmo) de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, submetida a aplicação de *Azospirillum brasilense*. Essa falta de interação entre planta-bactéria pode estar relacionada, entre outros fatores, com a interação entre os genótipos vegetais e os microssimbiontes.

Por outro lado, Oliveira et al. (2007) trabalharam com *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e demonstraram que a planta sem aplicação de nitrogênio e com inoculação de bactérias diazotróficas produziu mais forragem do que a testemunha (sem aplicação de N e sem inoculação). Assim como Guimarães et al. (2011), que também encontraram aumento na massa seca radicular da mesma variedade com inoculação de *Azospirillum* sp. quando comparada à testemunha absoluta e ao tratamento que recebeu adubação nitrogenada, sendo esse aumento justificado pelas alterações morfofisiológicas nas raízes de plantas inoculadas como aumento de radículas e maior diâmetro das raízes laterais e adventícias. Os autores afirmam que essas bactérias possuem a capacidade de produzir fitormônios, que são substâncias promotoras e reguladoras do crescimento, como as auxinas, citosinas e giberelinas, e estão relacionadas ao desenvolvimento do vegetal.

Em relação as características morfogênicas Pereira et al. (2015), encontraram aumentos da taxa de alongamento foliar, taxa de aparecimento foliar e comprimento final de folha do capim-marandu (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu) inoculado com *Azospirillum* spp. e com adubação nitrogenada, os autores relataram que a associação com bactérias do gênero *Azospirillum* spp. podem alterar a morfologia do

sistema radicular, aumentando o número de radículas e também o diâmetro das raízes laterais e adventícias, o que pode auxiliar também na eficiência das suas características morfogênicas.

Entre essas características morfogênicas, o perfilhamento é influenciado por fatores de ambiente, destacando-se a temperatura e o suprimento de água e de nutrientes, principalmente de nitrogênio, que assume papel importante no crescimento e na produção das plantas forrageiras, pois seu suprimento eleva o número de perfilhos por planta (GARCEZ NETO et al., 2002). Com relação a essa característica, Bosa (2014), avaliou o capim Xaraés (*Brachiaria brizantha* cv. Xaraés) inoculado com a combinação de dois isolados MTAz8 + MTH2 em três cortes diferentes (30, 60 e 90 dias), e verificou aumentos no número de perfilhos das plantas inoculadas em relação a testemunha.

Uma das razões para a ausência de resposta das bactérias diazotróficas sobre as características morfofisiológicas e produtivas da *Braquiária decumbens* é a possível especificidade dos micro-organismos em relação às plantas, como a diversidade de bactérias associativas fixadoras de N pode, geralmente, estar condicionada à vegetação, é possível que diferentes genótipos de *Brachiaria* spp. possam exercer efeito seletivo sobre as populações destes micro-organismos o que poderia resultar em diferentes respostas quanto à contribuição da FBN (REIS JUNIOR et al., 2006).

Tabela 2. Características morfofisiológicas e produtivas da *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk inoculada com bactéria diazotrófica associativa.

Característica*	Bactéria Diazotrófica Associativa									Testemunha		CV(%)
	ESA01	ESA16	ESA15	ESA07	ESA14	ESA11	ESA13	BR11417	MIX	TN	TA	
NFP	26,66	26,00	23,66	29,66	22,33	25,66	23,00	22,00	22,00	19,00	20,00	25,43
NPP	6,33	8,33	11,66	9,33	11,33	6,66	10,66	12,33	8,00	11,33	13,00	17,91
PFP	1,06	1,20	1,63	0,90	1,60	0,93	1,80	2,00	1,50	1,60	1,33	14,30
PCP	1,60	2,33	1,63	1,03	1,93	1,73	2,36	2,03	2,10	1,83	1,73	15,33
MSPA	2,66	3,80	2,60	1,93	3,53	2,66	4,23	3,70	3,60	3,43	3,06	16,23
MSR	0,83	1,43	0,90	1,83	1,46	1,06	1,46	1,06	1,60	1,10	1,43	17,38
BT	3,50	5,23	3,50	3,76	3,73	5,70	4,76	5,20	4,53	4,53	4,50	15,66
PB	9,98	10,43	11,59	10,39	9,12	10,43	10,73	12,23	10,11	12,79	11,39	8,04
CL	37,23	39,86	37,83	44,86	42,46	43,56	31,83	41,10	35,43	41,16	48,26	9,64
AP	46,00	53,00	52,33	36,66	51,66	44,33	43,66	51,33	49,00	41,00	40,66	7,35

NFP= número de folhas por planta; NPP= número de perfilhos por planta; PFP= peso de folhas por planta (g/MS); PCP= peso de colmo por planta (g/MS); MSPA= massa seca da parte aérea (g/MS); MSR= massa seca de raiz (g/MS); BT= biomassa total (g/MS); PB= proteína bruta (%); CL= clorofila; AP= altura da planta (cm); ESA01= *Pantoea* sp.; ESA16= *Bacillus* sp.; ESA15= *Rhizobium* sp; ESA07= *Bacillus* sp; ESA14= *Bacillus* sp; ESA11= *Enterobacter* sp.; ESA13= *Bacillus* sp.; BR11417= *Herbaspirillum* sp; MIX= mistura dos tratamentos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8; TN= testemunha adubada com Nitrogênio; TA= testemunha absoluta (sem inoculação e sem nitrogênio). CV= coeficiente de variação. \*Não foram observadas diferenças estatísticas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (P<0,05).

Para a cultura do sorgo também não houve diferenças estatísticas entre os tratamentos em todas as análises avaliadas (número de folhas por planta (NF), número de perfilhos por planta (NP), peso de folhas (PF), peso do colmo (PC) massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), biomassa total (BT), proteína bruta (PB), teor de clorofila (CL) e altura da planta (AP)) (Tabela 3).

Tilak et al. (1981) estudaram as respostas produtivas do sorgo quando inoculados com bactérias diazotróficas e verificaram aumento de 6,2% na produção quando comparado com a testemunha comprovando que há interação entre bactérias diazotróficas e a espécie avaliada. Bem como IDRIS et al. (2009), que também encontraram resultados satisfatórios ao avaliar a eficiência de isolados rizobacterianos em sorgo, e constataram que dentre vários isolados, a bactéria *Serrantiam arcescens* estirpe KBS6-H colonizou as raízes estimulando o crescimento das plantas sob condições de casa de vegetação, verificando efeito positivo quando testado para a produção de fito-hormônio (AIA) e na solubilização de fosfato.

A cultura do milho, que se destaca como uma das mais estudadas a respeito da interação com bactérias diazotróficas, também tem mostrado resultados satisfatórios quando submetidos a inoculação, Bulla e Balbinot Júnior (2011) observaram aumento de 4,5% na produtividade de grãos de milho pela inoculação com *A. brasilense*, na média de cinco doses de N em cobertura, com produtividade média de grãos acima de 12 toneladas ha<sup>-1</sup>.

Índices como o teor de clorofila foliar (ICF) também podem ser influenciados pela inoculação dos micro-organismos diazotróficos. Kappes et al. (2013) encontraram aumentos de mais de 10% no ICF do milho inoculado com *A. brasilense* em relação a planta não inoculada. A avaliação dessa característica é de fundamental importância pois, o N é constituinte da molécula de clorofila, e geralmente existe alta correlação entre o seu teor e a clorofila nas folhas (SILVEIRA et al., 2003). Além disso, a avaliação do índice relativo de clorofila utilizando clorofilômetro portátil, permite a obtenção de uma medida expedita e não destrutiva, de forma rápida e prática.

No presente estudo não houve diferença significativa da inoculação para esta variável na cultura do sorgo. Entretanto, Bergamasshi et al., (2007) afirmam que a associação planta-bactéria é influenciada pela diversidade desses micro-organismos

aptos em fixar N e produzir ácido indolacético, em diferentes genótipos de sorgo forrageiro.

As plantas de capim-buffel não apresentaram diferenças estatísticas entre os tratamentos, em todas as análises avaliadas (número de folhas por planta (NF), número de perfilhos por planta (NP), peso de folhas (PF), peso do colmo (PC) massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), biomassa total (BT), proteína bruta (PB), teor de clorofila (CL) e altura da planta (AP)) (Tabela 4).

Embora os micro-organismos diazotróficos possam atuar na planta por meio da produção de substâncias promotoras de crescimento (auxinas, giberelinas e citocininas) as quais proporcionam aumento radicular e conseqüentemente maior absorção de água e nutrientes resultando em uma planta mais vigorosa e produtiva (HUNGRIA, 2011) o resultado obtido no presente estudo referente ao capim-buffel foi contrário ao esperado.

Entretanto, a associação entre bactérias endofíticas e esta espécie já foi observada quando cultivada na região semiárida (ANTUNES et al. 2015; MOREIRA et al., 2013; SANTOS et al., 2013), porém com baixa densidade populacional dessas bactérias em relação à outras gramíneas, como milho e sorgo, por exemplo (MOREIRA et al., 2013).

As BPCV desempenham importante papel na reabilitação e sustentabilidade dos ecossistemas, porém, Silva e Melloni (2011) relataram que a ocorrência e a atividade dessas bactérias no solo e na planta são bem influenciadas por estresses físicos (baixa umidade e alta temperatura), químicos (acidez e baixos teores de nutrientes) e biológicos (espécie vegetal não-hospedeira).

Dessa forma, uma das possíveis razões para a falta de interação entre os micro-organismos e o capim-buffel, tenha sido em função das condições ambientais, desde a não especificidade planta-bactéria até o deficit hídrico ao qual as plantas foram submetidas e, segundo Matsumara et al. (2015) a resposta da inoculação pode variar de acordo com o genótipo da planta, estirpe bacteriana, práticas agrícolas, bem como com a quantidade e qualidade das células de BPCV utilizadas como inoculante.

Tabela 3. Características morfofisiológicas e produtivas do Sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) moenche) inoculado com bactéria diazotrófica associativa.

Característica*	Bactéria Diazotrófica Associativa									Testemunha		CV(%)
	ESA01	ESA16	ESA15	ESA07	ESA14	ESA11	ESA13	BR11417	MIX	TN	TA	
NFP	7,00	5,33	7,33	6,00	7,00	7,00	7,00	7,33	6,00	7,00	6,33	18,30
NPP	2,13	2,00	2,13	2,13	2,13	2,13	2,13	2,13	2,00	2,27	2,13	47,07
PFP	2,33	2,57	2,48	2,47	2,48	2,47	2,52	2,45	2,51	2,58	2,54	39,14
PCP	2,22	2,36	2,24	2,39	2,32	2,40	2,50	2,31	2,45	2,20	2,39	45,84
MSPA	3,56	4,46	3,83	4,26	4,06	4,46	4,63	3,93	4,46	4,10	4,36	14,79
MSR	2,30	2,59	2,29	1,99	2,26	2,48	2,65	2,69	2,17	2,23	2,39	18,61
BT	5,86	7,23	6,12	6,25	6,32	6,94	7,28	6,62	6,63	6,33	6,75	16,58
PB	13,54	12,23	11,43	11,52	13,43	12,65	13,54	12,21	11,98	14,21	13,76	3,624
CL	38,96	40,30	40,53	37,50	40,43	39,60	39,20	41,50	34,30	39,83	39,66	19,67
AP	60,33	58,33	58,66	62,33	66,00	61,00	79,33	63,33	80,33	67,33	65,00	17,86

NFP= número de folhas por planta; NPP= número de perfilhos por planta; PFP= peso de folhas por planta (g/MS); PCP= peso de colmo por planta (g/MS); MSPA= massa seca da parte aérea (g/MS); MSR= massa seca de raiz (g/MS); BT= biomassa total (g/MS); PB= proteína bruta(%); CL= clorofila; AP= altura da planta (cm). ESA01= *Pantoea* sp.; ESA16= *Bacillus* sp.; ESA15= *Rhizobium* sp; ESA07= *Bacillus* sp; ESA14= *Bacillus* sp; ESA11= *Enterobacter* sp.; ESA13= *Bacillus* sp.; BR11417= *Herbaspirillum* sp; MIX= mistura dos tratamentos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8; TN= testemunha adubada com Nitrogênio; TA= testemunha absoluta (sem inoculação e sem nitrogênio). CV= coeficiente de variação. \*Não foram observadas diferenças estatísticas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (P<0,05).

Tabela 4. Características morfofisiológicas e produtivas do capim-buffel (*Cenchrus ciliaris* L.) inoculado com bactérias diazotrófica associativa.

Características*	Bactéria Diazotrófica Associativa									Testemunha		CV(%)
	ESA01	ESA16	ESA15	ESA07	ESA14	ESA11	ESA13	BR11417	MIX	TN	TA	
NFP	36,66	35,33	37,00	37,66	33,66	34,34	37,00	41,33	40,00	41,66	31,00	39,49
NPP	7,33	5,00	10,66	5,33	5,00	4,66	4,00	6,00	7,66	8,00	6,33	29,10
PFP	1,06	1,33	2,60	3,30	1,96	1,63	1,26	2,10	2,03	1,63	1,13	17,77
PCP	1,20	2,16	3,93	2,83	2,33	2,30	1,96	3,33	2,30	1,73	1,70	16,71
MSPA	2,26	3,50	6,63	6,13	4,30	3,93	3,23	5,40	4,33	3,36	2,83	19,23
MSR	1,06	1,06	2,70	1,90	1,03	1,80	1,30	3,13	1,06	0,96	1,23	18,86
BT	3,33	4,56	9,33	8,03	5,33	5,73	4,53	8,53	5,40	4,33	4,06	19,46
PB	11,27	10,65	10,78	9,92	9,87	11,81	10,84	10,72	9,77	12,24	11,96	5,26
CL	38,76	39,63	47,20	30,13	42,40	47,36	39,56	40,40	25,53	39,16	31,86	11,91
AP	46,00	57,00	65,00	57,00	62,33	51,33	55,66	56,00	58,00	62,33	59,33	8,55

NFP= número de folhas por planta; NPP= número de perfilhos por planta; PFP= peso de folhas por planta (g/MS); PCP= peso de colmo por planta (g/MS); MSPA= massa seca da parte aérea (g/MS); MSR= massa seca de raiz (g/MS); BT= biomassa total (g/MS); PB= proteína bruta (%); CL= clorofila; AP= altura da planta (cm). ESA01= *Pantoea* sp.; ESA16= *Bacillus* sp.; ESA15= *Rhizobium* sp; ESA07= *Bacillus* sp; ESA14= *Bacillus* sp; ESA11= *Enterobacter* sp.; ESA13= *Bacillus* sp.; BR11417= *Herbaspirillum* sp; MIX= mistura dos tratamentos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8; TN= testemunha adubada com Nitrogênio; TA= testemunha absoluta (sem inoculação e sem nitrogênio). CV= coeficiente de variação. \*Não foram observadas diferenças estatísticas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (P<0,05).

Em relação ao *Panicum maximum* cv. Mombaça, os efeitos da inoculação de bactérias diazotróficas endofíticas não foram estatisticamente significativos para as variáveis avaliadas (número de folhas por planta (NF)), número de perfilhos por planta (NP), peso de folhas (PF), peso do colmo (PC) massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), biomassa total (BT), teor de proteína bruta (PB), teor de clorofila (CL) e altura da planta (AP)) apresentadas na tabela 5.

Cardenas et al. (2010) identificaram cepas de *Azospirillum* associadas às raízes, folhas e caules de plantas, em pastos de *Panicum maximum* cv. Colômbia, foram ainda selecionadas três cepas promissoras para serem utilizadas como biofertilizantes por sua alta fixação de nitrogênio e produção de AIA o que demonstra interação entre as BPCV e essa espécie forrageira.

De acordo com Marcos et al. (2015), um dos resultados mais encontrados na literatura em relação ao uso de bactérias como inoculante em gramíneas, é a promoção de crescimento vegetal com estímulo no desenvolvimento tanto da parte aérea como nas raízes das plantas, porém na presente pesquisa os micro-organismos diazotróficos não promoveram tal desenvolvimento para espécie em estudo. Embora essas estirpes tenham sido testadas e comprovada a sua eficácia para produção de AIA e solubilização de fosfato (FERNANDES JÚNIOR et al., 2015).

Uma possível justificativa para a falta da manifestação dos benefícios das diazotróficas nas espécies forrageiras deste estudo é que a resposta esteja condicionada à reidratação, que não foi aplicada na referente pesquisa. Pois, segundo Mayank et al. (2004), as bactérias diazotróficas podem auxiliar também na recuperação após o estresse hídrico, mesmo não evitando a perda de água durante o estresse, estes micro-organismos podem fazer com que os níveis de água na célula retornem mais rapidamente ao normal, influenciando as características metabólicas do vegetal resultando em plantas mais revigoradas.



Tabela 5. Características morfofisiológicas e produtivas do mombaça (*Panicum maximum* cv. Mombaça) inoculado com bactéria diazotrófica associativa.

Característica*	Bactéria Diazotrófica Associativa									Testemunha		CV(%)
	ESA01	ESA16	ESA15	ESA07	ESA14	ESA11	ESA13	BR11417	MIX	TN	TA	
NFP	18,66	18,00	18,33	17,00	19,00	18,66	20,66	19,66	21,33	20,00	18,00	23,07
NPP	6,66	6,00	8,33	4,00	5,66	4,66	5,00	4,33	4,33	8,66	4,66	12,10
PFP	2,80	2,96	2,93	2,33	2,53	2,90	3,00	3,00	2,96	3,76	1,83	16,74
PCP	2,06	2,20	2,06	2,03	2,30	1,80	2,73	2,16	2,53	3,06	1,73	12,84
MSPA	4,86	5,16	5,00	4,36	4,83	4,70	5,73	5,20	5,50	6,83	3,56	16,20
MSR	1,56	2,70	1,03	1,23	2,73	1,83	1,80	1,76	1,70	2,20	1,50	23,61
BT	6,43	7,86	6,03	5,60	7,56	6,53	7,53	6,96	7,20	9,03	5,06	18,66
PB	10,32	9,18	11,43	9,78	9,65	11,43	10,45	9,12	9,87	11,98	11,23	7,65
CL	34,80	39,36	40,06	33,40	37,73	34,16	44,73	40,06	44,36	37,50	44,90	7,55
AP	88,00	98,33	91,66	104,3	94,00	80,33	97,66	100,00	99,00	100,00	96,00	4,54

NFP= número de folhas por planta; NPP= número de perfilhos por planta; PFP= peso de folhas (g/MS); PC= peso de colmo (g/MS); MSPA= massa seca da parte aérea (g/MS); MSR= massa seca de raiz (g/MS); BT= biomassa total (g/MS); PB= proteína bruta (%); CL= clorofila; AP= altura da planta (cm); ESA01= *Pantoea* sp.; ESA16= *Bacillus* sp.; ESA15= *Rhizobium* sp.; ESA07= *Bacillus* sp; ESA14= *Bacillus* sp; ESA11= *Enterobacter* sp.; ESA13= *Bacillus* sp.; BR11417= *Herbaspirillum* sp; MIX= mistura dos tratamentos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8; TN= testemunha adubada com Nitrogênio; TA= testemunha absoluta (sem inoculação e sem nitrogênio). CV= coeficiente de variação. \*Não foram observadas diferenças estatísticas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (P<0,05).

## Experimento 2

A inoculação com bactérias diazotróficas associativas no capim-buffel submetido ao deficit hídrico e seguido de reidratação resultou em diferença para massa seca de raiz como apresentado na Tabela 6.

Todas as plantas inoculadas com bactérias diazotróficas proporcionaram aumentos de massa seca de raiz (MSR) quando comparadas com a planta que não recebeu inóculo. Porém, dentre os inoculados que sofreram deficit hídrico, o tratamento ESA15 no qual a planta foi inoculada com o isolado de *Rhizobium* sp proporcionou o maior aumento diferindo da planta que não recebeu inoculação. Mesmo não havendo diferenças ( $P < 0,05$ ) na massa seca da parte aérea, a inoculação com esta estirpe, proporcionou um melhor desenvolvimento do vegetal em condições de estresse como mostra Figura 3.



Figura 3. Capim-buffel (*Cenchrus ciliaris* L.) submetido ao deficit hídrico com e sem inoculação de bactéria diazotrófica. 1- planta sem inoculação, 2- planta inoculada com *Rhizobium* sp. Isolado do *Tripogon spicatus*.

Esse aumento da MSR pode ser devido à produção fitormônios pois, como ressaltado anteriormente, além da fixação biológica de nitrogênio, esses microorganismos podem promover o crescimento do vegetal através da produção de auxinas, que aumentam o tamanho e a superfície radicular podendo contribuir para melhor absorção de nutrientes e água do solo (MOREIRA et al., 2010). Este isolado de *Rhizobium* sp (Tratamento ESA15) foi avaliado quanto à sua capacidade de produção de AIA in vitro, que por sua vez, também proporcionou aumento na

biomassa do arroz quando testado em casa de vegetação (FERNANDES JÚNIOR et al., 2015).

Segundo Silva (2014), o ápice das raízes é considerado uma das regiões de colonização primária, principalmente na zona de alongamento e diferenciação celular, onde as bactérias podem invadir inter/intracelularmente, penetrando nos tecidos mais centrais antes da diferenciação dos vasos condutores e da endoderme.

Resultados semelhantes foram encontrados por Reis Júnior et al. (2008) em milho inoculado com *Azospirillum amazonense* em que as plantas inoculadas apresentaram maior massa seca de raízes, quando comparadas às plantas não inoculadas. Esse aumento pode estar ligado a maior quantidade de pelos radiculares e na formação e desenvolvimento de numerosas raízes laterais primárias e secundárias, que podem promover efeitos benéficos como a melhor absorção de água e nutrientes, aumentando a produção da planta e sua capacidade de tolerar o estresse ambiental para a cultura, em épocas de ocorrência de baixa precipitação pluvial, visto que o milho é altamente exigente em água e o aumento da área superficial específica de raízes possibilita maior capacidade de absorção de água e nutrientes do solo (QUADROS et al., 2014).

Também é válido ressaltar que o capim-buffel é caracterizado por grande volume de raízes, o que lhe confere resistência por longos períodos de estiagem. Porém, tal fato depende da intensidade e duração do déficit hídrico (COUTINHO et al., 2015).

Características como o teor de proteína bruta, que não sofreu influência dos tratamentos com inoculação, podem estar relacionada à capacidade desta cultivar em manter as suas propriedades mesmo diante de condições adversas. Ressaltando ainda que, o capim-buffel possui naturalmente uma tolerância ao déficit hídrico (MONÇÃO et al., 2011), nota-se que a planta mesmo em condições de estresse não diferiu do controle que foi irrigado durante todo o experimento.

TABELA 6. Características morfofisiológicas e produtivas do capim-buffel (*Cenchrus ciliaris* L.) inoculado com bactéria diazotrófica associativa submetidos ao deficit hídrico seguido de reidratação.

Característica	Bactéria Diazotrófica Associativa									Testemunha		CV (%)
	B13	Ab-V6	ESA11	ESA13	B11	ESA15	BR11417	S14	TA	TN	TI	
NFP	96,20	74,00	78,92	110,2	100,2	111,2	96,20	110,3	81,20	85,80	125,6	86,91
NPP	12,40	10,0	9,30	13,50	11,80	22,25	12,00	12,66	11,80	10,20	19,60	34,58
PFP	0,82	2,30	2,60	2,42	2,66	2,65	2,40	4,00	1,90	2,20	4,28	17,27
PCP	3,20	3,46	3,40	3,70	4,22	4,12	3,55	5,43	3,50	3,28	6,92	18,40
MSPA	5,64	5,76	6,00	6,12	6,88	6,77	5,95	9,43	5,40	5,48	11,20	18,88
MSR	2,86b	3,13b	3,61b	3,17b	3,24b	4,35a	3,28ab	4,03ab	1,68c	3,30b	6,68a	10,52
BT	8,50	6,92	7,18	9,30	10,12	11,12	9,35	14,36	7,08	8,78	17,88	24,84
TM	0,72	1,00	2,57	0,90	0,84	1,12	0,50	0,76	1,18	0,72	0,86	16,85
CL	33,14	41,00	18,22	30,50	27,04	33,95	29,00	39,36	24,90	36,38	30,14	55,39
AP	19,20	25,87	23,70	20,88	25,20	21,40	21,70	19,80	19,00	20,80	22,40	5,46
PB	11,46	11,38	12,38	12,02	12,75	9,91	12,21	9,04	12,09	12,73	9,94	7,50

NFP= número de folhas por planta; NPP= número de perfilhos por planta; PFP= peso de folhas por planta (g/MS); PCP= peso de colmo por planta (g/MS); MSPA= massa seca da parte aérea (g/MS); MSR= massa seca de raiz (g/MS); BT= biomassa total (g/MS); TM= tecido morto (g/MS) CL= clorofila; AP= altura da planta (cm) PB= proteína bruta (%) B13=*Bacillus* sp.; Ab-V6= *Azospirillum* sp.; ESA11= *Enterobacter* sp.; ESA13= *Bacillus* sp.; B11= *Agrobacterium* sp.; ESA15= *Rhizobium* sp.; BR11417= *Herbaspirillum* sp.; S14= s14; TA= testemunha absoluta (sem inoculação e sem Nitrogênio); TN= testemunha adubada com Nitrogênio; TI= testemunha irrigada. CV= coeficiente de variação. Médias seguidas por letras diferentes, diferem entre si, a 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey (P<0,05).

Para a taxa de fotossíntese, houve diferenças significativas entre os tratamentos apenas aos 32 dias após a emergência, quando a irrigação havia sido suspensa por quatro dias (Tabela 7), onde a planta que não sofreu estresse manteve a sua taxa em relação aos períodos anteriores, diferindo estatisticamente dos tratamentos que sofreram restrição hídrica. A redução na atividade fotossintética pela redução na assimilação do CO<sub>2</sub> e a senescência das folhas são grandes indicadores do efeito do deficit hídrico em uma cultura, pois, o estresse reduz o índice de troca de CO<sub>2</sub> e a sua condução para a folha (FERNANDES et al., 2015).

Tabela 7. Taxa de fotossíntese líquida ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-2}$ ) em folhas de capim-buffel (*Cenchrus ciliaris* L.) em função da inoculação com bactéria diazotrófica associativa submetido ao deficit hídrico seguido de reidratação.

Tratamento	Tempo				
	0	1	2	3	4
B13	17,42	12,48	7,00b	12,60	13,87
Ab-V6	18,41	6,96	6,70b	13,13	14,06
ESA11	14,99	9,12	3,19b	9,03	17,59
ESA13	18,52	10,41	1,82b	11,08	16,14
B11	17,45	9,05	3,23b	9,32	15,51
ESA15	16,02	9,91	1,25b	7,94	15,89
BR11417	12,05	8,27	2,67b	9,21	12,35
S14	14,42	7,31	10,31b	14,97	18,05
TA	14,50	16,87	1,51b	9,82	16,24
TN	19,49	13,37	0,81b	11,71	13,03
TI	14,43	15,28	16,91a	14,01	16,77
CV(%)	22,97				

Tempo 0- antes do deficit hídrico, 1- dois dias de deficit hídrico, 2- quatro dias de deficit hídrico, 3- dois dias após o deficit hídrico, 4- quatro dias após o deficit hídrico. Tratamento B13=*Bacillus* sp.; Ab-V6= *Azospirillum* sp; ESA11= *Enterobacter* sp.; ESA13=*Bacillus* sp.; B11= *Agrobacterium* sp.; ESA15= *Rhizobium* sp.; BR11417= *Herbaspirillum* sp.; S14= s14; TA= testemunha absoluta (sem inoculação e sem adubação); TN= testemunha adubada com Nitrogênio; TI= testemunha irrigada. CV= coeficiente de variação. Médias seguidas por letras diferentes diferem entre si a 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey (P<0,05).

Santos et al. (2014), verificaram redução na assimilação de CO<sub>2</sub> em 53% no período da manhã e 66% no período da tarde em plantas de milho submetidos ao estresse hídrico, sendo estes valores recuperados após a reidratação da planta. Os autores afirmam que, limitada disponibilidade hídrica no solo, em geral, faz as espécies reduzirem a condutância

estomática como mecanismo de defesa à perda de água, reduzindo assim a também a transpiração.

No presente estudo também foram verificadas diferenças estatísticas na condutância estomática em folhas do capim-buffel da planta hidratada em relação às plantas que sofreram quatro dias de restrição hídrica, o que já era esperado (Tabela 8). Porém no período, onde o deficit hídrico foi menos severo, as plantas que sofreram restrição hídrica tiveram suas taxas de fotossíntese e condutância estomática semelhante a planta que foi hidratada, podendo esse fato ser explicado pela alta resistência da cultura frente às condições de seca (MONÇÃO et al. 2011).

Tabela 8. Condutância estomática ( $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) em folhas de capim-buffel (*Cenchrus ciliaris* L.) em função da inoculação com bactéria diazotrófica associativa submetido ao deficit hídrico seguido de reidratação

Tratamento	Tempo				
	0	1	2	3	4
B13	0,064	0,058	0,012b	0,044	0,047
Ab-V6	0,077	0,690	0,040b	0,056	0,322
ESA11	0,067	0,040	0,016b	0,042	0,086
ES13	0,074	0,062	0,067b	0,048	0,087
B11	0,080	0,042	0,027b	0,044	0,078
ESA15	0,068	0,042	0,008b	0,034	0,078
BR11417	0,056	0,038	0,014b	0,040	0,058
S14	0,066	0,052	0,070b	0,070	0,057
TA	0,067	0,072	0,010b	0,055	0,076
TN	0,080	0,062	0,010b	0,056	0,060
TI	0,058	0,068	0,820a	0,062	0,058
CV(%)	5,11				

Tempo 0- antes do deficit hídrico, 1- dois dias de deficit hídrico, 2- quatro dias de deficit hídrico, 3- dois dias após o deficit hídrico, 4-quatro dias após o deficit hídrico. Tratamento B13=*Bacillus* sp.; Ab-V6= *Azospirillum* sp; ESA11= *Enterobacter* sp.; ESA13=*Bacillus* sp.; B11= *Agrobacterium* sp.; ESA15= *Rhizobium* sp.; BR11417= *Herbaspirillum* sp.; S14= s14; TA= testemunha absoluta (sem inoculação e sem adubação); TN= testemunha adubada com Nitrogênio; TI= testemunha irrigada. CV= coeficiente de variação. Médias seguidas por letras diferentes diferem entre si a 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Gonçalves et al. (2010), avaliaram as trocas gasosas em variedades de cana-de-açúcar submetidas ao deficit hídrico e verificaram que, com a restrição da água disponível no solo, ocorreu redução na condutância estomática em todos os genótipos. Esses resultados indicam que, sob estresse severo, uma das primeiras respostas da planta frente ao estresse, pode ser o fechamento estomático, de forma a minimizar a perda de água. Da mesma forma, Smit & Singels (2006), relataram reduções na condutância estomática em duas variedades de cana-de-açúcar submetidas ao deficit hídrico, afirmando que tal variável se apresenta com maior sensibilidade em relação a outras características quando o solo torna-se mais seco.

Em relação a taxa de transpiração, os tratamentos B13, TA e TI diferiram estatisticamente dos demais tratamentos aos 30 dias após a emergência, quando a irrigação havia sido suspensa por dois dias (Tabela 9).

Tabela 9. Taxa de transpiração ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) em folhas de capim-buffel (*Cenchrus ciliaris* L.) em função da inoculação com bactéria diazotrófica associativa submetido ao deficit hídrico seguido de reidratação.

Tratamento	Tempo				
	0	1	2	3	4
B13	2,32	2,25a	0,42b	1,17	1,30
Ab-V6	2,73	1,47b	1,29b	1,48	1,51
ESA11	2,22	1,62b	0,70b	1,00	2,15
ESA13	2,55	1,93b	0,85b	1,27	1,99
B11	2,66	1,61b	0,72b	1,04	1,96
ESA15	2,54	1,67b	0,31b	0,79	2,16
BR11417	1,90	1,50b	0,60b	0,97	1,53
S14	2,39	1,45b	2,06b	1,64	2,97
TA	2,20	2,73a	0,33b	1,10	1,94
TN	2,68	2,19b	0,36b	1,37	1,58
TI	2,18	2,59a	2,64a	1,68	1,56
CV (%)	25,7				

Tempo 0- antes do deficit hídrico, 1- dois dias de deficit hídrico, 2- quatro dias de deficit hídrico, 3- dois dias após o deficit hídrico, 4-quatro dias após o deficit hídrico. Tratamento B13=*Bacillus* sp.; Ab-V6= *Azospirillum* sp; ESA11= *Enterobacter* sp.; ESA13=*Bacillus* sp.; B11= *Agrobacterium* sp.; ESA15= *Rhizobium* sp.; BR11417= *Herbaspirillum* sp.; S14= s14; TA= testemunha absoluta (sem inoculação e sem adubação); TN= testemunha adubada com Nitrogênio; TI= testemunha irrigada. CV= coeficiente de variação. Médias seguidas por letras diferentes diferem entre si a 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey (P<0,05).

Já aos quatro dias de restrição, as taxas de todos os tratamentos diminuíram, igualando entre si, exceto a testemunha que continuou sendo hidratada. Esse resultado sugere que, em condições de estresse hídrico mais severo, os micro-organismos não auxiliaram a planta contra os efeitos da dessecação, porém, como estes proporcionaram aumentos na massa seca da raiz resultando em um aumento da superfície de absorção e pode, por consequência, ter efeitos positivos na aquisição de água e nutrientes, (DIMKPA et al., 2009) estas bactérias diazotróficas podem posteriormente contribuir nos processos fisiológicos do vegetal em um período mais prolongado do seu desenvolvimento.

O avanço do estresse hídrico na planta ocorre quando a taxa de transpiração vai exceder a taxa de absorção e transporte de água. O fechamento estomático reduz a transpiração, diminuindo a capacidade de refrigeração da folha e aumentando a temperatura deste órgão (CAVALCANTE et al., 2009).

Em relação ao capim Mombaça submetido a inoculação com bactérias diazotróficas não houve diferenças ( $P > 0,05$ ) para as variáveis altura da planta (AP), número de folhas por planta (NFP), número de perfilhos por planta (NPP), peso de folhas por planta (PFP), peso do colmo por planta (PCP) massa seca da parte aérea (MSPA), tecido morto (TM) teor de clorofila (CL).

Já as variáveis: massa seca de raiz (MSR) e biomassa total (BT) responderam positivamente à aplicação dos micro-organismos (Tabela 10).

Cultivares de *Panicum maximum* são extremamente sensíveis ao deficit hídrico. A produção de forragem na seca representa, geralmente, de 10% a 20% da produção total anual, sendo a cultivar mombaça ainda mais sensível que a cultivar massai, por exemplo, apresentando reduções mais drásticas de massa verde da parte aérea e altura da planta quando comparada as suas produções em condições de estresse hídrico (SILVA, 2013).

Todas as plantas inoculadas com bactérias diazotróficas tiveram aumentos de massa seca de raiz (MSR) quando comparadas à planta não inoculada, porém os Tratamentos ABV-6, B11, ESA15 e S14 proporcionaram os maiores aumentos, assemelhando-se as testemunhas adubada e irrigada.

Como foi citado, as bactérias diazotróficas exercem funções diversas nas plantas proporcionando inúmeros benefícios. Estudos relatam tanto o efeito na morfologia das raízes, como aumento no comprimento, no número e na superfície de raízes, aumento na absorção de nutrientes, que possivelmente são resultados de substâncias promotoras de crescimento secretadas pela bactéria (MARTIN et al., 1989).



A BT do capim mombaça também sofreu efeito positivo quando submetido à inoculação. Os tratamentos ESA 15 (Figura 4) e S14 proporcionaram aumentos da massa total da planta que corresponde a soma da massa seca de raiz e de massa seca da parte aérea, assemelhando-se as testemunhas nitrogenada e irrigada.



Figura 4. Capim Mombaça (*Panicum maximum* cv. Mombaça) submetido ao deficit hídrico com e sem inoculação de bactérias diazotróficas. 1- planta sem inoculação 2- planta inoculada com *Rhizobium* sp. Isolado do *Tripogon spicatus*.

Resultado semelhante foi reportado por Fernandes Júnior et al. (2015), que encontraram aumento de 82% e 51 % da biomassa seca total do arroz como resultado da inoculação com o isolado ESA 1 (*Pantoea* sp.) quando comparado com plantas não-inoculadas e as inoculadas com a estirpe referência Ab-V5, respectivamente. No referido estudo a ESA 1 foi testada e comprovada a sua eficiência para fixação de nitrogênio e solubilização de fosfato e de cálcio, o que evidencia que este isolado aumentou o crescimento do arroz agindo com diferentes mecanismos no desenvolvimento da planta.

Tabela 10. Características morfofisiológicas e produtivas do mombaça (*Panicum maximum* cv. *Mombaça*) inoculado com bactéria diazotrófica associativa submetido ao deficit hídrico seguido de reidratação.

Característica	Bactéria Diazotrófica Associativa									Testemunha		CV (%)
	B13	Ab-V6	ESA11	ESA13	B11	ESA15	BR11417	S14	TA	TN	TI	
NFP	46,80	49,00	50,60	39,40	45,40	61,20	38,80	62,20	33,40	64,80	46,80	17,02
NPP	17,6	20,6	19,00	14,8	18,4	21,8	14,8	18,4	15,8	21,6	17,8	17,36
PFP	5,16	5,50	5,56	4,52	6,40	7,46	4,80	6,02	3,42	6,94	6,16	13,72
PCP	3,34	3,72	3,94	3,32	3,94	4,30	2,98	3,76	2,36	4,12	4,16	11,29
MSPA	8,50	9,22	9,50	7,84	10,34	11,76	7,78	9,78	5,78	11,06	10,32	13,47
MSR	5,1ab	7,70a	4,76ab	4,72ab	7,40a	8,40a	4,88ab	8,72a	2,86c	8,14a	8,64a	15,52
BT	13,66ab	16,92ab	14,36ab	12,56ab	17,74ab	20,16a	12,66ab	18,5a	8,64b	19,2a	18,96a	10,38
TM	1,44	2,20	1,40	2,70	1,08	1,50	1,08	1,44	1,16	1,02	1,04	17,82
CL	25,34	29,62	27,44	30,80	24,96	21,02	25,94	26,20	29,06	29,80	26,96	9,86
AP	20,46	22,00	22,80	19,80	22,90	20,40	22,80	20,30	19,50	21,30	22,90	12,89
PB	9,40	9,52	10,89	11,22	9,32	10,45	11,23	10,89	9,29	12,11	10,95	11,72

NFP= número de folhas por planta; NPP= número de perfilhos por planta; PFP= peso de folhas por planta (g/MS); PCP= peso de colmo por planta (g/MS); MSPA= massa seca da parte aérea (g/MS); MSR= massa seca de raiz (g/MS); BT= biomassa total (g/MS); TM= tecido morto (g/MS) CL= clorofila; AP= altura da planta (cm) PB= proteína bruta (%) 1=*Bacillus* sp.; 2= *Azospirillum* sp.; 3= *Enterobacter* sp.; 4= *Bacillus* sp.; 5= *Agrobacterium* sp.; 6= *Rhizobium* sp.; 7= *Herbaspirillum* sp.; 8= s14; 9= testemunha absoluta (sem inoculação e sem Nitrogênio); 10= testemunha adubada com Nitrogênio; 11= testemunha irrigada. CV= coeficiente. Médias seguidas por letras diferentes diferem entre si a 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey (P<0,05).

A inoculação com bactérias diazotróficas não promoveu diferença significativa em relação às trocas gasosas para nenhuma das variáveis analisadas (taxa de fotossíntese, condutância estomática e taxa de transpiração) no capim mombaça (Tabelas 11, 12 e 13).

Tabela 11. Taxa de fotossíntese líquida ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-2}$ ) em folhas de capim Mombaça (*Panicum maximum* cv. Mombaça) em função da inoculação com bactéria diazotrófica associativa submetido ao deficit hídrico seguido de reidratação.

Tratamento	Tempo				
	0	1	2	3	4
B13	20,46	3,00b	13,37	17,57	14,83
Ab-V6	16,98	1,82b	15,02	20,41	14,47
ESA11	16,85	1,71b	13,19	19,01	15,26
ESA13	16,95	0,55b	12,96	18,37	4,20
B11	18,37	4,20b	7,36	13,82	11,00
ESA15	15,45	0,63b	12,26	18,84	17,35
BR11417	17,07	1,19b	16,79	18,85	18,10
S14	19,94	0,28b	10,82	19,45	19,77
TA	19,66	0,68b	22,66	20,98	16,53
TN	12,60	2,63b	14,66	22,24	17,48
TI	18,85	15,19a	12,22	15,86	18,09
CV (%)	21,32				

Tempo 0- antes do deficit hídrico, 1- dois dias de deficit hídrico, 2- dois dias após o deficit hídrico, 3- quatro dias após o deficit hídrico, 4- seis dias após o deficit hídrico. Tratamento B13=*Bacillus* sp.; Ab-V6= *Azospirillum* sp; ESA11= *Enterobacter* sp.; ESA13=*Bacillus* sp.; B11= *Agrobacterium* sp.; ESA15= *Rhizobium* sp.; BR11417= *Herbaspirillum* sp.; S14= s14; TA= testemunha absoluta (sem inoculação e sem adubação); TN= testemunha adubada com Nitrogênio; TI= testemunha irrigada. CV= coeficiente de variação. Médias seguidas por letras diferentes diferem entre si a 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey (P<0,05).

Embora neste estudo a inoculação não tenha afetado as características fisiológicas do capim, Santos et al. (2014) trabalharam com girassol inoculados com bactérias diazotróficas submetidas ao deficit hídrico e verificaram que, em geral, os teores de solutos orgânicos nas folhas e raízes das plantas inoculadas foram mais elevados do que nas plantas sob estresse hídrico e sem inoculação. O acúmulo intracelular de solutos orgânicos osmoticamente ativos, em resposta às condições de baixa disponibilidade de água, é um importante mecanismo desenvolvido pelas plantas que apresentam tolerância à seca (CHAVES FILHO & STACCIARINI-SERAPHIN 2001).

Este mecanismo pode auxiliar a planta a manter a turgescência, tornando possível a manutenção da absorção de água e da pressão de turgescência da célula, o que pode contribuir para a manutenção de processos fisiológicos como a fotossíntese, alongamento e divisão celular (SERRAJ & SINCLAIR,2002).

Tabela 12. Condutância estomática ( $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) em folhas do capim Mombaça (*Panicum maximum* cv. Mombaça) em função da inoculação com bactérias diazotrófica associativa submetido ao deficit hídrico seguido de reidratação.

Tratamento	Tempo				
	0	1	2	3	4
B13	0,09	0,03b	0,07	0,09	0,07
Ab-V6	0,07	0,02b	0,08	0,10	0,07
ESA11	0,07	0,02b	0,07	0,09	0,08
ESA13	0,07	0,01b	0,07	0,10	0,06
B11	0,08	0,03b	0,04	0,07	0,06
ESA15	0,06	0,01b	0,06	0,08	0,08
BR11417	0,08	0,01b	0,09	0,09	0,09
S14	0,08	0,01b	0,05	0,09	0,10
TA	0,08	0,01b	0,12	0,10	0,08
TN	0,06	0,02b	0,07	0,10	0,09
TI	0,08	0,08a	0,06	0,07	0,05
CV (%)	4,73				

Tempo 0- antes do déficit hídrico, 1- dois dias de déficit hídrico, 2- dois dias após o déficit hídrico, 3- quatro dias após o déficit hídrico, 4- seis dias após o déficit hídrico. Tratamento B13=*Bacillus* sp.; Ab-V6= *Azospirillum* sp; ESA11= *Enterobacter* sp.; ESA13=*Bacillus* sp.; B11= *Agrobacterium* sp.; ESA15= *Rhizobium* sp.; BR11417= *Herbaspirillum* sp.; S14= s14; TA= testemunha absoluta (sem inoculação e sem adubação); TN= testemunha adubada com Nitrogênio; TI= testemunha irrigada. CV= coeficiente de variação. Médias seguidas por letras diferentes diferem entre si a 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

TABELA 13. Taxa de transpiração ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) em folhas de capim Mombaça (*Panicum maximum* cv. Mombaça) em função da inoculação com bactérias diazotróficas associativas submetido ao déficit hídrico seguido de reidratação.

Tratamento	Tempo				
	0	1	2	3	4
B13	3,54	1,19b	2,04	2,16	2,04
Ab-V6	2,98	0,86b	2,47	2,50	1,93
ESA11	2,87	0,86b	2,08	2,36	2,23
ESA13	2,87	0,59b	1,92	2,46	1,78
B11	3,20	1,21b	1,37	1,75	1,74
ESA15	2,50	0,60b	1,87	2,04	2,30
BR11417	3,03	0,82b	2,54	2,16	2,51
S14	3,29	0,73b	1,53	2,23	2,84
TA	3,26	0,66b	3,17	2,48	2,09
TN	2,45	1,01b	2,12	2,51	2,37
TI	3,13	3,37a	2,15	1,89	1,44
CV (%)	12,73				

Tempo 0- antes do déficit hídrico, 1- dois dias de déficit hídrico, 2- dois dias após o déficit hídrico, 3- quatro dias após o déficit hídrico, 4- seis dias após o déficit hídrico. Tratamento B13=*Bacillus* sp.; Ab-V6=*Azospirillum* sp.; ESA11=*Enterobacter* sp.; ESA13=*Bacillus* sp.; B11=*Agrobacterium* sp.; ESA15=*Rhizobium* sp.; BR11417=*Herbaspirillum* sp.; S14= s14; TA= testemunha absoluta (sem inoculação e sem adubação); TN= testemunha adubada com Nitrogênio; TI= testemunha irrigada. CV= coeficiente de variação. Médias seguidas por letras diferentes diferem entre si a 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

O sorgo foi a espécie que apresentou o maior número de variáveis com efeitos significativos quando submetido a inoculação em condições de estresse hídrico (Tabela 14).

Para a análise de MSR o tratamento ESA15(*Rhizobium* sp) apresentou resultado semelhante a testemunha irrigada e superior as testemunhas absoluta e adubada sugerindo que, os rizóbios podem ser capazes não só de fixar simbioticamente o nitrogênio atmosférico quando em associação com leguminosas, mas também como um grande promotor de incremento no rendimento de gramíneas, quando devidamente inoculados (MACHADO, 2015).

Para a cultura do arroz, os *Rhizobium* sp também tem mostrado a sua eficiência na promoção do crescimento dessa gramínea. Osório Filho et al., (2016) avaliaram a promoção de crescimento que os rizóbios proporcionam nessa planta fertilizada com diferentes doses de N, e observaram que o isolado UFRGS-Lc336,

associado a uma dose de 60kg ha<sup>-1</sup> de N, proporcionou uma produção de massa seca da parte aérea equivalente ao obtido com a dose de 160kg ha<sup>-1</sup> de N, sem inoculação de rizóbios. Supondo que a produtividade de arroz esteja diretamente relacionada com a produção de matéria seca, pode-se dizer que a inoculação com o isolado UFRGS-Lc336 proporcionaria grande economia na adubação nitrogenada.

Resultados satisfatórios também foram reportados por Mareque et al. (2015) que ao avaliar a promoção de crescimento do sorgo sacarino inoculado com isolados bacterianos selecionados em casa de vegetação encontraram aumentos na ordem de 30% para MSR e 20% de MSPA (massa seca da parte aérea) destas plantas quando inoculadas com estirpes de *Rhizobium* sp UYSB13 e *Pantoea* sp. UYSB45. Os autores afirmam que a promoção do crescimento vegetal por estas espécies já foram comprovadas em culturas como milho arroz, sorgo doce e cana-de-açúcar (DAKORA 2004; BHATTACHARJEE et al. 2008; MONTAÑEZ et al. 2012). Neste estudo, o *Rhizobium* sp. UYSB13 é descrito como um produtor de ACC (*aminociclopropano-1-carboxilato*) deaminase, enzima que cliva o ACC, precursor imediato de etileno, reduzindo os seus níveis e conseqüentemente diminuindo os efeitos negativos às plantas.

Em relação a biomassa total da planta, o ESA15 (*Rhizobium* sp) também apresentou resultados satisfatórios quando comparado aos tratamentos controle e adubado, assemelhando-se ao tratamento irrigado (Figura 5). Este isolado (*Rhizobium* sp) possui um grande potencial para fixação biológica do nitrogênio quando comparada com outros grupos de diazotróficas conferindo-lhe capacidade para ser aplicada no campo auxiliando a planta na germinação de sementes e desenvolvimento radicular inicial (FERNANDES JÚNIOR et al. 2015) além de impedir a restrição de crescimento da massa seca total da planta em condições hídricas restritivas.

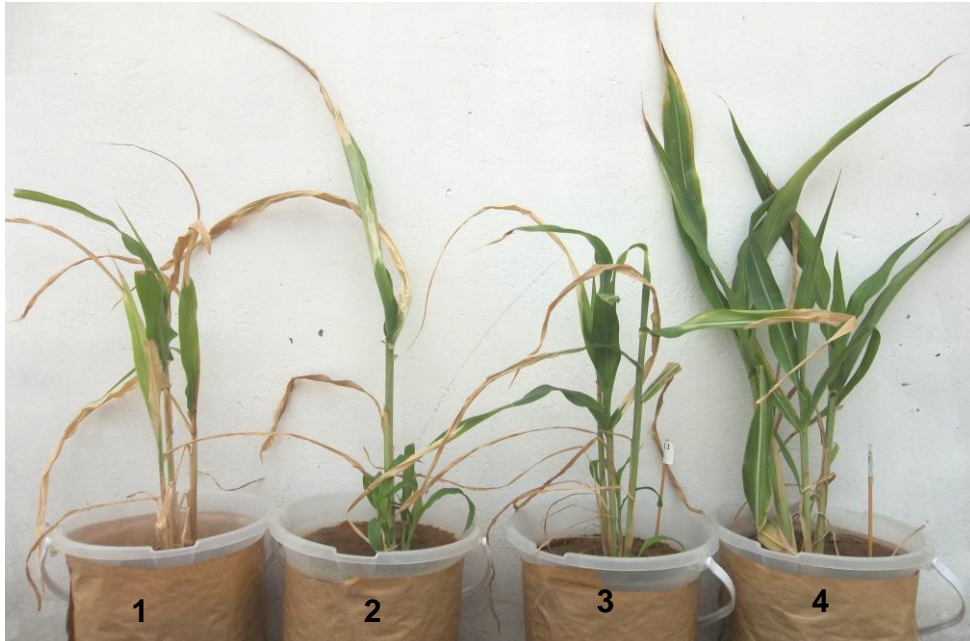


Figura 5. Sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) submetido ao deficit hídrico com e sem inoculação de bactérias diazotróficas. 1- sem inoculação 2- sem inoculação e com adubação nitrogenada 3- inoculação com *Herbaspirillum* sp. isolado do milho 4- inoculação com *Rhizobium* sp isolado do *Tripogon Spicatus*.

Ao trabalhar com milho inoculado com micro-organismos isolados de cactáceas da Caatinga, Kavamura et al. (2013) encontraram incrementos de 81% da área foliar, 66,28% do peso seco da parte aérea e 17, 42% do comprimento do caule das plantas, comprovando que a inoculação dessas linhagens (*Bacillus* sp., *Pantoea* sp. e *Serratia* sp.) protegeu a planta contra os efeitos negativos da dessecação. Os autores afirmam que esses efeitos benéficos nas plantas proporcionado pelos micro-organismos não estão claramente correlacionados com a produção de AIA, solubilização de fosfato e demais mecanismos e por isso é importante selecionar bactérias in vitro para múltiplas características de promoção do crescimento vegetal e avaliar o seu desempenho em condições de inoculação.

Entretanto, no presente estudo as plantas foram reidratadas, sugerindo a hipótese de que os micro-organismos tenham auxiliado a planta neste momento. Aguiar et al. (2015) trabalharam com cana-de-açúcar em condições de estresse hídrico e verificaram que as plantas inoculadas com BPCV + HA (ácido húmico) apresentaram diferenças no seu perfil metabólico com maior potencial hídrico e ajuste osmótico após a reidratação quando comparado com o tratamento controle, sugerindo que nessas condições as BPCV auxiliam a planta em condições de

estresse hídrico aumentando o potencial de água nas folhas e na eficiência do fechamento estomático, resultando na preservação de água na planta.

A altura da planta também sofreu diferenças estatísticas em função dos tratamentos. Plantas inoculadas com o isolado ESA11(*Enterobacter* sp.) apresentaram aumento da altura diferindo das testemunhas absoluta e adubada assemelhando-se a testemunha irrigada. Esse aumento pode estar correlacionado com a produção de AIA, solubilização de fosfato e demais mecanismos de promoção do crescimento vegetal apresentados pelos micro-organismos (KAVAMURA et al., 2013).

Santos et al. (2014) encontraram resultado oposto ao do presente estudo em que, ao avaliar a inoculação de bactérias diazotróficas em girassol sob restrição hídrica não encontraram resultados significativos na altura da planta inoculada justificando que, possivelmente, durante o déficit hídrico, como mecanismo para evitar a perda de água, ocorreu o fechamento dos estômatos, reduzindo a fotossíntese e, conseqüentemente, a produção de fotoassimilados, resultando em menor desenvolvimento vegetativo.



Tabela 14. Características morfofisiológicas e produtivas do Sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) inoculado com bactéria diazotrófica associativa submetido ao deficit hídrico seguido de reidratação.

Característica	Bactéria Diazotrófica Associativa									Testemunha		CV (%)
	B13	Ab-V6	ESA11	ESA13	B11	ESA15	BR11417	S14	TA	TN	TI	
NFP	5,8ab	4,60ab	4,00b	8,6ab	6,25ab	6,80ab	6,20ab	10,25a	6,20ab	5,60ab	6,20ab	15,01
NPP	1,60	1,20	1,40	1,80	1,20	1,40	1,20	2,25	1,80	1,60	1,50	9,14
PFP	2,36	2,45	2,26	2,52	2,13	2,63	2,45	2,50	2,03	2,25	2,55	14,11
PCP	2,48	2,76	3,08	2,22	2,77	2,58	2,68	2,60	1,36	1,32	4,52	16,75
MSPA	4,44	4,94	4,78	4,60	4,15	5,32	4,88	4,90	2,60	3,02	7,14	14,11
MSR	3,50bc	4,06bc	4,54bc	2,84bc	3,12bc	6,14ab	4,60bc	4,37bc	1,88c	2,92bc	8,14a	12,77
BT	7,94bc	9,00bc	9,32bc	7,44bc	7,27bc	11,46ab	9,48bc	9,27bc	4,48c	5,94c	15,28a	11,31
TM	1,10	0,72	1,44	0,82	1,12	1,22	0,80	1,16	1,84	0,48	0,37	20,49
CL	29,92	27,58	27,16	29,64	24,17	26,12	28,72	30,02	22,98	24,36	27,74	9,90
AP	28,40b	26,50b	31,70a	27,50b	24,77b	27,20b	24,45b	26,00b	22,40b	28,41b	31,80a	6,65
PB	14,62	11,20	11,60	15,44	12,26	12,51	13,21	13,02	13,00	13,32	11,59	15,07

NFP= número de folhas por planta; NPP= número de perfilhos por planta; PFP= peso de folhas por planta (g/MS); PCP= peso de colmo por planta (g/MS); MSPA= massa seca da parte aérea (g/MS); MSR= massa seca de raiz (g/MS); BT= biomassa total (g/MS); TM= tecido morto CL= clorofila; AP= altura da planta (cm) PB= proteína bruta (%) 1=*Bacillus* sp.; 2=*azospirillum* sp.; 3= *Enterobacter* sp.; 4= *Bacillus* sp.;5= *Agrobacterium* sp.; 6= *Rhizobium* sp.; 7= *Herbaspirillum* sp.; 8= s14; 9= testemunha absoluta ( sem inoculação e sem adubação); 10= testemunha adubada com Nitrogênio; 11= testemunha irrigada. CV= coeficiente de variação. Médias seguidas por letras diferentes diferem entre si a 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey (P<0,05).

Para os resultados de trocas gasosas houve diferenças significativas entre os tratamentos em tempos distintos nas taxas de fotossíntese (Tabela 15). Aos dois de deficit hídrico, a planta inoculada com a estirpe S14 obteve a maior taxa fotossintética quando comparada as demais plantas que receberam inoculação. Com dois dias após o deficit, os tratamentos ESA13 (*Bacillus* sp.) BR11417 (*Herbaspirillum* sp) e S14 apresentaram valores superiores a testemunha absoluta e assemelharam-se a testemunha nitrogenada. Já aos quatro dias de restrição, a inoculação não influenciou os resultados, onde apenas a testemunha irrigada diferiu dos demais tratamentos

Tabela 15. Taxa de fotossíntese líquida ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-2}$ ) em folhas de Sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) moench) em função da inoculação com bactéria diazotrófica associativa submetido ao deficit hídrico seguido de reidratação.

Tratamento	Tempo				
	0	1	2	3	4
B13	29,55	3,87b	1,16b	10,78c	13,68b
Ab-V6	27,30	4,50b	0,24b	7,44c	19,91b
ESA11	20,13	2,25b	0,28b	8,11c	24,96a
ESA13	26,52	5,11b	3,39b	16,96b	24,39a
B11	25,11	12,12b	0,23b	4,19c	14,85b
ESA15	18,98	8,13b	0,20b	13,68c	17,23b
BR11417	26,51	8,00b	0,36b	17,36b	28,64a
S14	29,72	20,72a	6,49b	16,56b	20,99b
TA	25,09	7,09b	0,78b	7,35c	11,29b
TN	21,60	6,83b	3,09b	15,10b	20,08b
TI	30,26	25,64a	23,90a	26,73a	28,91a
CV (%)	22,48				

Tempo 0- antes do deficit hídrico, 1- dois dias de deficit hídrico, 2- quatro dias de deficit hídrico, 3- dois dias após o deficit hídrico, 4- quatro dias após o deficit hídrico. Tratamento B13=*Bacillus* sp.; Ab-V6= *Azospirillum* sp; ESA11= *Enterobacter* sp.; ESA13=*Bacillus* sp.; B11= *Agrobacterium* sp.; ESA15= *Rhizobium* sp.; BR11417= *Herbaspirillum* sp.; S14= s14; TA= testemunha absoluta (sem inoculação e sem adubação); TN= testemunha adubada com Nitrogênio; TI= testemunha irrigada. CV= coeficiente de variação. Médias seguidas por letras diferentes diferem entre si a 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Esses dados corroboram com Marcos et al. (2015) que também encontraram aumentos na taxa de fotossíntese da cana-de-açúcar inoculada com *Herbaspirillum* sp. e submetida ao deficit hídrico. Os autores sugerem que, a fotossíntese de plantas tratadas com bactérias podem ser estimulada pela melhor nutrição da planta ou ainda pela eliminação de limitações enzimáticas ou maior transporte de elétrons, além de

estimular o consumo de triose fosfato da célula, garantindo fluxo de saída para os drenos (KASCHUK et al., 2009).

Quatro dias após a reidratação, as plantas inoculadas com os tratamentos ESA11 (*Enterobacter* sp), ESA13 (*Bacillus* sp) e BR11417 (*Herbaspirillum* sp) obtiveram as maiores taxas de fotossíntese igualando-se a planta que foi irrigada durante todo o experimento. Algumas plantas são capazes de se recuperar com rapidez após a reidratação, e no caso do presente estudo as bactérias diazotróficas auxiliaram a planta a retomar de forma rápida as suas taxas, diferindo pois das que não foram inoculadas. Esse auxílio pode estar relacionado com a produção de substâncias osmotolerantes, por essas bactérias, como por exemplo, glicina-betaína que pode atuar sinergicamente com os outros compostos vegetais na redução do potencial hídrico das células, ajudando na tolerância à seca (DIMKPA et al. 2009), porém mais estudos ainda devem ser desenvolvidos para comprovação de tal fato.

Em relação a condutância estomática, houve diferenças significativas aos quatro dias de estresse hídrico, onde a planta que recebeu o inóculo S14 (Tabela 16) apresentou valores superiores aos demais tratamentos e igualou-se a testemunha irrigada. Isso mostra que este inóculo teve influência sobre o fechamento estomático, sendo que, este fechamento pode ser um indicativo de envio de sinais químicos da raiz para a parte aérea ou mesmo de substâncias osmorreguladoras que podem influenciar essa característica (DAVIES & ZHANG, 1991). Já aos quatro dias após o estresse hídrico, caracterizado pelo maior tempo de reidratação, os tratamentos ESA11 (*Enterobacter* sp), ESA13 (*Bacillus* sp) e BR11417 (*Herbaspirillum* sp) mantiveram os maiores níveis de condutância estomática. É válido ressaltar que, neste mesmo período estes tratamentos também apresentaram as maiores taxas de fotossíntese. Segundo Marcos et al. (2015) o aumento da condutância estomática pode ter sido estimulado por sinais hormonais enviados pelas bactérias, tendo como consequência a maior disponibilidade de CO<sub>2</sub> para as plantas tratadas.

Esse resultado referente a condutância estomática do presente estudo assemelham-se com o que foi constatado por Aguiar et al. (2015) que, ao trabalhar com cana-de-açúcar inoculado com bactérias diazotróficas submetido ao déficit hídrico seguido de reidratação observaram que, as plantas que receberam inoculação induziram uma maior preservação do potencial de água nas folhas, devido ao fechamento estomático resultando em maior preservação de água na planta.

Tabela 16. Condutância estomática ( $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) em folhas de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) em função da inoculação com bactérias diazotróficas associativas submetido ao deficit hídrico seguido de reidratação.

Tratamento	Tempo				
	0	1	2	3	4
B13	0,12	0,02	0,01b	0,05	0,05b
Ab-V6	0,11	0,02	0,00b	0,03	0,08b
ESA11	0,07	0,01	0,00b	0,03	0,12a
ESA13	0,10	0,02	0,01b	0,07	0,10a
B11	0,10	0,05	0,01b	0,02	0,07b
ESA15	0,08	0,04	0,00b	0,06	0,08b
BR11417	0,09	0,38	0,00b	0,07	0,12a
S14	0,11	0,10	0,03a	0,08	0,09b
TA	0,09	0,03	0,00b	0,03	0,05b
TN	0,08	0,03	0,01b	0,06	0,08b
TI	0,12	0,13	0,11a	0,11	0,14a
CV (%)	5,59				

Tempo 0- antes do deficit hídrico, 1- dois dias de deficit hídrico, 2- quatro dias de deficit hídrico, 3- dois dias após o deficit hídrico, 4-quatro dias após o deficit hídrico. Tratamento B13=*Bacillus* sp.; Ab-V6=*Azospirillum* sp; ESA11= *Enterobacter* sp.; ESA13=*Bacillus* sp.; B11= *Agrobacterium* sp.; ESA15= *Rhizobium* sp.; BR11417= *Herbaspirillum* sp.; S14= s14; TA= testemunha absoluta (sem inoculação e sem adubação); TN= testemunha adubada com Nitrogênio; TI= testemunha irrigada. CV= coeficiente de variação. Médias seguidas por letras diferentes diferem entre si a 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Em relação a taxa de transpiração, aos dois dias de deficit hídrico, o inóculo 8 proporcionou a maior taxa de transpiração em relação aos demais inóculos, e aos quatro dias após a reidratação, os tratamentos ESA11 (*Enterobacter* sp), ESA13 (*Bacillus* sp) e BR11417 (*Herbaspirillum* sp) apresentaram as maiores taxas assemelhando-se às plantas que não sofreram restrição hídrica (Tabela 17). Esses resultados foram semelhantes aos de condutância estomática, o que já era esperado, pois essas estirpes proporcionaram aumentos na taxa líquida de fotossíntese e como consequência a maior taxa de transpiração e condutância estomática.

Marcos et al. (2015), também encontraram maiores taxas de transpiração em plantas de cana-de-açúcar tratadas com inóculo de *Herbaspirillum* e submetidas ao estresse hídrico quando comparadas ao tratamento controle. Nesse estudo os autores afirmam que a interação planta-bactérias endofíticas influenciou positivamente as trocas gasosas e favoreceu a manutenção do crescimento das plantas, além de

garantir melhor eficiência do uso do nitrogênio sob condições hídricas restritivas.

Tabela 17. Taxa de transpiração ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) em folhas de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) em função da inoculação com bactérias diazotróficas associativas submetido ao deficit hídrico seguido de reidratação.

Tratamento	Tempo				
	0	1	2	3	4
B13	4,42	0,86b	0,33b	1,36	1,72b
Ab-V6	3,99	0,87b	0,31b	0,90	2,39b
ESA11	2,99	0,56b	0,19b	1,02	3,16a
ESA13	3,62	1,14b	0,48b	1,80	2,74b
B11	3,71	2,11b	0,33b	0,61	1,96b
ESA15	3,04	1,74b	0,18b	1,50	2,23b
BR11417	3,57	1,50b	0,17b	1,82	3,18a
S14	4,32	3,73a	0,80b	1,84	2,51b
TA	3,67	1,44b	0,21b	0,90	1,59b
TN	3,33	1,39b	0,52b	1,69	2,33b
TI	4,54	4,58a	3,32a	2,81	3,64a
CV (%)	15,74				

Tempo 0- antes do deficit hídrico, 1- dois dias de deficit hídrico, 2- quatro dias de deficit hídrico, 3- dois dias após o deficit hídrico, 4-quatro dias após o deficit hídrico. Tratamento B13=*Bacillus* sp.; Ab-V6=*Azospirillum* sp.; ESA11=*Enterobacter* sp.; ESA13=*Bacillus* sp.; B11=*Agrobacterium* sp.; ESA15=*Rhizobium* sp.; BR11417=*Herbaspirillum* sp.; S14= s14; TA= testemunha absoluta (sem inoculação e sem adubação); TN= testemunha adubada com Nitrogênio; TI= testemunha irrigada. CV= coeficiente de variação. Médias seguidas por letras diferentes diferem entre si a 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

## 5. Conclusões

Em condições de deficit hídrico sem a reidratação, a interação planta-bactéria diazotrófica não influenciou positivamente as características morfofisiológicas e produtivas de cultivares de capim-buffel (*Cenchrus ciliaris* L), sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) moench) capim mombaça (*Panicum maximum* cv. Mombaça) e braquiária decumbens (*Brachiaria decumbes* cv. Basilisk).

Das espécies forrageiras inoculados com bactérias diazotróficas submetidas ao deficit hídrico e reidratadas em seguida, o capim-buffel e o capim mombaça apresentaram ganhos na massa seca de raízes em todos os inóculos avaliados. Já para o sorgo, o inóculo ESA15 (*Rhizobium* sp) proporcionou aumentos da massa seca de raiz e biomassa total da planta, e os tratamentos ESA11 (*Enterobacter* sp), ESA13 (*Bacillus* sp), BR11417 (*Herbaspirillum* sp) e S14 influenciaram positivamente as taxas de fotossíntese, transpiração e condutância estomática dessa espécie.

O isolado contendo *Rhizobium* sp. destacou-se entre as três espécies estudadas favorecendo a manutenção do crescimento das plantas sob condições hídricas restritivas sendo recomendada para estudos futuros.

## 6. Referências bibliográficas

AGUIAR, N. O., MEDICI, L. O., OLIVARES, F. L., DOBBSS, L. B., TORRES-NETTO, A., SILVA, S. F., CANELLAS, L. P. Metabolic profile and antioxidant responses during drought stress recovery in sugarcane treated with humic acids and endophytic diazotrophic bacteria. **Annals of Applied Biology**. 2015.

ALMEIDA, RISELY FERRAZ. Palma forrageira na alimentação de ovinos e caprinos no semi-árido brasileiro. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 7, n. 4, p. 08-14, 2012.

ALVES, G.C. **Estudo da interação de bactéria *Herbaspirillum seropedicae* br11417 com plantas de milho**. 2011. 52 p. Tese (doutorado) - Federal Rural do Rio de Janeiro, RJ Seropédica- 2011.

ANDRADE, A.C.; FONSECA, D.M.; QUEIROZ, D.S. et al. Adubação nitrogenada e potássica em capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum. Cv. Napier). **Ciência e Agrotecnologia**, p.1643-1651, 2003.

ANTUNES, G. D. R., VOLTOLINI, T., ARAÚJO, G. G. L., ESCOBAR, I., CAVALCANTI, M., OLIVEIRA, K., SANTANA, S.R.A. FERNANDES JUNIOR, P. I. **Caracterização fenotípica de bactérias Diazotróficas Endofíticas isoladas de capim-buffel no Semiárido de Pernambuco**. in: simpósio de mudanças climáticas e desertificação no semiárido brasileiro. 4. 2015.

ARAÚJO, G. G. L.; ALBUQUERQUE, S. G.; GUIMARÃES FILHO, C. Opções no uso de forrageiras arbustivo-arbóreas na alimentação animal no semiárido do Nordeste. In: **Sistemas agroflorestais pecuários: opções de sustentabilidade para áreas tropicais e subtropicais**. Juiz de Fora, EMBRAPA/CNPGL, 2006. p.1-25.

ARAÚJO, S. A. C. et al. Características fotossintéticas de genótipos de capim-elefante anão (*Pennisetum purpureum* Schum.), em estresse hídrico. **Acta Scientiarum: Animal Sciences**, Maringá, v. 32, n. 1, p. 1-7, 2010 .

ASGHAR, H.N.; ZAHIR, Z.A.; ARSHAD, M.; KHALIQ, A. Relationship between in vitro production of auxins by rhizobacteria and their growth-promoting activities in Brassica juncea L. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v.35, n.4, p.231- 237, 2002.

BALDANI, J.I.; CARUSO, L.; BALDANI, V.L.D.; GOI, S.; DÖBEREINER, J. Recent advances in BNF with non-legume plants. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.29, n. 5/6, p.911-922, 1997.

BALDANI, V.L.D.; BALDANI, J.I. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: special emphasis on the Brazilian experience. **Anais da Academia Brasileira de Ciência**, v. 77, n.3, 2005.

BALDANI, V.L.D.; OLIVEIRA, E.; BOLOTA, E.; BALDANI, J.L.; KIRCHHOF, G.; DÖBEREINER, J. *Burkholderiabrasiliensissp. nov.*, uma nova espécie de bactériadiazotróficaendofítica. **Anais da Academia Brasileira de Ciência**.v. 69, p. 116. 1997.

BALSALOBRE, M.A.A E SANTOS, P.M. Fertilizante nitrogenado. 3. Alternativas para uma melhor eficiência da adubação. 2001. Disponível em [:http://www.milkpoint.com.br/radar-tecnico/pastagens/fertilizante-nitrogenado-3-alternativas-para-uma-melhor-eficiencia-da-adubacao-16098n.aspx](http://www.milkpoint.com.br/radar-tecnico/pastagens/fertilizante-nitrogenado-3-alternativas-para-uma-melhor-eficiencia-da-adubacao-16098n.aspx). Acesso em: 10 de Nov. 2001.

BAZZICALUPO, M.; OKON, Y. Associative and endophytic symbiosis. In: PEDROSA, F. et al. (eds). Nitrogen Fixation: from molecules to crop productivity. **Dordrecht, Kluwer Academic Publishers**, 2000. p. 409-413.

BERGAMASCHI, C.; ROESCH, L. F. W.; DE QUADROS, P. D.; CAMARGO, F. A. O. Ocorrência de bactérias diazotróficas associadas a cultivares de sorgo forrageiro. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.37, n.3, p.727-733, 2007.

BHATTACHARJEE RB, SINGH A, MUKHOPADHYAY SN. Use of nitrogenfixing bacteria as biofertiliser for non-legumes: prospects and challenges. **ApplMicrobiolBiotechnol** 80:199–209. 2008.

BODDEY, R.M., VICTORIA, R.L. Estimation of biological nitrogen fixation associated with *Brachiaria* and *Paspalum* grasses using <sup>15</sup>Nlabelled organic matter and fertilizer. **Plant and Soil** 90: 265-292. 1986.

BONFIM-SILVA, E. M., DA SILVA, T. J. A., CABRAL, C. E. A., KROTH, B. E., & REZENDE, D. Desenvolvimento inicial de gramíneas submetidas ao estresse hídrico. **Revista Caatinga**, n.24 v. 2, p.180-186. 2011.

BOSA, C.K. **Capim xaraés inoculado com bactérias diazotróficas associativas**. Dissertação. (Engenharia Agrícola). Universidade Federal de Mato Grosso. 117p. 2014.

BULLA, D.; BALBINOT JÚNIOR, A. A. Inoculação de sementes de milho com *Azospirillum brasilense* em diferentes doses de nitrogênio. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 25, n. 2, p. 61-63, 2012.



CAMILO, B. G., ABREU, T. C. C., & DA SILVA, S. Seleção de Bactérias Fixadoras de Nitrogênio e Produtoras de Fito-Hormônios associadas às Plantas de Milho Sob Condições de Campo. In: **congresso nacional de milho e sorgo, 30.; simpósio sobre lepdópteros comuns a milho, soja e algodão**. 2014.

CÂNDIDO, M. J. D., ARAÚJO, G. G. L. D., & CAVALCANTE, M. A. B. Pastagens no ecossistema semi-árido brasileiro: atualização e perspectivas futuras. **Simpósio sobre pastagens nos ecossistemas brasileiros: alternativas viáveis visando a sustentabilidade dos ecossistemas de produção de ruminantes nos diferentes ecossistemas**. 2005.

CANTARELLA, H. Uso de inibidor da urease para aumentar a eficiência da uréia. In: YAMADA, T. & ABDALLA, S.R.S., eds. Informações recentes para otimização da produção agrícola. **Inf. Agron.**, 117: 1-21, 2007.

CÁRDENAS, D. M., GARRIDO, M. F., BONILLA, R. R., & BALDANI, V. L. (2010). Aislamiento e identificación de cepas de Azospirillum sp. en pasto guinea (*Panicum maximum* Jacq.) del Valle del Cesar. **Pastos y Forrajes**, v.33,p.3, p.1-1.

CAVALCANTE, A. C. R. C., CAVALLINI, M. C., & DE BARROS LIMA, N. R. C. **Estresse por déficit hídrico em plantas forrageiras**. Embrapa Caprinos e Ovinos. 2009.

CAVALCANTI, A.C.R.; SOUZA, F.B.; CÂNDIDO, M.J.D.; Estratégias de manejo de pastagens cultivadas no Semi-Árido. **Sobral: Embrapa-Caprinos**, 2003 28p (Embrapa-Caprinos Documentos, 45).

CHAVES FILHO, J. T.; STACCIARINI-SERAPHIN, E. Alteração no potencial osmótico e teor de carboidratos solúveis em plantas de lobeira (*Solanum lycocarpum* St. Hil.) em resposta ao estresse hídrico. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 24, n. 2, p. 199-204, 2001.

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

CORREA, O.S.; ROMERO, A.M.; SORIA, M.A.; DE ESTRADA, M. Azospirillum brasilense-plant genotype interactions modify tomato response to bacterial diseases, and root and foliar microbial communities. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) Azospirillum sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. **Argentina: Asociación Argentina de Microbiología**, p.87-95, 2008.

COSTA, G.F; MARENCO, R. A. Fotossíntese, condutância estomática e potencial hídrico foliar em árvores jovens de andiroba (*Carapa guianensis*). **Acta Amazonica**, v. 37, n. 2, p. 229-234, 2007.

COUTINHO, M. J. F., CARNEIRO, M. S. D. S., EDVAN, R. L., & PINTO, A. P. A pecuária como atividade estabilizadora no Semiárido Brasileiro. **Veterinária e Zootecnia**, v.20,n.3, 434-441.2013.

COUTINHO, M. J. F., DE SOUZA CARNEIRO, M. D. S., EDVAN, R. L., SANTIAGO, F. E. M., & ALBUQUERQUE, D. R. (2015). Características morfogênicas, estruturais e produtivas de capim-buffel sob diferentes turnos de rega. **Pesquisa Agropecuária Tropical**v.45,n.2.2015.

DARTORA, J.; VANDEIR F.;GUIMARÃES, V.F. ; MARINI, D. ; SANDER, G. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillumseropedicaena* cultura do milho.**Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**v.17, n.10, p.1023–1029, 2013.

DAVIES, W. J.; ZHANG, J. Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil.**Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.42, p.55-76, 1991.

DEY, R. et al. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachishypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria.**Microbiological Research, Gujarat**, v. 159, n. 4, p. 371-394, 2004.

DIAS, A. C. F.; COSTA, F. E. C.; ANDREOTE, F. D.; LACAVA, P. T.; TEIXEIRA, M. A.; ASSUMPÇÃO, L. C.; ARAÚJO, W. L.; AZEVEDO, J. L.; MELO, I. S. Isolation of micropropagated strawberry endophytic bacteria and assessment of their potential for plant growth promotion. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Dordreth, v. 25, p. 189-195. 2009.

DIMKPA, C.; WEINAND,T.; ASCH, F. Plant–rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. **Plant, Cell and Environment**, v.32, p.1682–1694, 2009.

DOBBELAERE, S.; CROONENBORGH, A.; THYS, A.; PTACEK, D.; VANDERLEYDEN, J.; DUTTO, P.; LABANDERA-GONZALEZ, C.; CABALLERO-MELLADO, J.; AGUIRRE, J.F.; KAPULNIK, Y.; BRENER, S.; BURDMAN, S.; KADOURI, D.; SARIG, S. & OKON, Y. Response of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. **Aust. J. Plant Physiol.**, v.28, p.871-879, 2001.

DÖBEREINER, J. History and new perspective of diazotrophs in association with nonleguminous plants. **Symbiosis**, 13: 1-13. 1992.

DOBEREINER, J. Nitrogen-fixing bacteria of the genus *Beijerinckia* in the rhizosphere of sugarcane. **Plant and Soil**.15:211-216, 1961.

DÖBEREINER, J. Recent changes in concepts of plant bacteria interactions: endophytic N<sub>2</sub> fixing bacteria. *Ci. Cult.*, 44:310-313, 1992.

DÖBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas**. Brasília: Embrapa-SPI, 1995. 60 p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA EMBRAPA SOLOS. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. **3ª edição revista e ampliada**. Brasília-DF. 2013.

FERNANDES JÚNIOR, P.I.; REIS, V.M. **Algumas limitações a fixação biológica de nitrogênio em leguminosas**. Seropédica, EmbrapaAgrobiologia (Documentos, 252) . p. 33.136. 2008.

FERNANDES, F. B. P., LACERDA, C. F. D., ANDRADE, E. M. D., NEVES, A. L. R., SOUSA, C. H. C. D. Effect of soil management on water deficit, gas exchange and cowpea yield in the semi-arid region. **Revista Ciência Agronômica**, v.46, n.3 , p. 506-515. 2015.

FERNANDES-JÚNIOR, P. I., AIDAR, S. D. T., MORGANTE, C. V., GAVA, C. A. T., ZILLI, J. É., SOUZA, L. S. B. D., MARTINS, L. M. V. the resurrection plant *tripogonspicatus* (poaceae) harbors a diversity of plant growth promoting bacteria in northeastern Brazilian caatinga. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 39(4), p. 993-1002.2015.

FERREIRA, M. M. M. Sintomas de deficiência de macro e micronutrientes de plantas de milho híbrido BRS 1010. **Revista Agro@ambiente On-line**, 6(1), 74-83.2012.

FICAGNA, T. ; GAI,V. Adubação nitrogenada e inoculante de gramínea em tifton 85. **Cultivando o saber**.v.5, n.2, p.113-119, 2012.

GARGEZ NETO, A. F.; NASCIMENTO JUNIOR, D. REGAZZI, A. J.; FONSECA, D. M.; MOSQUIM, P. R.; GOBBIVI, K. F. Morphogenetic and structural responses of *Panicum maximum* cv. Mombaça on different levels of nitrogen fertilization and cutting regimes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 5, p. 1890-1900, 2002.

GONÇALVES, E. R., FERREIRA, V. M., SILVA, J. V., ENDRES, L., BARBOSA, T. P., & DUARTE, W. D. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila a em variedades de cana-de-açúcar submetidas à deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 14, n.4, p.378-386. 2010.

GRAY, E. J.; SMITH, D. L. Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. **Soil Biology and Biochemistry**.v.37, p.395-412, 2005.

HUNGRIA, M. et al Nitrogen nutrition of soybean in Brazil: contributions of biological N<sub>2</sub> fixation and of N fertilizer to grain yield. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 86, p. 927-939, 2006.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Londrina, Embrapa soja. (DOCUMENTO 325).36p. 2011.

GUIMARÃES, S.L.; BONFIM-SILVA, E.M.; POLIZEL, A.C. et al. Produção de capim marandu inoculado com *Azospirillum* spp. **Enciclopédia Biosfera - Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v.7, n.13, 2011.]

HUNGRIA, M.; CAMPO. R.J.; SOUZA, E.M.; PEDROSA, F.O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, v.331, n. 1-2, p.413-425, 2010.

IDRIS, A., N. LABUSCHAGNE AND L. KORSTES. Efficacy of rhizobacteria for growth promotion in sorghum under greenhouse conditions and selected modes of action studies. **J. Agricul. Sci.** v. 30, p.147: 17.2009.

KAPPES, C.; ARF, O.; ARF, M.V.; FERREIRA, J.P.; DAL BEM, E.A.; VILELA, R.G. Inoculação de sementes com bactéria diazotrófica e aplicação de nitrogênio em cobertura e foliar em milho. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 2, p. 527-538, 2013.

KAVAMURA, V. N. ; SANTOS, S. N. ; SILVA, J. L. ;PARMA, M. M.; ÁVILA, L. A., VISCONTI, A. ; MELO, I. S. Screening of Brazilian cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought. **Microbiological research**, v.168, n.4, p. 183-191.2013.

KUKLINSKY – SOBRAL, J. ARAÚJO, W. L.; MENDES, R.; GERALDI, I. O.; PIZZIRANI-KLEINER , A. A.; AZEVEDO, J. L. Isolation and characterization of soybean associated bacteria and their potential for plant growth promotion. **Environmental Microbiology**, Oxford, v. 6, n. 12, p. 1244-1251. 2004.

KUSS, A. V., KUSS, V. V., LOVATO, T., & FLÔRES, M. L. Fixação de nitrogênio e produção de ácido indolacético in vitro por bactérias diazotróficas endofíticas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42 n 10, p. 1459-1465. 2007.  
LEVITT, J. Response of plants to environmental stress. **II: Water radiation, salt and other stress**. New York: Academic Press, 1980. 606p.

MACHADO, R.F. **Seleção de bactérias promotoras de crescimento para plantas forrageiras**. Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Porto Alegre, BR-RS, 123 p. 2015.

MARCOS, F. C. C., IÓRIO, R. D. P. F., SILVEIRA, A. P. D. D., RIBEIRO, R. V., MACHADO, E. C., & LAGÔA, A. M. M. D. A. Endophytic bacteria affect sugarcane physiology without changing plant growth. **Bragantia**, (AHEAD), 0-0. 2015.

MAREQUE, C., TAULÉ, C., BERACOCHEA, M., & BATTISTONI, F. Isolation, characterization and plant growth promotion effects of putative bacterial endophytes associated with sweet sorghum (*Sorghum bicolor* (L) Moench). **Annals of Microbiology**, 65(2), 1057-1067. 2015.

MARIANO, R. D. L. R., DA SILVEIRA, E. B., DE ASSIS, S. M. P., GOMES, A. M. A., NASCIMENTO, A. R. P., & DONATO, V. M. T. S. Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v 1, p. 89-111. 2004.

MARTIN, P.; GLATZLE, A.; KOLB, W.; OMay, H. & SCHMIDT, W. N<sub>2</sub> fixing bacteria in the rhizosphere: quantification and hormonal effects on root development. **Z. Pflanzenern Bodenkd**, v. 152, p.237-245, 1989.

MARTINS, A. C. **Mecanismos de tolerância ao déficit hídrico em espécies de forrageiras nativas dos campos sul-brasileiros**. Pelotas, 2014. *Dissertação*. (Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal). Universidade Federal de Pelotas. 2014.

MASTRETTA, C. ;SAFIYH ,T. ; VAN DER,D. L. ; MENGONI, A. ; GALARDI, F. GONNELLI, TANJA BARAC, C. ; BOULET, J. ; WEYENS, N. ; VANGRONSVELD, J. Endophytic bacteria from seeds of *Nicotianatabacum* can reduce cadmium phytotoxicity. **International Journal of Phytoremediation**, Boca Raton, v. 11, n. 3, p. 251-267, 2009.

MATSUMURA, E. E., SECCO, V. A., MOREIRA, R. S., SANTOS, O. J. P., HUNGRIA, M. OLIVEIRA, A. L. M. Composition and activity of endophytic bacterial communities in field-grown maize plants inoculated with *Azospirillum brasilense*. **Annals of Microbiology**. 2015.

MAYAK, S.; TIROSH, T.; GLICK, B. Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.42, p. 565-572, 2004.

MENDONÇA, M. L. The Role of Agriculture in International Relations and the Construction of the Agribusiness Concept. **Contexto Internacional**, v.37,n.2, p. 375-402.2015.

MONÇÃO, F. P., OLIVEIRA, E. R. D., & GOES, R. H. D. T. O capim buffel. **Agrarian**, v. 4, n.13, p.258-264. 2011.

MONTANEZ A, BLANCO AR, BARLOCCO C, BERACOCHEA M, SICARDI M. Characterization of cultivable putative endophytic plant growth promoting bacteria associated with maize cultivars (*Zea mays* L.) and their inoculation effects *in vitro*. **Appl. SoilEcol**. V.58, P. 21-28. 2012.

MONTEIRO, R. A.; BALSANELLI, E.; WASSEM, R.; MARIN, A. M.; BRUSAMARELLO-SANTOS; L. C. C.; SCHIMIDT, M. A.; TADRA-SFEIR, M. Z.; PANKIEVICZ, V. C. S.; CRUZ, L.M.; CHUBATSU, L. S.; PEDROSA, F. O.; SOUZA, E. M. Herbaspirillum- plant interactions: microscopical, histological and molecular aspects. **PlantSoil** v. 356, p.175-196.2012.

MOREIRA, F. M. de S.; SILVA, K. da; NÓBREGA, R. S. A.; CARVALHO, F. de. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **ComunicataScientiae**, Bom Jesus, v.1, n.2, p.74-99, 2010.

MOREIRA, F. T., SANTOS, D. R., SILVA, G. H., & ALENCAR, L. S. Ocorrência de bactérias do gênero *azospirillum* spp. associadas a gramíneas forrageiras no semiárido nordestino/occurrence of bacteria of the genera *azospirillum*spp. associated grassy forage in the semi-arid of the northeast of brazil. *holos*, v. 29, n.3, 205. 2013.

NABINGER, C.; MEDEIROS, R. B. Produção de sementes de *Panicum maximum* Jacq. SIMPÓSIO SOBRE O MANEJO DE PASTAGENS, 12., Piracicaba. **Anais.Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz**, p.59-128. 1995.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; SILVA, E. C. Comportamento estomático em plantas jovens de *Schinopsis brasiliensis* Engl. cultivadas sob estresse hídrico. *Iheringia, Série Botânica*, v.57, n.1, p.31-38, 2002.

OLIVEIRA, A. L. M.; URQUIAGA, S.; DÖBEREINER, J.; BALDANI, J. I. The effect of inoculating endophytic N<sub>2</sub>-fixing bacteria on micropropagated sugarcane plants. **Plant and Soil**. v. 242, p. 205-215, 2002.

OLIVEIRA, A.L.M.; URQUIAGA, S.; BALDANI, J.I. Processos e mecanismos envolvidos na influência de micro-organismos sobre o crescimento vegetal. **Seropédia: Embrapa Agrobiologia**, 40 p. 2003.

OLIVEIRA, E.R. Alternativas de alimentação para a pecuária no semi-árido nordestino. In: simpósio nordestino de alimentação de ruminantes, 6, 1996, **Anais...** Natal: SNPA, p. 127-148, 1996.

OLIVEIRA, P. P. A.; OLIVEIRA, W. S.; BARIONI, W. J.; Produção de forragem e qualidade de *B. brizantha* cv. Marandu com *Azospirillum brasilense* e fertilizada com nitrogênio. **Embrapa pecuária sudeste**, São Carlos, SP, 2007.

OSORIO FILHO, B. D., BINZ, A., LIMA, R. F., GIONGO, A., & DE SÁ, E. L.S. Promoção de crescimento de arroz por rizóbios em diferentes níveis de adubação nitrogenada. **Ciência Rural**, v.46, n.3, p.478-485. 2016.

PEDRINHO, E, A,N. **Isolamento e caracterização de bactérias promotoras de crescimento em milho (zeamays I.)**. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2009.

PEREIRA, T. P.; GOMES, M. B.; CARNEIRO, R.D. Morfogênese do capim-marandu submetido à inoculação de azospirillum e adubação nitrogenada. **Revista Eletrônica Interdisciplinar**, v. 2, n. 14, 2015.

PERIN, L.; ARAÚJO, J.L.S.; REIS, V.M. **O Gênero Burkholderia: Um Importante Componente da Comunidade Microbiana. Seropédica**. Embrapa Agrobiologia. P 16-32. 2006.

PORTO, E. M. V., VITOR, C. M. T., ALVES, D. D., LIMA, M. V. G., & SILVA, M. F. D. Características morfogênicas de cultivares do capim buffel submetidos à adubação nitrogenada. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 10 n.1, p.14-21. 2014.

POTTERS, G., PASTERNAK, T.P., GUISEZ, Y., PALME, K.J., JANSEN, M.A.K. Stress-induced morphogenic responses: growing out of trouble? **Trends in Plant Science**, v. 12, p. 98–105. 2007.

QUADROS, P. D. D., ROESCH, L. F. W., SILVA, P. R. F. D., VIEIRA, V. M., ROEHRS, D. D., & CAMARGO, F. A. D. O. Field agronomic performance of maize hybrids inoculated with Azospirillum. **Revista Ceres**, v.61 n.2,p.209-218. 2014.

REIS JUNIOR, F. B., & DE TOLEDO, C. T. Inoculação de Azospirillum amazonense em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 32(3), 1139-1146.2008.

REIS JUNIOR, F.B.; REIS, V.M.; TEXEIRA, K.R.S. Restrição do 16S-23S DNA intergênico para avaliação da diversidade de Azospirillum amazonense isolado de Brachiaria spp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n.3, p. 431-438, 2006.

REIS JÚNIOR, F.B.; TEIXEIRA, K.R.S.; REIS, V.M. **Fixação Biológica de Nitrogênio Associada a Pastagens de Braquiária e outras Gramíneas Forrageiras**. (Documentos 52) , Embrapa Cerrados. 2002 25p.

REIS, V. M. Uso de Bactérias fixadoras de nitrogênio como inoculante para aplicação em gramíneas. **Embrapa Agrobiologia**. Rio de Janeiro – RJ, 2007.

REIS, V.M.; OLIVEIRA, A.L.M.; BALDANI, V.L.D.; OLIVARES, F.L.; BALDANI, J.I. Fixação biológica de nitrogênio simbiótica e associativa. In: FERNANDES, M.S., ed. Nutrição mineral de plantas. Viçosa, **Sociedade Brasileira de Ciências do Solo**. p.153-172. 2006.



REPKE, R. A., CRUZ, S. J. S., SILVA, C. J. D., FIGUEIREDO, P. G., & BICUDO, S. J. eficiência da *Azospirillum brasilense* combinada com doses de nitrogênio no desenvolvimento de plantas de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 12, n.3, p. 214-226. 2004.

RODRIGUES NETO, J.; MALAVOLTA JÚNIOR, V.A.; VICTOR, O. Meio simples para isolamento e cultivo de *Xanthomonas campestris* pv. *citri* tipo B. **Summa Phytopatologica**, Jaboticabal, v.12, p.16, 1986.

RODRÍGUEZ, H.; FRAGA, R. Phosphatesolubilizingbacteriaandtheir role in plantgrowthpromotion. **Biotechnology Advances**, v.17, p.319- 339, 1999.

ROESCH L. F. W., OLIVARES F. L., PASSAGLIA L. M. P., SELBACH, P. A. Characterization of diazotrophic bacteria associated with maize: effect of plant genotype, ontogeny and nitrogensupply. **World J MicrobiolBiotechnol.** v.22, p.967–974. 2006.

SANTOS, C. L. R. **Efeito da inoculação de bactérias dizotróficas em sorgo granífero, forrageiro e sacarino.** 2010. 66 p. Dissertação. (Mestrado em Ciência do Solo). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

SANTOS, C.S.A. **Capim marandu submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas em latossolo vermelho de cerrado.**Dissertação. (Mestrado em Engenharia Agrícola). Universidade federal de mato grosso. 67p. 2013.

SANTOS, D.; SIQUEIRA, D. L.; SALOMÃO, L. C. C.; CECON, P. R.; OLIVEIRA, G. P.; MACHADO, D. L. M. ;ZUCOLOTO, M. Teores de carboidratos e fluorescência da clorofila *a* em folhas de limeiras ácidas ‘Tahiti’ submetidas ao anelamento e incisão anelar de ramos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.44, n.10, p.1725-1731, 2014.

SANTOS, J. D. S.; VIANA, T. D. O. ; JESUS, C. M. D. ; BALDANI, V. L. D. ; FERREIRA, J. S. Inoculation and isolation of plant growth-promoting bacteria in maize grown in Vitória da Conquista, Bahia, Brazil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 39, n.1, p.78-85. 2015.

SANTOS, J. F., DO SACRAMENTO, B. L., MOTA, K. N. A. B., DE SOUZA, J. T., & DE AZEVEDO NETO, A. D. Crescimento de girassol em função da inoculação de sementes com bactérias endofíticas. *Pesquisa Agropecuária Tropical.* ( 2(1), 2014.

SANTOS, M. C. M.; SANTOS, D. R.; BAKKE, O. A.; BAKKE, I. A. Ocorrência e atividade de bactérias diazotróficas em forrageiras cultivadas na região semiárida no Brasil. **Revista Caatinga, Mossoró**, v. 26, n. 1, p. 27-34, 2013.

SAS. **SAS Software**. Version 9.1. Cary, North Carolina: SAS Institute Inc., 1999.  
SERRAJ, R.; SINCLAIR, T. R. Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 25, n. 2, p. 333-341, 2002.

SILVA, C. D., BONOMO, P., PIRES, A. J. V., MARANHÃO, C. M. D. A., PATÊS, N. M. D. S., & SANTOS, L. C. Características morfogênicas e estruturais de duas espécies de braquiária adubadas com diferentes doses de nitrogênio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.4, p.657-661. 2009.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análises de alimentos (métodos químicos e biológicos)**. 3.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2002. 235p.

SILVA, M. M. P. et al. Eficiência fotoquímica de gramíneas forrageiras tropicais submetidas à deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 1, p. 67- 74, 2006.

SILVA, M.L.R.B; FIGUEROA, C.S; Mergulhão, A.C.E.S; LYRA, M.C.C.P. Diversidade e potencial de solubilização de fosfato in vitro por bactérias endofíticas associadas à cultura da palma forrageira (Opuntia e Nopalea) em Pernambuco. **Pesquisa agropecuária pernambucana**. v. 19, n. 2, p. 85-88. 2014.

SILVA, P.M,P. ; CHIARI,L.; JANK,L. ; ARAÚJO, A.R. ; EUCLIDES, V.P.B. Avaliação de Cultivares de Panicum maximum Jacq. Submetidas ao Déficit Hídrico. **I Workshop sobre Tolerância a Estresses Abióticos**. (Documentos 199). 2013.

SILVEIRA, E. L. **Inoculações de bactérias promotoras de crescimento no cultivo de arroz em solução nutritiva**. Jaboticabal, 2008. 83f. Tese (Doutorado em Microbiologia Agropecuária) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.

SILVEIRA, P.M. da; BRAZ, A.J.B.P.; DIDONET, A.D. Uso do clorofilômetro como indicador da necessidade de adubação nitrogenada em cobertura no feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, p.1083-1087, 2003.

SMIT, M. A.; SINGELS, A. The response of sugarcane canopy development to water stress. **Field Crops Research**, v.98, p.91-97, 2006.

SOUZA, P. T. D. **Inoculação com Azospirillum brasilense e adubação**  
TAIZ, L.; ZEIGER, E. Nutrição Mineral. In: TAIZ, L.; ZEIGER, E. (Ed.). **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.95-113.

VAN PEER, R., NIEMANN, G.J. & SCHIPPERS, B. Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of Fusarium wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. strain WCS417r. *Phytopathology* 81:728-34. 1991.

VESSEY, J.K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant Soil** v. 255, p. 571–586.2003.

ZAMBRANO, E. R.; JIMENEZ SALGADO, T.; TAPIA HERNANDEZ, A. Estudo de bacterias associadas aorquideas (Orchidaceae). **Lankesteriana**,n. 71-2, p. 322-325, 2007.

ZHANG, H., XIE, X., KIM, M. S., KORNYEYEV, D. A., HOLADAY, S., PARE, P. W. Soil bacteria augment Arabidopsis photosynthesis by decreasing glucose sensing and abscisic acid levels in planta. **The Plant Journal**, 56, 264–273, 2008.