

**EFICIÊNCIA DE *Gluconacetobacter diazotrophicus* NO AUMENTO DA  
TOLERÂNCIA DE ARROZ VERMELHO À DEFICIÊNCIA HÍDRICA NA  
FASE INICIAL DE DESENVOLVIMENTO**

**RENATA PRISCILA ALMEIDA SILVA**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA**

**CAMPINA GRANDE – PB**

**MARÇO DE 2016**

**EFICIÊNCIA DE *Gluconacetobacter diazotrophicus* NO AUMENTO DA  
TOLERÂNCIA DE ARROZ VERMELHO À DEFICIÊNCIA HÍDRICA NA  
FASE INICIAL DE DESENVOLVIMENTO**

**RENATA PRISCILA ALMEIDA SILVA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Estadual da Paraíba/Embrapa Algodão, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias / Área de concentração: Biotecnologia e Melhoramento Vegetal.

**Orientador: Prof. D.Sc. Carlos Henrique Salvino Gadelha Meneses  
Coorientador: Prof. D.Sc. Alberto Soares de Melo**

**CAMPINA GRANDE – PB**

**MARÇO DE 2016**

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

S586e Silva, Renata Priscila Almeida

Eficiência de gluconacetobacter diazotrophicus no aumento da tolerância de arroz vermelho à deficiência hídrica na fase inicial de desenvolvimento [manuscrito] / Renata Priscila Almeida Silva. - 2016.

114 p. : il. color.

Digitado.

Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias) - Universidade Estadual da Paraíba, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa, 2016.

"Orientação: Prof. DrºCarlos Henrique Salvino Gadêlha Meneses, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa".

1. Oryza sativa L. 2. déficit hídrico. 3. bactéria endofítica. 4. inoculação das plantas. I. Título.

21. ed. CDD 631.4

**EFICIÊNCIA DE *Gluconacetobacter diazotrophicus* NO AUMENTO DA  
TOLERÂNCIA DE ARROZ VERMELHO À DEFICIÊNCIA HÍDRICA NA  
FASE INICIAL DE DESENVOLVIMENTO**

**RENATA PRISCILA ALMEIDA SILVA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Estadual da Paraíba/Embrapa Algodão, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias / Área de concentração: Biotecnologia e Melhoramento Vegetal.

**Aprovada em 21 de março de 2016**

**Banca examinadora**



---

**Profa. Vera Lucia Antunes de Lima (D.Sc. Engenharia Agrícola) – UFCG  
Examinador Externo**



---

**Prof. Diogo Gonçalves Neder (D.Sc. Genética e Melhoramento de Plantas) – UEPB  
Examinador Interno**



---

**Prof. Alberto Soares de Melo (D.Sc. Recursos Naturais) – UEPB  
Coorientador**



---

**Prof. Carlos Henrique Salvino Gadêlha Meneses (D.Sc. Biotecnologia Vegetal) - UEPB  
Orientador**

*À minha mãe, por todo amor,  
incentivo e dedicação.  
Dedico.*

## AGRADECIMENTOS

À Deus, por tudo o que faz em minha vida, pela força e discernimento. Nas horas em que mais preciso, sei que posso contar com aquele sopro de coragem, que me motiva à continuar, sabendo que nele confiando tudo ocorrerá bem.

À minha mãe, não tenho palavras para agradecer por tudo que sempre fez e faz por mim, por seu imenso amor e cuidado. Uma vez, escutei uma frase, que dizia que mãe é presente de Deus, sei que de fato é, e o meu presente veio mais que caprichado. Minha mãe, que sempre foi pai e mãe, obrigada por tudo.

À toda minha família, pelo carinho e apoio, principalmente aos meu avós (Dona Auriolanda e Seu Dudu) que tenho um carinho e admiração imenso, o meu muito obrigada por tudo.

À minha prima Amanda e meu primo Ricardo, que compartilham dos mesmos ideais Biológicos.

Não posso deixar de agradecer de alguma maneira ao meu pai (*in memoriam*) de algum modo, sinto a necessidade de compartilhar minhas conquistas com ele.

Ao meu querido orientador, Prof. Dr. Carlos Meneses, por toda orientação, dedicação, paciência, generosidade, por tudo o que fez por mim durante esses dois anos. Não tenho palavras para agradecer. Foi como um pai pra mim esteve sempre disposto a ajudar, e eu só posso admirá-lo por isso.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Alberto Soares de Melo, por toda a experiência compartilhada desde a graduação.

À minha querida turma do MCA 2014, todos ficarão como amigos queridos com certeza, em especial as “princesinhas das agrárias”, que sempre nos momentos difíceis e alegres estávamos compartilhando nossas experiências, sem egoísmos, sem competições, um sentimento puro de amizade, um querer bem ao próximo.

Às minhas queridas, Bruna e Luanna, por tudo o que fizeram por mim, não teria conseguido sem vocês, meninas. E à Antônio Manoel, também que me ajudou muito durante a realização do experimento, e me deu muita força sempre que precisei.

À minha querida amiga Daniela Duarte por toda força e apoio nessa reta final, assim como no curso inteiro.

À todos os professores do MCA, que contribuíram para a construção do meu aprendizado, pela generosidade de compartilhar o conhecimento conosco.

Os meus agradecimentos em especial ao Prof. Pedro Dantas Fernandes, que sempre me ajudou me dando conselhos no experimento, além de emprestar os equipamentos para as análises. E ao Prof. Germano Veras, pela concessão do laboratório para a realização de algumas análises. Bem como, ao laboratório de Ecofisiologia de Plantas Cultivadas - ECOLAB, onde pude fazer as análises necessárias.

Enfim, o meu muito obrigada as instituições parceiras, a EMBRAPA Algodão, à UEPB, ao Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias pela oportunidade de aprofundar os meus conhecimentos, à CAPES pela concessão da bolsa, ao CNPQ pelo financiamento a pesquisa, à EMBRAPA Agrobiologia pela disponibilização da estirpe da bactéria utilizada neste estudo.

*“ Eu não sei se você se recorda do seu primeiro caderno, eu me recordo do meu. Com ele eu aprendi muita coisa, foi nele que eu descobri que a experiência dos erros*

*Éla é tão importante quanto às experiências dos acertos*

*Porque vistos de um jeito certo, os erros,*

*Eles nos preparam para nossas vitórias e conquistas futuras*

*Porque não há aprendizado na vida que não passe pelas experiências dos erros*

*O caderno é uma metáfora da vida,*

*Quando os erros cometidos eram demais, eu me recordo,*

*Que a nossa professora nos sugeria que a gente virasse a página.*

*Era um jeito interessante de descobrir a graça que há nos recomeços.*

*Ao virar a página, os erros cometidos deixavam de nos incomodar e a partir deles,*

*A gente seguia um pouco mais crescido.*

*O caderno nos ensina que erros não precisam ser fontes de castigos.*

*Erros podem ser fontes de virtudes!*

*Na vida é a mesma coisa, o erro tem que estar à serviço do aprendizado;*

*Ele não tem que ser fonte de culpas e vergonhas.*

*Nenhum ser humano pode ser verdadeiramente grande*

*sem que seja capaz de reconhecer os erros que cometeu na vida.*

*Uma coisa é a gente se arrepender do que fez! Outra coisa é a gente se sentir culpado.*

*Culpas nos paralisam. Arrependimentos não!*

*Eles nos lançam pra frente, nos ajudam a corrigir os erros cometidos.*

*Deus é semelhante ao caderno.*

*Ele nos permite os erros pra que a gente aprenda a fazer do jeito certo.*

*Você tem errado muito?*

*Não importa, aceite de Deus essa nova página de vida que tem nome de hoje!*

*Recorde-se das lições do seu primeiro caderno.*

*Quando os erros são demais, vire a página!”*



## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	1
2. OBJETIVOS.....	3
2.1. Objetivo Geral .....	3
2.2. Objetivos Específicos.....	3
3. REVISÃO DE LITERATURA .....	4
3.1 ARROZ VERMELHO: Aspectos gerais da cultura.....	4
3.1.1 Origem e importância econômica .....	4
3.1.2 Classificação Taxonômica/ Botânica e características morfofisiológicas.....	6
3.2 Deficiência hídrica nas plantas.....	10
3.2.1 Deficiência hídrica em planta de arroz.....	11
3.3 Bactérias promotoras de crescimento vegetal .....	13
3.4 <i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i> .....	14
3.5 Tolerância sistêmica induzida (TSI) por bactérias promotoras de crescimento vegetal .....	16
4. MATERIAL E MÉTODOS .....	20
4.1 Caracterização da área experimental.....	20
4.2 Características climáticas .....	20
4.3 Características edáficas .....	20
4.4. Fatores em estudo e tratamentos .....	21
4.5 Processo de Inoculação .....	22
4.6 Semeadura .....	24
4.7 Tratos culturais.....	24
4.8 Adubação.....	24
4.9 Período de coleta do material vegetal .....	24
4.9.1 Estimativa do número mais provável (NMP) de células bacterianas viáveis nas raízes e a nas folhas.....	25
4.10 Colheita .....	25
4.11 Variáveis em estudo .....	25

4.11.1 Variáveis de Crescimento.....	25
4.12 Componentes produtivos.....	26
4.13 Análises estatísticas.....	27
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	28
5.1 Controle de qualidade do inoculante utilizado.....	28
5.2 Estimativa do número mais provável (NMP) de células bacterianas viáveis nas raízes e nas folhas.....	29
5.3 Análises de crescimento .....	30
5.3.2 Área foliar .....	30
5.3.3 Massa seca das raízes e da parte aérea .....	34
5.4 Análises ecofisiológicas .....	39
5.4.1 Trocas gasosas.....	39
5.4.2 Fluorescência da clorofila <i>a</i> .....	64
5.5 Componentes produtivos.....	69
6. CONCLUSÕES.....	76
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	77

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabla 1-</b> Escala fenológica da cultura do arroz. Autor: José Luis da Silva Nunes (2010).....	9
<b>Tabla 2.</b> Valores da análise química do solo da área experimental do Viveiro de mudas da UEPB. Campina Grande/PB, 2015. ....	21
<b>Tabla 3.</b> Composição do meio DYGS .....	23
<b>Tabla 4.</b> Contagem de células viáveis de <i>G. diazotrophicus</i> encontradas por grama do inoculante e sementes de arroz, determinado em meio LGI-P. Campina Grande/PB, 2016. ....	28
<b>Tabla 5.</b> Estimativa do número mais provável (Log do nº células g <sup>-1</sup> ) de <i>G. diazotrophicus</i> PAL5 presente nas raízes e folhas de plantas de arroz vermelho.....	29

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Morfologia da planta de arroz vermelho. Campina Grande/PB, 2016. .... 8
- Figura 2.** Curva de retenção de água no solo, EMBRAPA Agrobiologia, Seropédica – RJ..... 22
- Figura 3.** Valores médios da área foliar de plantas de arroz vermelho que se desenvolveram sob duas condições de inoculação, não inoculado e inoculado. As médias seguidas de letras iguais, acima das barras, não diferem pelo teste Tukey, a 5 % de probabilidade, entre as condições de inoculação dentro de cada nível de porcentagem de água no solo ..... 31
- Figura 4.** Valores médios da área foliar de plantas de arroz vermelho, inoculadas e não inoculadas, em função de diferentes níveis de porcentagem de água no solo. .... 32
- Figura 5.** Valores médios da massa seca da parte aérea e massa seca de raiz de plantas de arroz vermelho, inoculadas e não inoculadas, sob diferentes condições de restrição hídrica. Médias seguidas de letras iguais, não diferem pelo teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ), entre as condições de inoculação dentro de cada nível de restrição hídrica..... 35
- Figura 6.** Massa seca da parte aérea (MSPA) (folhas + colmos) de planta de arroz vermelho, inoculadas e não inoculadas, em função de diferentes níveis de porcentagem de água no solo... 36
- Figura 7.** Massa seca de raízes (MSR) de plantas de arroz vermelho, inoculadas e não inoculadas, em função de diferentes níveis de porcentagem de água no solo. .... 37
- Figura 8.** Efeito dos diferentes tratamentos, não inoculado, inoculado, não inoculado hidratado, inoculado hidratado, na condutância estomática (gs) ( $\mu\text{mol de H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) de plantas de arroz vermelho, dentro de cada nível de restrição hídrica. As barras indicam o desvio padrão da média. Médias seguidas de letras iguais, não diferem pelo teste de Tukey à 5 % de probabilidade. .... 41
- Figura 9.** Condutância estomática (gs) de plantas de arroz vermelho, não inoculadas, inoculadas, não inoculadas hidratadas e inoculadas hidratadas, em função de diferentes níveis de porcentagem de água no solo. NS = não significativo. .... 42
- Figura 10.** Efeito dos diferentes tratamentos, não inoculado, inoculado, não inoculado hidratado, inoculado hidratado, na transpiração (E) ( $\mu\text{mol de H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) de plantas de arroz vermelho, dentro de cada nível de restrição hídrica. As barras indicam o desvio padrão da média. Médias seguidas de letras iguais, não diferem pelo teste de Tukey à 5 % de probabilidade..... 45

- Figura 11.** Transpiração (E) ( $\mu\text{mol de H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) de plantas de arroz vermelho, não inoculadas, inoculadas, não inoculadas hidratadas e inoculadas hidratadas, em função de diferentes níveis de porcentagem de água no solo. NS = não significativo. ....47
- Figura 12.** Efeito de diferentes tratamentos, na concentração de carbono interno (Ci) ( $\mu\text{mol de CO}_2 \cdot \text{mol}^{-1}$ ) em plantas de arroz vermelho, dentro de cada nível de restrição hídrica. As barras indicam o desvio padrão da média. Médias seguidas de letras iguais, não diferem pelo teste de Tukey à 5 % de probabilidade. ....49
- Figura 13.** Concentração de carbono interno (Ci) ( $\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-1}$ ) de plantas de arroz vermelho, não inoculadas, inoculadas, não inoculadas hidratadas e inoculadas hidratadas, em função de diferentes níveis de porcentagem de água no solo. NS = não significativo. ....50
- Figura 14.** Efeito de diferentes tratamentos, na fotossíntese líquida (A) em plantas de arroz vermelho, dentro de cada nível de restrição hídrica. As barras indicam o desvio padrão da média. Médias seguidas de letras iguais, não diferem pelo teste de Tukey à 5 % de probabilidade. ....52
- Figura 15.** Fotossíntese líquida (A) de plantas de arroz vermelho, não inoculadas, inoculadas, não inoculadas hidratadas e inoculadas hidratadas, em função de diferentes níveis de porcentagem de água no solo. NS = não significativo. ....53
- Figura 16.** Eficiência Instantânea do Uso da Água (EUA) (A/E) de plantas de arroz vermelho sob diferentes tratamentos, dentro de cada nível de restrição hídrica. As barras indicam o desvio padrão da média. Médias seguidas de letras iguais, não diferem pelo teste de Tukey à 5 % de probabilidade. ....56
- Figura 17.** Eficiência Instantânea do Uso da Água (EUA) (A/E) de plantas de arroz vermelho, não inoculadas, inoculadas, não inoculadas hidratadas e inoculadas hidratadas, em função de diferentes níveis de porcentagem de água no solo. NS = não significativo. ....57
- Figura 18.** Eficiência Intrínseca do Uso da Água (EiUA) (A/g<sub>s</sub>) de plantas de arroz vermelho sob diferentes tratamentos, dentro de cada nível de restrição hídrica. As barras indicam o desvio padrão da média. Médias seguidas de letras iguais, não diferem pelo teste de Tukey à 5 % de probabilidade. ....59
- Figura 19.** Eficiência intrínseca do Uso da Água (EiUA) (A/g<sub>s</sub>) de plantas de arroz vermelho sob diferentes tratamentos em função de diferentes níveis de porcentagem de água no solo. NS = não significativo. ....60
- Figura 20.** Eficiência Instantânea de carboxilação (EiC) (A/Ci) de plantas de arroz vermelho sob diferentes tratamentos, dentro de cada nível de restrição hídrica. As barras indicam o desvio padrão da média. Médias seguidas de letras iguais, não diferem pelo teste de Tukey à 5 % de probabilidade. ....62

- Figura 21.** Eficiência instantânea de Carboxilação (EiC) de plantas de arroz vermelho sob diferentes tratamentos em função de diferentes níveis de porcentagem de água no solo. NS = não significativo. .... 63
- Figura 22.** Relação Fv/Fm ou rendimento quântico máximo do FSII de plantas de arroz vermelho sob diferentes tratamentos, dentro de cada nível de restrição hídrica. As barras indicam o desvio padrão da média. Médias seguidas de letras iguais, não diferem pelo teste de Tukey à 5 % de probabilidade. .... 65
- Figura 23.** Relação Fv/Fm ou rendimento quântico do FSII de plantas de arroz vermelho sob diferentes tratamentos em função de diferentes níveis de porcentagem de água no solo. NS = não significativo. .... 66
- Figura 24.** Massa seca de 1000 grãos (g) de plantas de arroz vermelho inoculadas e não inoculadas, dentro de cada nível de restrição hídrica. As barras indicam o desvio padrão da média. Médias seguidas de letras iguais, não diferem pelo teste t à 5 % de probabilidade. .... 70
- Figura 25.** Massa seca de 1000 grãos (g) de plantas de arroz vermelho inoculada e não inoculada em função de diferentes níveis de porcentagem de água no solo. .... 71
- Figura 26.** Massa da produtividade total (g) de plantas de arroz vermelho inoculadas e não inoculadas, dentro de cada nível de restrição hídrica. As barras indicam o desvio padrão da média. Médias seguidas de letras iguais, não diferem pelo teste t à 5 % de probabilidade. .... 72
- Figura 27.** Massa da produtividade total (g) de plantas de arroz vermelho inoculadas e não inoculadas em função de diferentes níveis de porcentagem de água no solo. .... 73

**LISTA DE ABREVIATURAS**

- (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – Sulfato de amônio  
A - Fotossíntese líquida  
ABA – Ácido abscísico  
AF – Área foliar  
AIA – Ácido indol acético  
ATP – Adenosina trifosfato  
BPCV – Bactéria promotora de crescimento vegetal  
CC – Capacidade de campo  
Ci – Concentração de carbono interno  
CO<sub>2</sub> – Gás carbônico  
DAS – Dias após a semeadura  
E – Transpiração  
ECOLAB – Laboratório de Ecofisiologia de plantas cultivadas  
*EIC* – Eficiência instantânea de carboxilação  
*EiUA* – Eficiência intrínseca do uso da água  
EROs – Espécies reativas de oxigênio  
*EUA* – Eficiência instantânea do uso da água  
*FO* – Fluorescência mínima ou inicial  
FBN – Fixação biológica de nitrogênio  
*Fm* – Fluorescência máxima  
FTII – Fotossistema II  
*Fv* – Fluorescência variável  
*Fv/Fm* – Eficiência quântica potencial do fotossistema II em tecidos adaptados ao escuro  
*gs* – Condutância estomática  
LGI-P – Meio de cultura semi-específico para *G. diazotrophicus*  
MSPA – Massa seca da parte aérea  
MSR – Massa seca das raízes  
N<sub>2</sub> – di-nitrogênio  
NADPH – nicotinamida adenina dinucleotídeos  
NMP – Número mais provável  
PAL 5 – Estirpe selvagem de *G. diazotrophicus*  
RSI – Resistência sistêmica induzida  
TSI – Tolerância sistêmica induzida  
UEPB – Universidade Estadual da Paraíba  
UFCG – Universidade Federal de Campina Grande

## RESUMO

SILVA, RENATA PRISCILA ALMEIDA. M.Sc., Universidade Estadual da Paraíba/Embrapa Algodão, março DE 2016. **EFICIÊNCIA DE *Gluconacetobacter diazotrophicus* no aumento da tolerância de arroz vermelho à deficiência hídrica na fase inicial de desenvolvimento.** Orientador: Prof. Dr. Carlos Henrique Salvino Gadêlha Meneses. Coorientador: Prof. Dr. Alberto Soares de Melo.

A seca é uma das principais limitações para a produção de alimentos no mundo inteiro, assim como, no cultivo do arroz vermelho, que no Brasil, atualmente está restrito à pequenas áreas do semiárido nordestino. O déficit hídrico afeta praticamente todos os aspectos do crescimento e desenvolvimento das plantas, com consequente redução da produtividade. Neste sentido, se faz necessário o uso de cultivares resistentes ao déficit hídrico, bem como, a interação planta-microrganismos, benéficas para o crescimento das plantas e por promover aumento da tolerância à estresses bióticos e abióticos. De acordo com o exposto, este estudo teve como objetivo, avaliar os aspectos agrônômicos e ecofisiológicos em plantas de arroz vermelho inoculadas com *Gluconacetobacter diazotrophicus* sob deficiência hídrica na fase vegetativa de desenvolvimento. O experimento foi conduzido em condições controladas, com um delineamento experimental inteiramente casualizado, em um fatorial 2x4, sendo duas condições de inoculação (I1= sementes não inoculadas e I2= sementes inoculadas), quatro níveis de restrição hídrica (100, 70, 50 e 30% da capacidade de campo), um genótipo de arroz vermelho (405 Embrapa Meio Norte), totalizando oito tratamentos com quatro repetições cada. Cada parcela constou de um lisímetro de drenagem, no qual foram semeadas 70 sementes, que após desbastes ficou um total de 60 plantas por parcela. O estresse hídrico foi imposto na fase vegetativa do desenvolvimento entre os estádios V3 e V5, em um período de 15 dias. As avaliações foram realizadas ao 15º dia do estresse, foram avaliadas variáveis de crescimento (área foliar, fitomassa), ecofisiológicos (trocas gasosas e fluorescência da clorofila a), e produtivas (massa seca de 1000 grãos e massa da produção total). Foi possível constatar que houve interação entre as plantas e *G. diazotrophicus* com respostas positivas, onde possivelmente a bactéria endofítica utilizou de seus mecanismos de promoção do crescimento bem como de indução à tolerância ao déficit hídrico, como pode ser observado por meio de incrementos da fitomassa e parte aérea, bem como maiores taxas de fotossíntese e eficiência



fotoquímica e incrementos na produtividade total de plantas inoculadas com a bactéria. Os resultados indicam que a inoculação foi benéfica para as plantas, e que a inoculação das plantas com *G. diazotrophicus* suprimiu vários efeitos deletérios do estresse hídrico.

**Palavras-chave:** *Oryza sativa* L.; déficit hídrico; Bactéria endofítica.

## ABSTRACT

SILVA, RENATA PRISCILA ALMEIDA. M.Sc., Universidade Estadual da Paraíba/Embrapa Algodão, march DE 2016. **Efficiency *Gluconacetobacter diazotrophicus* in increased red rice tolerance to water stress in the early stage of development.** Advisor: Prof. Dr. Carlos Henrique Salvino Gadelha Meneses. Co-advisor: Prof. Dr. Alberto Soares de Melo.

Drought is an of the main constraints to food production worldwide, as well as in the cultivation of red rice, which in Brazil is currently restricted to small areas of the northeastern semiarid. The water stress affects virtually all aspects of plants growth and development, with consequent reduced productivity. In this sense, the use of cultivars resistant to water stress is required, and the plant-microbe interaction, beneficial to plant growth and promote increased tolerance to biotic and abiotic stresses. According to the above, this study aimed to evaluate the agronomic and ecophysiological aspects of red rice plants inoculated with *Gluconacetobacter diazotrophicus* under water stress in vegetative stage of development. The experiment was conducted under controlled conditions, with a completely randomized design in a factorial 2x4, with two conditions of inoculation, four water restriction levels (100, 70, 50 and 30% of field capacity), a rice genotype red (405 Embrapa Meio Norte), totaling eight treatments with four replications each. Each experimental plot consisted of a drainage lysimeter, which were planted 70 seeds, which after thinning was a total of 60 plants per plot. Water stress was imposed in the vegetative stage of development between stages V3 and V5, in a period of 15 days. The evaluations were performed after 15 days of water stress, growth variables were evaluated (leaf area, biomass), ecophysiological (gas exchange and chlorophyll a fluorescence) and productive (1000-grain weight and total mass of production). It was found that there was interaction between plants and *G. diazotrophicus* with positive responses, where possibly the endophytic bacteria used their growth promoting mechanisms and induction of tolerance to drought, as shown by increases in biomass and shoot as well as higher rates of photosynthesis and photochemical efficiency and increases in total productivity of plants inoculated with the bacteria. The results indicate that the inoculation was beneficial plants, and that the plant inoculation with *G. diazotrophicus* suppressed various water stress deleterious effects.

**Key words:** *Oryza sativa* L.; drought; endophytic bacteria

## 1. INTRODUÇÃO

A cultura do arroz possui elevada importância econômica e social, por ser o arroz, o alimento de maior participação na dieta alimentar da população brasileira, de grande relevância no fornecimento de energia, é fonte principalmente de carboidratos, além de vitaminas e proteínas (PEREIRA et al., 2007), sendo tradicional o consumo do arroz e feijão no país. O arroz vermelho, é o arroz mais antigo cultivado no mundo e o primeiro introduzido no Brasil, pelos portugueses no século XVI, é assim chamado por apresentar pericarpo de coloração vermelha. Atualmente, seu cultivo está restrito a pequenas áreas do semiárido nordestino, destacando-se como principais produtores da região, a Paraíba (Vales do Rio Piancó e do Rio do Peixe) e o Rio Grande do Norte (Vale do Rio Apodi), e em menor expressão, os estados do Ceará, Pernambuco, Bahia, além de Minas Gerais (PEREIRA e MORAIS, 2014).

O arroz vermelho espontâneo, o arroz vermelho cultivado e o arroz branco pertencem à mesma espécie, *Oryza sativa* L. A planta do arroz é do tipo herbácea pertencente à família Poaceae, classe *Liliopsida* (monocotiledônea) como tal caracteriza-se por apresentar caules ocos, flores reduzidas de cor verde e fruto do tipo cariopse. É uma cultura anual, adaptada a solos alagados, sendo considerada uma espécie hidrófila, contudo, devido ao processo evolutivo da espécie, o arroz adquiriu ampla adaptabilidade às diferentes condições de solo e clima, desenvolvendo-se bem também em áreas com baixa disponibilidade hídrica (GUIMARÃES et al., 2002; MENEZES et al. 2012). Desse modo, dois sistemas de produção de arroz são considerados no Brasil, o de várzea, arroz alagado irrigado por inundação, e o de terras altas, cultivado em condições de sequeiro dependente da água das chuvas ou irrigado (por aspersão), tendo este último, o déficit hídrico como principal fator limitante no desenvolvimento da cultura (GUIMARÃES et al., 2006).

A seca é uma das principais limitações para a produção de alimentos no mundo inteiro (YANG et al., 2009), e tem se tornado cada vez mais frequentes como consequência das mudanças climáticas no planeta, o que pode ocorrer com maior intensidade nos próximos anos (BEEBE et al., 2013). Diante das condições adversas, as plantas respondem com alterações

morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e moleculares, como forma de adaptação à nova condição imposta.

Neste sentido, se faz necessário o desenvolvimento de cultivares resistentes ao estresse hídrico, imposto pela seca, bem como plantas que sejam eficientes no uso de água, essas são questões de interesse à nível mundial. Em seus *habitats* as plantas não são organismos individuais, e podem estar cercados por populações de microrganismos, com os quais, provavelmente, elas interagem. Sendo algumas dessas interações planta-microrganismo benéficas para o crescimento das plantas e por promover aumento da tolerância das plantas à estresses bióticos e abióticos (YANG, et al., 2009).

Tais microrganismos podem ser classificados como bactérias, entre outros, e são denominadas de bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) e podem colonizar a rizosfera e o interior dos órgãos vegetais. A principal característica desses microrganismos é a de favorecer o desenvolvimento vegetal, modulando o metabolismo da planta e para isso utilizam diferentes mecanismos, os diretos, como a fixação biológica de nitrogênio atmosférico (FBN), a produção de hormônios de crescimento vegetal e a solubilização de nutrientes do solo, como o fosfato e o zinco; e os mecanismos indiretos, como o controle biológico de fitopatógenos, aumento da resistência a estresses bióticos e abióticos (BULGARELLI et al., 2013).

*Gluconacetobacter diazotrophicus* é considerada um diazotrófico aero-tolerante, no qual o oxigênio é fundamental para a geração de grandes quantidades de ATP requerida para a fixação de nitrogênio (MENESES et al., 2011), é muito sensível a condições secas, mas tem alta tolerância a tratamentos de calor e concentrações de sais no meio de cultura (TEJERA et al., 2003). *G. diazotrophicus* foi à terceira bactéria endofítica diazotrófica a ter seu genoma completamente sequenciado. Seu genoma é composto de 3,9 Mpb e dois plasmídeos de 16,6 e 38,8 Kb, respectivamente. As 894 sequências gênicas encontradas estão relacionadas ao modo de vida endofítico, como fixação de nitrogênio, promoção do crescimento vegetal, metabolismo de açúcar, transportadores, biossíntese de auxina e a ocorrência de bacteriocinas (BERTALAN et al., 2009).

Neste contexto o uso de bactérias promotoras de crescimento vegetal surge como alternativa ao uso consciente dos recursos naturais disponíveis, principalmente pela redução do uso de fertilizantes químicos, e por meio da interação com as plantas são capazes de aumentar a produção agrícola. (SOKOLOVA et al., 2011). O entendimento dessa interação em ambientes semiáridos pode proporcionar o desenvolvimento de novas tecnologias na formulação de inoculantes para plantas mitigando as condições de déficit hídrico, favorecendo o desenvolvimento de uma agricultura sustentável.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo Geral

Avaliar a mitigação da deficiência hídrica em plantas de arroz vermelho durante a fase vegetativa, inoculadas com *G. diazotrophicus*.

### 2.2. Objetivos Específicos

Analisar o crescimento agrônomico de plantas de arroz vermelho inoculadas com *G. diazotrophicus* sob déficit hídrico, em ambiente protegido;

Determinar o nível de tolerância do arroz vermelho à deficiência hídrica sob inoculação com *G. diazotrophicus*, em condições controladas, por meio das variáveis de crescimento, ecofisiológicas e de produção;

Avaliar os efeitos dos tratamentos de inoculação no arroz, em função do manejo de deficiência hídrica, por meio dos parâmetros fisiológicos, de crescimento e produtivos;

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 ARROZ VERMELHO: Aspectos gerais da cultura

##### 3.1.1 Origem e importância econômica

O arroz vermelho é o arroz mais antigo cultivado no mundo e o primeiro introduzido no Brasil, mas somente nos últimos anos ganhou notável atenção e tem sido estudado no país, muito embora ainda seja bastante reduzido o número de trabalhos publicados relacionados a essa cultura.

O arroz vermelho cultivado pertence à mesma espécie do arroz vermelho espontâneo, que é tido como planta invasora nas lavouras de arroz branco, cuja principal diferença botânica é que o arroz cultivado vem sofrendo um longo processo de domesticação, passando por processo de seleção e melhoramento genético, já o espontâneo continua como planta silvestre que passa por processo de eliminação constante sem que consiga adquirir características agronômicas superiores. O arroz vermelho espontâneo, o arroz vermelho cultivado e o arroz branco pertencem à mesma espécie, *Oryza sativa* L. (PEREIRA, 2004; PEREIRA e MORAIS, 2014).

Introduzido no Brasil pelos portugueses no século XVI, o arroz vermelho foi inicialmente cultivado na Bahia. No entanto, só passou a ter maior importância nos séculos seguintes quando cultivado no Maranhão, onde obteve excelente adaptação (PEREIRA, 2004). Esse tipo de arroz também passou a ser conhecido entre os agricultores e consumidores da região, como ‘arroz-da-terra’ e ‘arroz-de-veneza’, certamente em alusão a sua provável origem. Anos mais tarde, até meados do século XVIII depois da soberania do arroz vermelho, um pequeno volume de sementes de arroz branco, conhecido como “arroz-da-carolina” foi importado de Portugal para terras maranhenses, e também obteve excelente adaptação as condições edafoclimáticas do estado. A coroa portuguesa passou então a priorizar a sua produção, em razão da preferência dos consumidores lusitanos (PEREIRA e MORAIS, 2014). Com isso, o arroz vermelho tornou-se uma cultura secundária, a ponto de em 1772 ter seu cultivo oficialmente proibido no estado do

Maranhão. Diante de tal proibição, o cultivo do arroz vermelho se dispersou para outras regiões, e apesar das condições de clima e solo serem menos favoráveis, a produção deste cereal no Brasil terminou concentrada na região Semiárida do Nordeste (PEREIRA, 2004).

O arroz vermelho é assim chamado por apresentar pericarpo de coloração vermelha, característica herdada do seu ancestral silvestre *O. rufipogon*, o qual também teria dado origem ao arroz branco através de uma mutação. (REIFSCHNEIDER et al., 2015). O pericarpo branco do arroz, tornou-se uma característica de elevado interesse comercial e ao longo do tempo acabou predominando como o tipo preferido pelos consumidores. Esse fato pode ser atribuído a duas causas principais: ao surgimento de variedades de alta produtividade, e propósitos de ordem sanitária, tendo em vista que o arroz de pericarpo vermelho permitiria mascarar eventuais impurezas, o que não se verificava no arroz branco. Em virtude do seu alto potencial produtivo também despertou interesse de fitomelhoristas, utilizado-o em processos de seleção nos programas de melhoramento genético do arroz. (PEREIRA et al., 2015; PEREIRA et al., 2007).

O arroz é o alimento de maior participação na dieta alimentar da população brasileira, de grande importância no fornecimento de energia, por ser fonte principalmente de carboidratos, além de vitaminas e proteínas (PEREIRA et al., 2007). O Brasil destaca-se por ser o maior produtor desse cereal no Hemisfério Ocidental, onde a preferência tanto em consumo quanto em produção é pelo tipo agulhinha, com aspecto translúcido, uniforme e de cor branca (PEREIRA e MORAIS, 2014; PEREIRA et al., 2007).

Apesar dessa preferência do mercado nacional, e da pressão seletiva para sua eliminação, o cultivo do arroz vermelho persistiu em vários locais, como variedades crioulas, estando hoje concentrada principalmente no nordeste do país, resultando de processos de adaptação que levaram a grande diversidade genética (PEREIRA, 2004). Destacando-se como principais produtores da região, a Paraíba (Vales do Rio Piancó e do Rio do Peixe) e o Rio Grande do Norte (Vale do Rio Apodi), e em menor expressão, os estados do Ceará, Pernambuco, Bahia e Minas Gerais (PEREIRA e MORAIS, 2014). Em todas essas áreas, a preferência pelo arroz vermelho está relacionada ao hábito alimentar das populações, e devido as suas características diferenciadas em relação ao arroz branco, como sabor, textura, maiores teores de ferro e zinco, e ação antioxidante por conter a proantocianina, importante na alimentação humana pela digestibilidade, que também é reconhecida como repelente contra pragas no arroz.

O arroz vermelho é cultivado em pelo menos quatro continentes: América (Argentina, Brasil, Nicarágua e Venezuela), Europa (França e Rússia), África (Madagascar e Moçambique) e Ásia (Butão, China, Coreia do Sul, Filipinas, Índia, Indonésia, Japão, Malásia, Nepal, Sri Lanka e Tailândia). (PEREIRA, et al., 2009).

Cultura ainda desconhecida da maioria da população brasileira, o arroz vermelho, tem a preferência dos habitantes dos sertões nordestinos, e constitui um dos principais ingredientes da culinária regional. O Estado da Paraíba destaca-se como maior produtor nacional, o mercado vem se expandindo e os produtores estão fornecendo o arroz para estados como: São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná, Brasília, além de atender o consumo interno e de estados circunvizinhos. Os sistemas de cultivo do arroz vermelho ainda são bastante rudimentares, sendo plantado predominantemente por pequenos agricultores familiares, como lavoura de subsistência. Ainda assim, é considerado riqueza genética, cultural e alimentar do povo nordestino, apesar de ocupar pequenas áreas de cultivo (PEREIRA, 2004; SOUZA e ALCÂNTARA, 2012).

A maior procura por este produto e maiores preços em relação ao arroz branco, tem motivado alguns produtores a buscar tecnologias mais avançadas para o seu cultivo. O que favorece a remuneração e a sustentabilidade do sistema de agricultura familiar. Por isto, a procura por sementes melhoradas, para cultivo de tipos especiais de arroz, como o arroz vermelho, tem aumentado, em certas regiões brasileiras (FONSECA et al., 2007).

O que tem preocupado os pesquisadores da área, é o fato do risco de extinção do arroz vermelho, em consequência da forte concorrência com o arroz branco, a falta de interesse por parte das indústrias para trabalharem com este produto e a drástica redução de áreas cultivadas nos últimos anos. Com isso, tem se empenhado em preservar sua variabilidade genética, manter a qualidade do alimento, bem como, promover seu melhoramento genético, com a finalidade de aumentar a produção e garantir a segurança alimentar de grande parte das famílias nordestinas (PEREIRA, 2004).

### **3.1.2 Classificação Taxonômica/ Botânica e características morfofisiológicas**

O arroz é uma planta herbácea pertencente à família *Poaceae* (*Gramineae*), gênero *Oryza*, ordem *Poales*, classe *Liliopsida* (monocotiledônea) como tal caracteriza-se por apresentar caules ocos, flores reduzidas de cor verde e fruto do tipo cariopse, divisão *Magnoliophyta* e domínio *Plantae* (VAUGHAN, 1994). É uma cultura anual, adaptada a solos alagados, sendo considerada uma espécie hidrófila, desenvolvendo-se bem nessas condições de baixa disponibilidade de oxigênio (hipóxia) graças a presença do aerênquima no caule e na raiz, tecido que permite a passagem do oxigênio do ar para a planta. Contudo, devido ao processo evolutivo da espécie, o arroz adquiriu ampla adaptabilidade às diferentes condições de solo e clima, desenvolvendo-se bem também em áreas com baixa disponibilidade hídrica (GUIMARÃES et al., 2002; MENEZES et al. 2012).



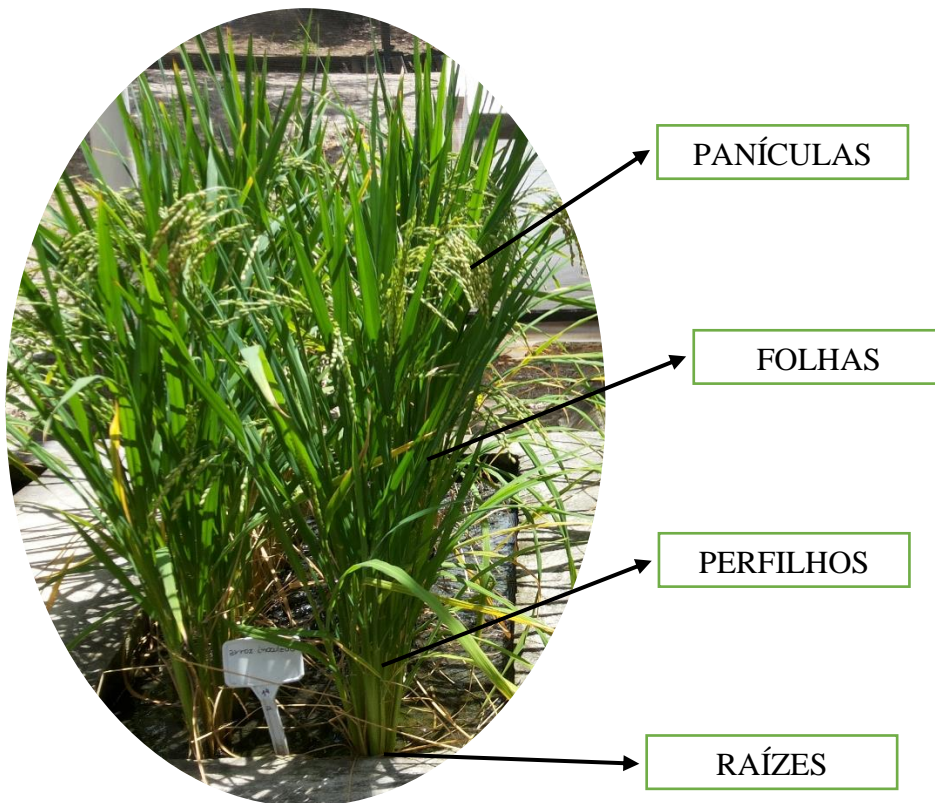
Dois sistemas de produção de arroz são considerados no Brasil, o de várzea, arroz alagado irrigado por inundação, e o de terras altas, cultivado em condições de sequeiro dependente da água das chuvas, ou irrigado por aspersão. Embora o sistema de sequeiro seja o mais adotado no país, o sistema de várzea é responsável por maior produtividade do grão, mesmo com menor área plantada, isso porque o déficit hídrico é fator limitante no desenvolvimento da cultura (GUIMARÃES et al., 2006).

O arroz é classificado no grupo de plantas com sistema fotossintético  $C_3$ , e fixa carbono por meio do ciclo de Calvin-Benson, nesse processo parte do carbono é convertido em biomassa vegetal (LARCHER, 2006). As plantas que possuem esse metabolismo são mais beneficiadas pelo aumento da concentração de  $CO_2$  atmosférico, aumentando assim a taxa fotossintética. Pois em condições de campo, com boa luminosidade e elevada radiação solar, a quantidade de  $CO_2$  não é suficiente e logo é consumida pela planta no processo de fotossíntese, que fica limitado pela diminuição do conteúdo de  $CO_2$  próximo as folhas (FLOSS, 2008).

As plantas  $C_3$  são típicas de regiões de climas temperados, e regulam a abertura estomática durante todo o dia, de acordo com a intensidade luminosa, e os mantém fechados durante a noite. A condutância estomática está diretamente ligada ao uso eficiente da água (EUA) pela planta, que é a razão da quantidade de  $CO_2$  fixado, para a produção de matéria seca, em função da quantidade de água transpirada (SILVA et al., 2007). Assim, existem culturas que são mais eficientes no uso de água e produzem mais biomassa por grama de água transpirada, o arroz por ser uma planta  $C_3$  e possuir maior tempo de abertura estomática durante o dia, possui baixa EUA, e com isso perde muito mais água em relação ao carbono fixado (BAPTISTA et al., 2001).

No que se refere a morfologia, a planta de arroz pode ser subdividida em órgãos vegetativos, incluindo o sistema radicular fasciculado (raízes adventícias), caules redondos e ocos do tipo colmo, e as folhas, e em órgãos reprodutivos, compreendidos pela inflorescência terminal em forma de panícula onde encontram-se as flores, e os frutos do tipo cariopse. As flores são denominadas espiguetas e são hermafroditas, ou seja, possuem ao mesmo tempo órgãos de reprodução masculino, o androceu (ou estame), e femininos, o gineceu (ou pistilo), favorecendo a autofecundação, assim as plantas de arroz são consideradas autógamas (SOARES, 2012) (Figura 1).

Foto: Renata Priscila Almeida Silva, 2016



**Figura 1.** Morfologia da planta de arroz vermelho. Campina Grande/PB, 2016.

O ciclo de vida do arroz pode ser dividido em três fases distintas: fase de plântula, fase vegetativa e fase reprodutiva. A identificação das mudanças morfológicas ocorridas em cada fase e estágio de desenvolvimento da planta de arroz, segue uma escala fenológica, sendo a mais utilizada a desenvolvida por Counce et al., (2000).

Na fase de desenvolvimento da plântula os estádios são identificados como S (do inglês *Seedling*), a qual compreende desde a semeadura até a emergência da primeira folha (prófilo), influenciada por fatores como temperatura e umidade do solo. Na fase de desenvolvimento vegetativo, os estádios são identificados como V (do inglês *Vegetative*) acompanhados de um número que pode variar de 1 a n, de acordo com o número de folhas no colmo principal da planta, nessa fase a planta começa a desenvolver a sua estrutura foliar e ocorre a emissão de perfilhos (colmos secundários), que acontece até o surgimento da última folha em cada colmo, denominada folha bandeira, já indicando o início da próxima fase. A fase reprodutiva é caracterizada a partir do desenvolvimento da panícula até a maturação dos grãos, e os estádios são identificados como R (do inglês *Reproductive*) (COUNCE et al., 2000) (Tabela 1). Quanto ao tempo que se leva para completar seu ciclo de vida, as cultivares podem ser classificadas em: precoces (até 105 dias), semi-precoces (106 a 120 dias), médias (de 121 a 135 dias), semi-tardias (de 135 a 150 dias) e tardias (acima de 150 dias) (SOARES, 2012).

Estádios fenológicos do arroz		
Estádios de plântula	S0	Semente seca de arroz
	S1	Emergência do coleótilo/radicula
	S2	Emergência da radícula/coleótilo
	S3	Emergência da primeira folha do coleótilo
Estádios vegetativos	V1	Colar formado na primeira folha do colmo principal
	V2	Colar formado na segunda folha do colmo principal
	V3	Colar formado na terceira folha do colmo principal
	V4	Formação do colar na 4ª folha do colmo principal
	V5	Formação do colar na 5ª folha do colmo principal
	V6	Formação do colar na 6ª folha do colmo principal
	V7	Formação do colar na 7ª folha do colmo principal
	V8	Formação do colar na 8ª folha do colmo principal
	V9 (VF - 4) <sup>2</sup>	Formação do colar na 9ª folha do colmo principal
	V10 (VF - 3) <sup>2</sup>	Formação do colar na 10ª folha do colmo principal
	V11 (VF - 2) <sup>2</sup>	Formação do colar na 11ª folha do colmo principal
	V12 (VF - 1) <sup>2</sup>	Formação do colar na 12ª folha do colmo principal
	V13 (VF) <sup>2</sup>	Formação do colar na 13ª folha do colmo principal
Estádios reprodutivos	R0	Iniciação da panícula
	R1	Diferenciação da panícula
	R2	Elongação da panícula (emborrachamento)
	R3	Saída da panícula
	R4	Antese
	R5	Elongação da cariopse até o fim da casca
	R6	Enchimento do grão
	R7	Pelo menos um grão da panícula do colmo principal apresenta casca amarela
	R8	Pelo menos um grão da panícula do colmo principal apresenta casca marrom
	R9	Todos os grãos que atingiram o estágio R6 apresentam casca marrom

**Tabla 1-** Escala fenológica da cultura do arroz. Autor: José Luis da Silva Nunes (2010).

As variedades de arroz vermelho plantadas, em geral, possuem porte alto, folhas longas decumbentes e pilosas, colmos finos susceptíveis ao acamamento, alta capacidade de perfilhamento, sementes com pericarpo avermelhado, altas taxas de dormência e debulha natural das sementes e baixo potencial produtivo (PEREIRA et al., 2008). A cor avermelhada do pericarpo das sementes é uma característica dominante, controlada pelo gene Rd no cromossomo 1 e pelo gene Rc no cromossomo 7 (SWEENEY et al., 2006). Tais características referem-se a arquitetura de planta tradicional, contudo, como resultado do cruzamento natural entre o arroz vermelho tradicional e o arroz branco obtêm-se cultivares com arquitetura de planta moderna, com porte baixo, folhas curta e eretas, elevado potencial produtivo e ciclos mais curtos (PEREIRA et al., 2008). As características intermediárias de crescimento e desenvolvimento de genótipos de arroz vermelho entre cultivares tradicionais e cultivares modernas, refletem a condição de planta daninha em constante processo de evolução (STRECK et al., 2008).

Apesar da longa tradição e da preferência de considerável parcela da população, principalmente da Região Nordeste, pelo consumo do arroz vermelho, os orizicultores brasileiros, em geral, padecem com a ausência de novas variedades desse tipo de arroz que apresentem, ao mesmo tempo, maior potencial produtivo, maior resistência ao acamamento e maior rendimento de grãos inteiros por ocasião do beneficiamento (PEREIRA et al., 2015).

### 3.2 Deficiência hídrica nas plantas

A água é o principal constituinte do tecido vegetal sendo necessária à maioria das funções vitais, reações e rotas metabólicas (CARLESSO e ZIMMERMANN, 2000). Durante seu ciclo de vida as plantas nem sempre encontram condições ambientais onde todos os fatores sejam favoráveis para o seu crescimento e desenvolvimento, podendo estar submetidas a vários tipos de estresses ambientais, causados tanto por fatores bióticos quanto abióticos. A redução na disponibilidade hídrica no solo é um dos principais fatores limitantes, devido à sua influência sobre os processos fisiológicos, bioquímicos e moleculares dos vegetais, causando forte impacto sobre o seu crescimento e produtividade. O estresse hídrico ou déficit hídrico, é indicado quando a planta está submetida tanto ao excesso quanto a falta de água, no entanto o estresse por deficiência hídrica é o mais comum na natureza (CHAVES FILHO, 2001; ANGELOCCI, 2002).

As plantas desenvolveram vários mecanismos que lhes permitiram sobreviver e até se desenvolver nas condições ambientais adversas onde vivem. A aclimatação e a adaptação permitem aos vegetais responder à tensões causadas pela seca de curta e longa duração e envolvem uma série de alterações morfofisiológicas, bioquímicas e moleculares que os conduzem a economizar água para uso em períodos posteriores. (KRISHNAN e PEREIRA, 2008).

A adaptação ao ambiente é caracterizada por mudanças genéticas na população inteira, que foram fixadas por seleção natural durante muitas gerações. Já a aclimatação é quando o vegetal responde individualmente às mudanças ambientais, alterando diretamente sua fisiologia ou morfologia para que possam sobreviver ao novo ambiente, essas mudanças não são permanentes e podem ser revertidas se as condições ambientais mudarem. Essas respostas não exigem novas mudanças genéticas, e podem capacitar o indivíduo à nova condição ambiental por exposição repetida. (TAIZ e ZEIGER, 2013). De uma forma geral a adaptação e a aclimatação ao estresse ambiental resultam em eventos integrados, graças à mudanças no funcionamento do organismo que permitem a planta a tolerar ambientes adversos (SOREN et al., 2010).

A maneira como as plantas respondem ao estresse é bastante complexa. Em condições de baixa disponibilidade hídrica no solo as plantas podem responder basicamente de duas formas, evitando o estresse ou tolerando o estresse (LAWLOR, 2013). O mecanismo pelo qual as plantas mais sensíveis evitam o estresse é descrito como a capacidade das plantas em completar o seu ciclo de vida antes de estresses mais severos. As plantas evitam a seca mantendo um alto potencial de água nos tecidos mesmo com déficit hídrico no solo, consistindo em equilibrar a absorção e a perda de água, para sua sobrevivência.

Os mecanismos de tolerância ao estresse visam proteger as plantas contra danos celulares quando o estresse torna-se grave e mecanismos de evitar o estresse já não são suficientes, conservando a hidratação dos tecidos mesmo sob limitado suprimento hídrico, mantendo o metabolismo ativo (CLAEYS e INZÉ, 2013; SOREN et al., 2010). Essas respostas podem ser complexas, e dependem da cultivar e do estágio de desenvolvimento da planta, além da duração e da severidade do estresse.

O déficit hídrico no solo pode causar diversas modificações nas plantas, como resultado da desidratação dos tecidos, provocando redução do crescimento e fotossíntese, danos oxidativos, alterações hormonais e o acúmulo de proteínas relacionadas ao estresse (DOBRA et al., 2010). Bem como, baixo potencial produtivo, que pode ser explicado em função das alterações da relação fonte-dreno, em culturas sob deficiência hídrica (AMUDHA e BALASUBRAMANI, 2011; SILVA et al., 2012).

Em culturas mais tolerantes ao estresse hídrico são verificados menores decréscimos da condutância estomática e da taxa fotossintética, relacionadas a maior produtividade propondo assim que em plantas tolerantes, o movimento dos estômatos pode ser regulado, de forma que o seu fechamento parcial em determinado nível de deficiência hídrica do solo pode levar a um aumento da eficiência do uso da água. (SANTOS, 2013).

O estresse hídrico leva invariavelmente ao estresse oxidativo nas células das plantas, com a diminuição da taxa fotossintética e com o aumento da fotorespiração, ocorre um vazamento de elétrons que reagem com o oxigênio molecular ( $O_2$ ), promovendo um aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) (ASADA, 2006). As EROs, como o radical superóxido ( $O^-$ ), o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), radicais hidroxila ( $OH^*$ ) e oxigênio Singlet ( $^1O_2$ ) podem atacar diretamente lipídios da membrana celular, enzimas e provocar danos ao DNA e RNA, levando a morte celular (MITTLER, 2002).

O estresse desempenha papel importante na determinação de como o solo e o clima limitam a distribuição de espécies vegetais. Por isso, o conhecimento da resposta da planta ao déficit hídrico e da relação entre consumo de água e produtividade, é fundamental para o manejo adequado da cultura visando à alta produtividade, (NASCIMENTO et al., 2004).

### **3.2.1 Deficiência hídrica em planta de arroz**

Nas regiões produtoras de arroz onde o sistema de cultivo é o de terras altas ou sequeiro, dependente de águas das chuvas ou irrigação por aspersão, é comum a ocorrência de estresse hídrico nas plantas, devido a irregularidade das chuvas. Nesses sistemas o consumo de água pela

planta varia de acordo com as fases de desenvolvimento, sendo distribuída da seguinte forma: 30% na fase vegetativa, 55% na fase reprodutiva e cerca de 15% na fase de maturação (FAGERIA, 1980). Com isso, podemos constatar que a fase mais sensível a deficiência hídrica é a reprodutiva, especialmente nos estádios de florescimento e enchimento dos grãos, o que compromete a produtividade do arroz. A falta de água nessa fase provoca esterilidade ou má formação de espiguetas (MOREIRA e KLUGE, 1999). Na fase de maturação, a deficiência hídrica afeta o peso das sementes de arroz (STONE et al., 1986).

Entretanto, as demais fases de desenvolvimento da cultura do arroz também são afetadas pelo déficit hídrico. Logo, a falta de água durante a semeadura pode comprometer a germinação e a emergência das plântulas, resultando em redução na população (FORNASIERI FILHO e FORNASIERI, 2006). Quando a deficiência hídrica ocorre durante a fase vegetativa pode-se observar plantas com baixo perfilhamento, área foliar reduzida, além de aumento no número de dias do ciclo da cultura (CRUSCIOL et al., 2003). Durante a fase vegetativa, principal fase de crescimento, as plantas estão no pico de suas atividades metabólicas. É durante essa fase que se manifestam as características de aclimatação e, sobretudo, as adaptações modificativas em relação às condições ambientais (LARCHER, 2006).

De um modo geral as plantas de arroz reagem à deficiência hídrica com redução na altura da planta, área foliar e produção de biomassa, aborto de perfilhos, alterações na massa seca das raízes e na profundidade de enraizamento, atraso no desenvolvimento reprodutivo e redução da produtividade (GUIMARÃES et al., 2011). O efeito da deficiência hídrica dependerá da coincidência entre o seu período de ocorrência e dos processos fisiológicos determinantes da produtividade, além da tolerância relativa da planta (SANTOS et al., 2006).

Portanto, é necessária a seleção de genótipos que possuam características de acordo com o sistema de cultivo adotado, sendo assim, genótipos de arroz para solos não-alagados (sequeiro) possuem sistema radicular maior e mais profundo, um mecanismo de fechamento estomático mais rápido em resposta ao déficit hídrico, enrolamento das folhas nas horas mais quentes do dia e maior espessura da cutícula. As principais características morfológicas que os distinguem de genótipos adaptados a solos alagados são, porte médio a alto, folhas maiores, mais largas e decumbentes, menor perfilhamento e menor relação grão/palha (FERREIRA et al., 1983; WASHIO, 1993).

A cultura do arroz tem grande importância no Brasil, tanto econômica quanto cultural, por ser considerado alimento básico para grande maioria da população, sendo tradicional o consumo do arroz e feijão no país. Atualmente com a crescente demanda por alimento devido principalmente ao aumento populacional, se faz necessário o emprego de novas tecnologias que

visem a soberania alimentar, bem como a prática de uma agricultura sustentável. Nesse sentido, a utilização de bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) surge como uma alternativa durante o cultivo, sendo adotadas comercialmente como inoculantes (FERREIRA et al., 2014). Essas bactérias estabelecem associações benéficas com as plantas e desempenham papel fundamental na manutenção e/ou incremento do crescimento vegetal, quer seja em ecossistemas naturais ou manejados (COMPANT et al., 2010).

### **3.3 Bactérias promotoras de crescimento vegetal**

As bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) representam uma parcela funcionalmente ativa da biota do solo, com capacidade de colonizar a rizosfera e o interior dos tecidos e órgãos de diferentes espécies vegetais (OKON e LABANDERA-GONZALES, 1994). A principal característica destes microrganismos é a de favorecer o desenvolvimento vegetal, modulando o metabolismo da planta e para isso utilizam diferentes mecanismos, os diretos, como a fixação biológica de nitrogênio atmosférico (FBN), a produção de hormônios de crescimento vegetal e a solubilização de nutrientes do solo, como o fosfato e o zinco; e os mecanismos indiretos, como o controle biológico de fitopatógenos, aumento da resistência a estresses bióticos e abióticos, além de outros mecanismos (BULGARELLI et al., 2013). Assim, as BPCVs não possuem apenas um mecanismo para a promoção do crescimento vegetal, podendo diferir de espécie para espécie, bem como de linhagem para linhagem (GLICK, 1999).

Em troca a planta libera exsudatos pelas suas raízes, tais como aminoácidos, açúcares, ácidos orgânicos, que são fontes de carbono e provêm uma rica fonte de energia e nutrientes para as bactérias. Permitindo assim, de forma seletiva, o desenvolvimento bacteriano, que apresentam compatibilidade metabólica aos exsudatos radiculares, resultando em maior população destes microrganismos na rizosfera do que em outras porções do solo (AMBROSINI et al., 2011; FARINA et al., 2012; GRAY e SMITH, 2005). A planta consegue selecionar os microrganismos que vão atuar na rizosfera por meio da articulação na qualidade/quantidade de material excretado pelas raízes (exsudatos) (DOORNBOS et al., 2012). A compatibilidade entre planta e bactéria deve-se a fatores bioquímicos e permite o estabelecimento do microrganismo, resultando na expressão dos mecanismos de promoção do crescimento vegetal pela bactéria (OLIVEIRA et al., 2014). Deste modo, a resposta à interação é dependente da combinação dos genótipos de planta e bactéria.

Atualmente encontra-se disponível no mercado produtos que compreendem em suas formulações microrganismos vivos, como as BPCVs, adicionados a um veículo de inoculação

inerte, tais produtos são denominados inoculantes ou biofertilizantes. É recomendada a aplicação desses bioproductos nas sementes, sobre a superfície vegetal ou no solo. A utilização destes produtos objetiva a colonização da planta pelo microrganismo inoculado, para que os mecanismos microbianos de promoção do crescimento vegetal possam ser ativados (VESSEY, 2003). O estabelecimento de uma espécie bacteriana introduzida via biofertilizante fica condicionado à sua capacidade de competir com os microrganismos nativos (portanto melhores adaptados) pelos nutrientes disponíveis, de superar os predadores e antagonistas e de resistir a possíveis estresses abióticos (OLIVEIRA et al., 2014).

Bactérias de diversos gêneros foram identificadas como promotoras do crescimento vegetal, sendo que entre os mais conhecidas estão: *Rhizobium* (WANG e MARTINEZ-ROMERO, 2000), *Burkholderia* (VIDEIRA et al., 2012) e *Pseudomonas* (YAO et al., 2010), entre outros. As BPCVs pertencem basicamente a quatro filos: *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* e *Proteobacteria* (BULGARELLI et al., 2013).

A inoculação de planta com BPCV pode promover aumentos na taxa de germinação de sementes, no desenvolvimento de órgãos, na produção de flores e no rendimento das culturas em geral, (SILVA et al., 2013), otimização do uso de insumos, como fertilizantes nitrogenados e fosfatados, além de estimular o crescimento de raízes e parte aérea das plantas, diminuindo o tempo de permanência em cultivo, do plantio até a comercialização (PEREIRA et al., 2013).

O uso de bactérias promotoras de crescimento vegetal surge como alternativa ao uso consciente dos recursos disponíveis, principalmente pela redução do uso de fertilizantes químicos, e por meio da interação com as plantas são capazes de aumentar a produção agrícola. (SOKOLOVA et al., 2011).

### **3.4 *Gluconacetobacter diazotrophicus***

A bactéria endofítica *G. diazotrophicus* foi descrita por Cavalcante e Döbereiner em 1988, inicialmente nomeada como *Sacharobacter nitrocaptans* e, em seguida, como *Acetobacter diazotrophicus* (GILLIS e KERSTERS, 1989). Posteriormente, esta bactéria foi reclassificada como um membro pertencente ao gênero *Gluconacetobacter*, sendo, então, nomeada como *G. diazotrophicus* (YAMADA et al., 1997; YAMADA et al., 1998).

A *G. diazotrophicus* é uma bactéria gram-negativa móvel, contendo flagelos laterais, pertencente ao filo Proteobacteria, a classe  $\alpha$ -Proteobacteria, ordem Rhodospirillales e à família Acetobacteraceae e fixa nitrogênio em condições microaerofílicas (KERSTERS et al., 2006). É portanto uma bactéria promotora do crescimento vegetal diazotrófica, e também endofítica por



ser encontrada colonizando os tecidos internos de plantas, como cana-de-açúcar, onde foi isolada pela primeira vez (CAVALCANTE e DÖBEREINER 1988), batata-doce (*Ipomoea batatas*), abacaxi (*Ananas comosus*) (BALDANI e BALDANI 2005), e arroz (*Oryza sativa*) (MUTHUKUMARASAMY et al., 2007). É considerada um endófito obrigatório pois não foi isolada a partir de regiões do solo ou rizosfera em números significativos (BALDANI et al., 1997), em contraste com outras bactérias associativas, como o *Azospirillum spp.* que habitam predominantemente a rizosfera e pode ser isolada a partir do solo (STEENHOUDT e VANDERLEYDEN, 2000).

Além da fixação biológica de nitrogênio a *G. diazotrophicus* promove o crescimento vegetal por meio da biossíntese de fitormônios, como o ácido indol acético (AIA), pode contribuir com a solubilização de nutrientes do solo, como o fosfato e o zinco através da secreção de ácidos orgânicos bacterianos, bem como, produzir bacteriocina que atua no mecanismo de defesa contra fitopatógenos (BERTALAN et al., 2009), também pode produzir alguns tipos de proteínas, tais como enzimas líticas e fosfolipases e vias de biossíntese de antibióticos que podem ser tóxicos para outros organismos. Assim, a utilização de *G. diazotrophicus* como um biofertilizante na agricultura pode permitir a redução do uso de fertilizantes químicos, e promover o crescimento vegetal. Entretanto, todos esses benefícios proporcionados pelas BPCVs é dependente da capacidade das cultivares em tirar o máximo de proveito dos benefícios gerados por essa associação.

A *G. diazotrophicus* possui a capacidade de se desenvolver em altas concentrações de sacarose (capaz de tolerar até 30%) e baixo pH (5,0 a 3,0) o que sugere a existência de mecanismos muito eficientes de proteção contra a acidez e de osmotolerância (REIS e DÖBEREINER, 1998). Esta bactéria parece ser bem adaptada à vida dentro da cana-de-açúcar, uma vez que o seu melhor crescimento ocorre em pH 5,5 e na presença de 10% de sacarose, as mesmas condições encontradas dentro desta planta (CAVALCANTE e DÖBEREINER, 1988; GILLIS e KERSTERS, 1989). Ao ser cultivada em meios de cultura ricos em sacarose, esta bactéria produz ácido glucônico que faz com que o pH caia abaixo de 3, e, ainda assim conseguem fixar nitrogênio atmosférico por meio da FBN (STEPHAN et al., 1991). As altas concentrações de sacarose suportadas pela *G. diazotrophicus*, pode desempenhar importante papel por influenciar na atividade da enzima nitrogenase desta bactéria, que nessas condições diminui a inibição causada por aumento das taxas de O<sub>2</sub> e amônia (REIS e DÖBEREINER, 1998).

O maior potencial de fixação de nitrogênio atmosférico é atribuído às bactérias diazotróficas de caráter microaerófilico, os principais representantes são espécies dos gêneros

*Azospirillum*, *Herbaspirillum*, (DOBEREINER, 1992) *Gluconacetobacter* (YAMADA et al., 1997), *Burkholderia* (BALDANI, 1996) e *Azoarcus* (REINHOLD-HUREK, et al., 1993), que colonizam as partes internas das raízes e partes aéreas de gramíneas (BALDANI et al., 1997). As bactérias diazotróficas endofíticas são encontradas colonizando, de forma característica, tecidos de plantas pertencentes à família das Poaceae, sem causar qualquer sintoma de doença, promovendo o crescimento da planta (DÖBEREINER, 1992).

Ao contrário dos rizóbios, bactérias colonizadoras de rizosfera, as bactérias endofíticas não formam nódulos, o que permite inferir que os mecanismos envolvidos no reconhecimento e estabelecimento da interação planta-bactéria são bastante diferentes. Tais mecanismos podem ser afetados por diversos fatores bióticos, como o tipo de cultivar e estágio de desenvolvimento da planta hospedeira, e abióticos, como a disponibilidade de nitrogênio. Em estudos realizados por Fuentes- Ramirez et al., (1999), verificaram que a capacidade de unidade formadora de colônia (UFC) pela *G. diazotrophicus* foi afetada negativamente pela presença de elevados níveis de N-fertilizantes.

Plantas de arroz são frequentemente colonizadas por diversas bactérias endofíticas diazotróficas formando associações onde a contribuição em termos de fixação biológica de nitrogênio é pequena quando comparada ao fornecido pelo rizóbio às plantas leguminosas, a contribuição da FBN, pode variar de 0 a 30%, dependendo do genótipo da planta de arroz. A maioria das gramíneas durante o processo evolutivo estabeleceu interações com microrganismos, como as BPCVs que além dos mecanismos anteriormente citados, induz a tolerâncias a estresses abióticos, como a seca (YANG et al., 2009).

### **3.5 Tolerância sistêmica induzida (TSI) por bactérias promotoras de crescimento vegetal**

Além dos diversos mecanismos de promoção do crescimento vegetal as BPCVs também possuem a capacidade de induzir a tolerância das plantas a estresses abióticos, como o estresse hídrico causado por seca (YANG et al., 2009). A tolerância sistêmica induzida (TSI) por BPCV é provocada por alterações químicas e físicas nas plantas que resultam no aumento da tolerância à estresses abióticos. As bactérias que têm sido relatadas por proporcionar tolerância, amparando as plantas em diferentes ambientes estressantes, pertencem a diferentes gêneros, incluindo *Rhizobium*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Paenibacillus*, *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Azospirillum*, *Enterobacter*, entre outras (GROVER et al., 2011).

O principal fator limitante para a produtividade das culturas, nas áreas áridas e semiáridas, é o estresse causado por deficiência hídrica (KRAMER e BOYER, 1995). As

respostas das plantas à seca envolve uma rede complexa de mecanismos de sinalização, que regulam diversos processos fisiológicos e bioquímicos (CHAVES et al., 2003; BHARGAVA e SAWANT, 2013), essas respostas podem ser diferentes dependendo da espécie vegetal (AHMAD e PRASAD, 2012). A regulação hormonal tem papel importante nas repostas da planta à estresses abióticos, podendo induzir a algum nível de tolerancia ao estresse (WILKINSON et al., 2012). O ácido abscísico (ABA) e o etileno (ET) são hormônios responsivos ao estresse hídrico (DAVIES et al., 2005; MIZOI et al., 2012). Bem como, os fitormônios AIA e giberelinas, que irão proporcionar aumento do sistema radicular, permitindo o aumento da captação de água e nutrientes melhorando assim o desempenho da planta em condições de estresse (EGAMBERDIEVA e KUCHAROVA, 2009). Algumas estirpes de bactérias promotoras do crescimento de plantas produzem citocininas e enzimas antioxidantes, o que resulta em alteração da sinalização do ABA (ácido abscísico) e degradação das espécies reativas de oxigênio, respectivamente (STAJNER et al., 1997). A produção de enzimas antioxidantes sugere que essas bactérias podem ser usadas em inoculantes para atenuar o dano oxidativo provocado pelo estresse hídrico (KOHLENER et al., 2008).

As investigações de como o estresse hídrico afeta a planta revelou um equilíbrio hormonal entre os fitormônios ABA e citocininas. Um aumento do teor de ABA nas folhas, indica que ocorreu redução dos níveis endógenos de citocininas, assim, a redução de citocininas amplia o conteúdo de ABA que é responsável, dentre outras funções, pelo fechamento estomático (FIGUEIREDO, et al.; 2008; COWAN, et al., 1999). Esses fatos, indicam a existência de uma relação entre o ABA, citocininas e vias de sinalização de estresses ambientais (NISHIYAMA et al, 2011; HA et al, 2012). No qual as citocininas desempenham um papel regulador não apenas no crescimento e desenvolvimento das plantas, mas também da sinalização do ABA e via de sinalização de estresses, sinalização mediadas por citocininas (TRAN et al., 2007 , 2010 ).

Muitos aspectos da vida vegetal são regulados pelos níveis de etileno e a biossíntese do etileno pode ser afetada por estímulos ambientais, incluindo estresses bióticos e abióticos (HARDOIM et al., 2008). Algumas estirpes bacteriana possuem uma enzima denominada ACC deaminase, que é responsável por clivar o precursor direto do etileno (ACC), diminuindo os níveis desse fitormônio nas plantas, conferindo tolerância sistêmica induzida contra o estresse hídrico (MAYAK et al., 2004). Assim, por meio da inoculação com bactérias que contenham a referida enzima, essas conseguem reduzir os efeitos deletérios do etileno, melhorando as condições de estresse da planta, promovendo ainda o seu crescimento (GLICK, 2007), principalmente do sistema radicular, aumentando dessa forma a eficiência do uso da água pela plantas sob condições de seca (ZAHIR et al. 2008).

Na ausência de contato físico com as raízes das plantas, algumas estirpes de BPCVs, emitem compostos orgânicos voláteis (VOCs) que induzem a promoção do crescimento vegetal (RYU, 2004) e são determinantes bacterianos envolvido na TSI. Os VOCs bacterianos proporcionam às plantas maior absorção do ferro. Também são responsáveis pela regulação de processos biológicos, tais como, redistribuição do fitormônio auxina por toda a planta, promove a expansão das células das folhas, ramificação de raiz e aumento da fotossíntese, são alguns dos mecanismo de promoção do crescimento de plantas desencadeado por VOCs de certas estirper bacterianas (ZHANG et al., 2007,2008)

As bactérias podem sobreviver em condições de estresse devido a produção de exopolissacarídeos (EPS) que protege do estresse causado por déficit hídrico, aumentando a retenção de água e regulando a difusão de fontes de carbono orgânico (HEPPER 1975; WILKINSON 1958, ROBERSON e FIRESTONE 1992; CHENU 1993; CHENU e ROBERSON 1996). Os EPS desempenha um papel vital na formação e estabilização de agregados do solo e regula o fluxo de nutrientes e água através das raízes das plantas por meio da formação de biofilme (ROBERSON e FIRESTONE 1992; TISDALL e OADEA 1982). As plantas inoculadas com bactérias produtoras de EPS podem exibir aumento da resistência ao estresse hídrico devido a melhoria da estrutura do solo, uma vez que esses polissacarídeos microbianos podem ligar-se a partículas do solo formando agregados (SANDHYA et al., 2009). Assim, as interações complexas e dinâmicas entre microrganismos, raízes, solo e água na rizosfera podem induzir alterações nas propriedades físico-químicas e estruturais do solo (HAYNES e SWIFT, 1990).

Sob condições de estresse hídrico, os organismo, de uma forma geral, incluindo as bactérias possuem a capacidade de sintetizar e acumular solutos compatíveis dentro de suas células, tais como, aminoácidos, amins quaternárias e açúcares, os quais impedem os processos degenerativos e melhora o crescimento das células sob condições osmóticas adversas (POTTS, 1994), considerado, dessa forma, como um mecanismo de indução à tolerância sistêmica em diversas espécies. Tais solutos atuam como osmoprotetores, os quais são compatíveis com a função celular, ou seja, mesmo em elevadas concentrações não são tóxicos às células, desempenham papel importante na estabilização de proteínas e estruturas celulares e manutenção do turgor celular por meio do equilíbrio da pressão osmótica, sem comprometer processos celulares, os quais poderiam ser inibidos por altos níveis de sais citosólicos (GALINSKI, 1995). Dentre os solutos compatíveis mais comuns em bactérias, destacam-se a sacarose, prolina, glicina betaína, manitol, sorbitol, glutamato, glutamina e trealose (RONTEIN et al., 2002). A capacidade em acumular esses osmoprotetores varia de espécies para espécie.

As diversas interações planta-microrganismo podem desempenhar um importante papel em conferir resistência aos estresses abióticos. Dentre esses microrganismos estão, bactérias endofíticas, rizobactérias e fungos simbióticos que atuam por meio de diversos mecanismos, desencadeando resposta osmótica e indução de novos genes em plantas. (GROVER et al., 2011). Esclarecer os métodos pelos quais as BPCVs promovem a TSI pode ajudar o crescimento de culturas em condições ambientais desfavoráveis, permitindo a otimização do uso dos compostos bioativos bacterianos específicos, tais como, citocininas, antioxidantes, ACC-deaminase, os VOC's e o AIA. (YANG et al., 2009). Assim, a colonização desses microrganismos suprime na planta hospedeira várias das respostas ao estresse hídrico. Assim, as características de tolerância e de promoção do crescimento de plantas podem ser úteis na seleção de estirpes bacterianas que podem ser utilizadas como bioinoculantes em culturas estressadas.

O estresse biótico é excluído da TSI porque conceitualmente é parte do controle biológico e resistência sistêmica induzida (RSI) das plantas (YANG et al., 2009). A RSI ocorre quando os mecanismos de defesa da planta são estimulados e preparado para resistir à infecção por agentes fitopatogênicos (VAN LOON, 1997).

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Caracterização da área experimental**

O presente trabalho foi realizado no viveiro de mudas da UEPB, localizado nas seguintes coordenadas: 07° 12' 42,99'' de latitude Sul, 35° 54' 36,27'' longitude Oeste, 521 metros de altitude, e no Laboratório de Ecofisiologia de plantas cultivadas, ECOLAB, localizados no CAMPUS I, em Campina Grande – PB, no período compreendido entre os meses de maio de 2014 à abril de 2015.

### **4.2 Características climáticas**

A cidade de Campina Grande tem clima do tipo Aw'i, segundo a classificação climática de Köppen, considerado como seco sub-úmido. O período chuvoso está situado entre os meses de março a julho com precipitação pluviométrica em torno de 800 mm. A temperatura máxima média anual é de 28,7 °C e a mínima de 19,8 °C variando pouco ao longo do ano (SOUSA JÚNIOR, 2006).

### **4.3 Características edáficas**

O solo utilizado foi coletado nos primeiros 20 cm do horizonte A de um solo franco-arenoso, proveniente do município de Esperança-PB. Foram feitas as análises químicas no Laboratório de Solos da UFCG, cujas características estão dispostas na Tabela 2.

**Tabla 2.** Valores da análise química do solo da área experimental do Viveiro de mudas da UEPB. Campina Grande/PB, 2015.

pH em H <sub>2</sub> O	Al	Ca+Mg	Ca	Mg	P	K	N	M.O.
	cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>				mg dm <sup>-3</sup>		%	
5,10	0,00	2,30	1,50	0,70	*	31,00	0,12	1,69

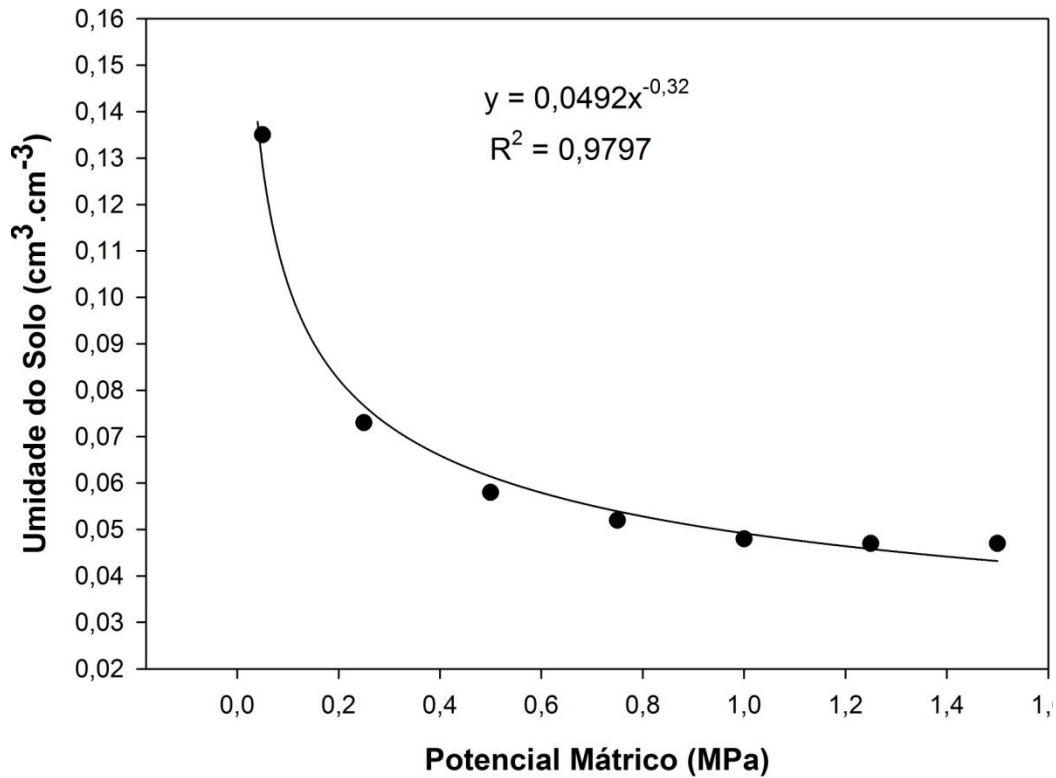
\*Resultado abaixo de 5 mg dm<sup>-3</sup>

#### 4.4. Fatores em estudo e tratamentos

O experimento foi realizado em condições controladas com o cultivo do arroz vermelho (*O. sativa* L.), genótipo 405 Embrapa Meio Norte, constando de duas condições de inoculação com a bactéria endofítica *G. diazotrophicus* (I1= sementes não inoculadas e I2= sementes inoculadas), e plantas submetidas a quatro diferentes condições de restrição hídrica, sendo U1= 30-35%; U2= 50-55%; U3= 70-75% e U4= 100% da capacidade de campo. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizados, em um esquema fatorial 2x4, sendo 8 tratamentos com 4 repetições, totalizando 32 parcelas, onde cada parcela foi constituída de um lisímetro de drenagem.

Os lisímetros dispunham de uma estrutura em alvenaria com 100 cm de comprimento, 50 cm de largura e 50 cm de profundidade, acoplado à base um sistema de drenagem composto por tubulação e registro; o material utilizado para o preenchimento foi distribuído com uma camada de 5 cm de brita, 5 cm de areia grossa e o restante com material de solo franco-arenoso.

A irrigação foi realizada a partir da semeadura, mantendo-se a umidade do solo em todas as parcelas próximo a capacidade de campo. O ciclo da restrição hídrica teve início quando as plantas atingiram o estágio de desenvolvimento V3, então, foram coletadas amostras de solo, diariamente, e medidos os potenciais hídricos por psicrometria, utilizando o aparelho Dewpoint Potentia Meter (WP4-T). Esses valores foram, portanto, associados a uma curva de retenção de água no solo (figura 2), que determinava a quantidade de água repostada ao dia, necessária em cada nível de restrição hídrica. Esse ciclo foi mantido até as plantas atingirem o estágio V5, que durou aproximadamente 15 dias. Após o regime de restrição hídrica as plantas de todos os tratamentos foram irrigadas normalmente.



**Figura 2.** Curva de retenção de água no solo, EMBRAPA Agrobiologia, Seropédica – RJ.

#### 4.5 Processo de Inoculação

A estirpe bacteriana utilizada no processo de inoculação foi a *G. diazotrophicus* PAL5, selecionada por suas características de solubilizar fósforo *in vitro*, produção de AIA e redução de acetileno, dentre outros mecanismo de promoção do crescimento vegetal. Inicialmente essa estirpe foi reativada em meio DYGS (Tabela 3), a um pH 6,0 (RODRIGUES NETO et al., 1986), o caldo bacteriano foi mantido a uma temperatura de 30 °C sob agitação de 150 rpm por um período de 48 horas.



**Tabla 3.** Composição do meio DYGS

<b>Composição</b>	<b>Concentração (g L<sup>-1</sup>)</b>
Glicose	2,0
Peptona	1,5
Extrato de levedura	2,0
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,5
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,5

Em seguida foi semeada em placas com meio semi-seletivo, LGI-P (DÖBEREINER et al., 1995). Após a verificação da pureza, a estirpe foi multiplicada em erlenmeyer contendo 50 mL do meio DYGS nas mesmas condições citadas anteriormente. No preparo do inoculante, foram adicionados o caldo bacteriano e o veículo utilizado foi a turfa, em seguida o inoculante foi homogeneizado e incubado a 30 °C por um período de 24 horas (fase de maturação). A turfa é um substrato, responsável por manter um alto número de células viáveis no inoculante e por conduzi-las até o momento da inoculação, providenciando um *habitat* temporário no solo, criando um microambiente protegido e suprimindo a carência nutricional desses microrganismos (ARORA et al., 2010)

As sementes de arroz foram umedecidas com água estéril e misturadas com o inoculante, em sacos de polipropileno, numa proporção de 250 g de inoculante para cada 20 kg de sementes de arroz (FERREIRA, 2004), no caso foram utilizadas 150 g de sementes de arroz vermelho, 5 g da turfa e 10 mL do meio. Em seguida as sementes inoculadas foram colocadas para secar à sombra. Após a secagem foi realizada a semeadura.

Para o controle de qualidade do inoculante utilizado foi adotado o método do número mais provável (NMP) para avaliar a concentração de células bacterianas viáveis (ou unidades formadoras de colônias (UFC)) presentes no inoculante e nas sementes (inoculadas e não inoculadas) de acordo com (DÖBEREINER et al., 1995). Esse método é baseado na presença ou ausência da película formada, característica do crescimento bacteriano em determinado meio de cultivo (LGI-P, semi-sólido para bactérias diazotróficas). Para a contagem do número de células foi utilizada a técnica de microgota, no qual foi realizada diluição seriada do caldo bacteriano, e uma alíquota foi gotejada em meio de cultura LGI-P, e após um período de incubação de 3 dias foi realizada a contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC).

#### **4.6 Semeadura**

A semeadura foi realizada em maio/2014, em lisímetros de drenagem no qual foram semeadas 70 sementes, distribuídas em duas filas na profundidade de 3 cm, que após germinadas foi realizado um desbaste, totalizando 60 plântulas por parcela.

#### **4.7 Tratos culturais**

Os tratos culturais constaram da remoção de plantas daninhas (tiririca) manualmente, na medida em que surgiam no interior dos lisímetros. Não foram observadas a ocorrência de doenças em todo o período do experimento.

#### **4.8 Adubação**

A adubação foi realizada com sulfato de amônio ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ), como fonte de Nitrogênio (N), utilizou-se 18 gramas dividido em duas aplicações, a primeira foi após a germinação, e a segunda 3 dias antes do estresse hídrico. O sulfato de amônio foi diluído em água e a dose baseou-se nos dados da análise de amostras do solo, e quantidades recomendadas para cultivo de arroz (VELOSO et al., 2009). A utilização de outros nutrientes não foram necessário, devido ao solo já disponibilizar dessa suplementação, uma vez que era bastante rico em matéria orgânica.

#### **4.9 Período de coleta do material vegetal**

O material vegetal, necessário para as análises, foi coletado no final do ciclo da restrição hídrica quando as plantas ainda estavam submetidas ao estresse, na fase vegetativa. Após a coleta do material e das análises fisiológicas realizadas *in loco*, todos os tratamentos receberam a mesma quantidade de água, e uma hora após a hidratação foram coletadas novas amostras para análise e comparação com as plantas sob estresse, e as plantas, agora hidratadas, foram submetidas a novas análises fisiológicas.

#### **4.9.1 Estimativa do número mais provável (NMP) de células bacterianas viáveis nas raízes e a nas folhas**

Foi utilizado o método do NMP, também de acordo com a metodologia descrita por Döbereiner et al., (1995), para a análise quantitativa da bactéria diazotrófica *G. diazotrophicus*. O material foi coletado na época do estabelecimento do estresse. Para a análise, foram utilizados tecidos vegetais das raízes e folhas das plantas. Foram trituradas em liquidificador 5 g de matéria fresca de raiz, lavadas e esterilizadas com 45 ml de água destilada estéril, e folhas, separadamente, com solução salina por um a dois minutos, e em seguida foram diluídos seriadamente até  $10^{-6}$ . Logo após, 100µL dos 4 extratos mais diluídos foram colocados em frascos com 5 mL do meio LGI-P (semi-sólido seletivos para bactérias diazotróficas). A contagem foi realizada após 7 dias de incubação, considerando positivos os frascos que apresentaram a formação da película característica do crescimento bacteriano para o determinado meio de cultivo.

A determinação do número de células viáveis (UFC) foi feita, multiplicando-se as médias do número de colônias presentes nas diluições pelo fator de diluição correspondente a contagem e pelo fator de correção 10 que corresponde a correção da alíquota de 100 µL para 1 mL, foi obtido, assim, o número de UFC por grama de tecido vegetal analisado.

#### **4.10 Colheita**

A colheita foi realizada de forma manual aos 125 dias após a semeadura (DAS), através de operações de corte, recolhimento das plantas e dos grãos de arroz vermelho quando encontravam-se entre 18 a 23% de umidade.

#### **4.11 Variáveis em estudo**

##### **4.11.1 Variáveis de Crescimento**

As variáveis de crescimento avaliadas foram: área foliar, massa seca da parte aérea e massa seca de raízes, realizadas durante o período de estresse.

A área foliar foi determinada em (cm<sup>2</sup>), quantificadas através de um Medidor de área foliar de bancada, LICOR®, Modelo LI-3100C, onde foram coletadas 3 touceiras por lisímetro, totalizando 12 plantas por repetição.

No final do experimento foram coletados o material vegetal de 3 plantas úteis por parcela, 12 plantas por repetição, realizando-se a partição de fitomassa seca em: folhas e colmos (parte aérea), e raízes. Estas porções foram colocadas em estufa de circulação de ar-forçado à 70°C, por 48 horas até perder todo o volume de água, com posterior pesagem em balança de precisão para obtenção dos resultados de fitomassa seca.

#### 4.11.2. Trocas Gasosas e Fluorescência da Clorofila *a*

Foram também avaliadas as trocas gasosas, como: Concentração de carbono interno ( $C_i$ ) ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), Fotossíntese líquida ( $A$ ) ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), transpiração ( $E$ ) ( $\mu\text{mol de H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e condutância estomática ( $g_s$ ) ( $\mu\text{mol de H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) na terceira folha contada a partir do ápice. De acordo com essas análises, também, foi quantificada a eficiência instantânea no uso da água (EUA) ( $A/T$ ) [ $(\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}) (\mu\text{mol de H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1})^{-1}$ ], eficiência intrínseca do uso da água (EiUA) ( $A/g_s$ ) [ $(\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}) \cdot (\mu\text{mol de H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1})^{-1}$ ], eficiência instantânea de carboxilação (EIC) ( $A/C_i$ ) [ $(\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}) \cdot (\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1})^{-1}$ ] (SCHOLLES e HORTON, 1993; NEVES e SCHVARTZMAN, 2002; KONRAD et al., 2005), utilizando-se o analisador de gás infravermelho, IRGA (ACD, modelo LCPro, Hoddesdon, UK), com fluxo de ar de 300 mL.min<sup>-1</sup> e fonte de luz acoplada de 1200  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  para as avaliações.

As medidas de fluorescência da clorofila *a* foram obtidas utilizando um fluorômetro portátil modulado OS5p (Opti-Sciences, Hudson, USA). O rendimento quântico potencial do fotossistema II (FSII) (VAN KOOTEN e SNEL, 1990) foi calculado após 30 minutos de adaptação ao escuro como  $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$ , em que  $F_0$  é a fluorescência mínima, excitada por uma luz vermelha modulada de baixa intensidade ( $0,03 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) e  $F_m$  é a fluorescência máxima obtida pela aplicação de um pulso de 0,8s de luz actínica saturante ( $>6000 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ). Essas análises foram realizadas enquanto as plantas estavam submetidas ao estresse e uma hora após a hidratação, para comparação entre os resultados.

#### 4.12 Componentes produtivos

Para aos componentes produtivos, foram analisados a massa seca de 1000 g e a massa da produtividade total. Logo após a colheita, as sementes foram pesadas e colocadas em estufa de circulação de ar-forçado à 105°C, por 24 horas até peso constante, e posteriormente pesados em balança de precisão para obtenção dos resultados da massa seca dos grãos.

#### **4.13 Análises estatísticas**

Os dados das variáveis respostas foram submetidos à análise de variância pelo teste F, e comparando-se as médias por meio do teste de Tukey a 5% de significância, para as condições de inoculação, e analisando-se por regressão linear os níveis de restrição hídrica, utilizando-se do programa SIGMAPLOT (2008).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Controle de qualidade do inoculante utilizado

Efetuuou-se a análise qualitativa do inoculante por meio da contagem do número de células viáveis da bactéria *G. diazotrophicus*, sendo este o principal parâmetro de qualidade para classificar um inoculante (BARBOSA, 2014). Foi constatada a presença de uma população acima de  $10^9$  células bacterianas por grama do inoculante (Tabela 4).

**Tabla 4.** Contagem de células viáveis de *G. diazotrophicus* encontradas por grama do inoculante e sementes de arroz, determinado em meio LGI-P. Campina Grande/PB, 2016.

Tratamentos	Meios de cultura	Log do nº células g <sup>-1</sup>		
		Inoculante	Semente inoculada	Semente não inoculada
PAL5	LGI-P*	10,01	9,55	N.D.

\*Meio LGI-P (semi seletivo para *Gluconacetobacter* spp.). N.D. (Não detectada)

Para avaliar a qualidade dos inoculantes no Brasil, foram estabelecidos critérios contidos nas instruções normativas do MAPA (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento) onde fica especificado que a concentração mínima presente nos inoculantes seja de  $1,0 \times 10^9$  unidades formadoras de colônia por grama ou mililitro do produto (BRASIL, 2011). Dessa forma, os resultados obtidos estão de acordo com as exigências, o inoculante está dentro do padrão esperado. Nas amostras das sementes inoculadas foram observados os mesmo resultados, bem como a ausência de contaminantes nas sementes não inoculadas (Tabela 4). Um número considerado adequado de células bacterianas inseridas nas sementes é importante por garantir

uma população com a capacidade de competir com os microrganismos nativos do solo e de resistir a possíveis adversidades ambientais, assegurando o estabelecimento da espécie bacteriana na planta hospedeira.

Assim, o controle de qualidade do inoculante utilizado se faz necessário devido a extrema importância de assegurar uma boa qualidade dos inoculantes e garantir uma boa produtividade com baixos custos, proporcionando maior segurança ao agricultor, assim como, por impedir que sistemas inadequados de inoculação sejam adotados, o que implicaria numa redução do número de células bacterianas viáveis nas sementes, resultando em baixa eficiência dos mecanismos de promoção do crescimento esperados (CARVALHO et al., 2009).

## 5.2 Estimativa do número mais provável (NMP) de células bacterianas viáveis nas raízes e nas folhas

As estimativas com relação ao número mais provável (NMP) da bactéria diazotrófica presente em raízes e folhas de plantas de arroz vermelho, avaliadas sob estresse hídrico durante o estágio vegetativo, revelou que em todas as amostras de tecidos que receberam o tratamento com a estipe PAL5 foi detectado o crescimento bacteriano, o que não foi verificado nos tratamentos controle (Tabela 5). Os valores da densidade bacteriana obtidos na avaliação foram satisfatórios, com concentrações maiores que  $10^4$  unidades formadoras de colônia de *G. diazotrophicus* por grama de tecido vegetal ( $10^4$  UFC  $g^{-1}$ ).

**Tabla 5.** Estimativa do número mais provável (Log do nº células  $g^{-1}$ ) de *G. diazotrophicus* PAL5 presente nas raízes e folhas de plantas de arroz vermelho.

Tratamento	Meio de Cultura	Reprodutivo	
		Raízes	Folhas
Não inoculado	LGI-P**	N.D.	N.D.
PAL5	LGI-P**	$4.65 \pm 0.11^*$	$4.01 \pm 0.39^*$

\*Média  $\pm$  desvio padrão (n=3), \*\*Meio LGI-P (semi seletivo para *Gluconacetobacter* spp.). N.D. (Não detectada).

Os números positivos obtidos dessa análise demonstram a especificidade da bactéria em colonizar os tecidos internos das plantas hospedeiras, corroborando com a teoria de que o microrganismo em questão é considerado um endófito obrigatório. A partir desses resultados

podemos inferir também que o microrganismo obteve êxito no processo de colonização, pois seus elevados números presentes nos tecidos vegetais comprovam o estabelecimento bem sucedido dessa associação, evidenciando a forte interação, graças a afinidade/especificidade, entre o genótipo da planta e a estirpe da bactéria.

Kuss (2006) em seus estudos afirma exatamente isso, que o sucesso da associação entre microrganismos endofíticos e plantas hospedeiras, está em os microrganismos superarem os impedimentos físicos e químicos estabelecidos pelos vegetais, e assim, estarem ocupando e se multiplicando dentro dos tecidos do hospedeiro, promovendo os benefício esperados de promoção do crescimento vegetal. Um outro fato que corrobora com os resultados, é de que a associação da bactéria em estudo, a *G. diazotrophicus*, com plantas de arroz já é bem conhecida, e estudos demonstraram a capacidade de colonização por esses microrganismos (MUTHUKUMARASAMY et al., 2005; ROUWS et al., 2010; MENESES et al., 2011).

Por meio da análise dos resultados observou-se uma diferença na população de bactérias, onde a proporção estimada de diazotróficos presente nas raízes das plantas foi maior que a estimativa presente nas folhas (Tabela 5), possivelmente devido ao fato de maior concentração de exsudatos das raízes, os quais as bactérias utilizam para sobrevivência.

Resultados semelhantes foram encontrado em diversos estudos realizados com bactérias diazotróficas em associação com diferentes culturas. Teixeira et al., (2008) também detectaram, por meio do método do NMP, maior população de bactérias (cerca de  $9,9 \times 10^4$ ) em raízes de algodoreiro do que em folhas e caules. Assim como Júnior et al., (2000) em estudos com cana-de-açúcar, e diversos autores que conduziram estudos com plantas de arroz, verificaram maior concentração de bactérias diazotróficas presentes nas raízes, quando comparado à partes aéreas da planta, tais como Rodrigues et al. (2006), Punschke et al. (2005), Viana (2012) entre outros.

Tais resultados podem ser explicados devido ao fato de a região radicular ser um ambiente rico em nutrientes, o que favorece a atividade e o crescimento dos microrganismos, que utilizam os exsudatos radiculares como fonte de energia e carbono (DOBBELAERE et al., 2003).

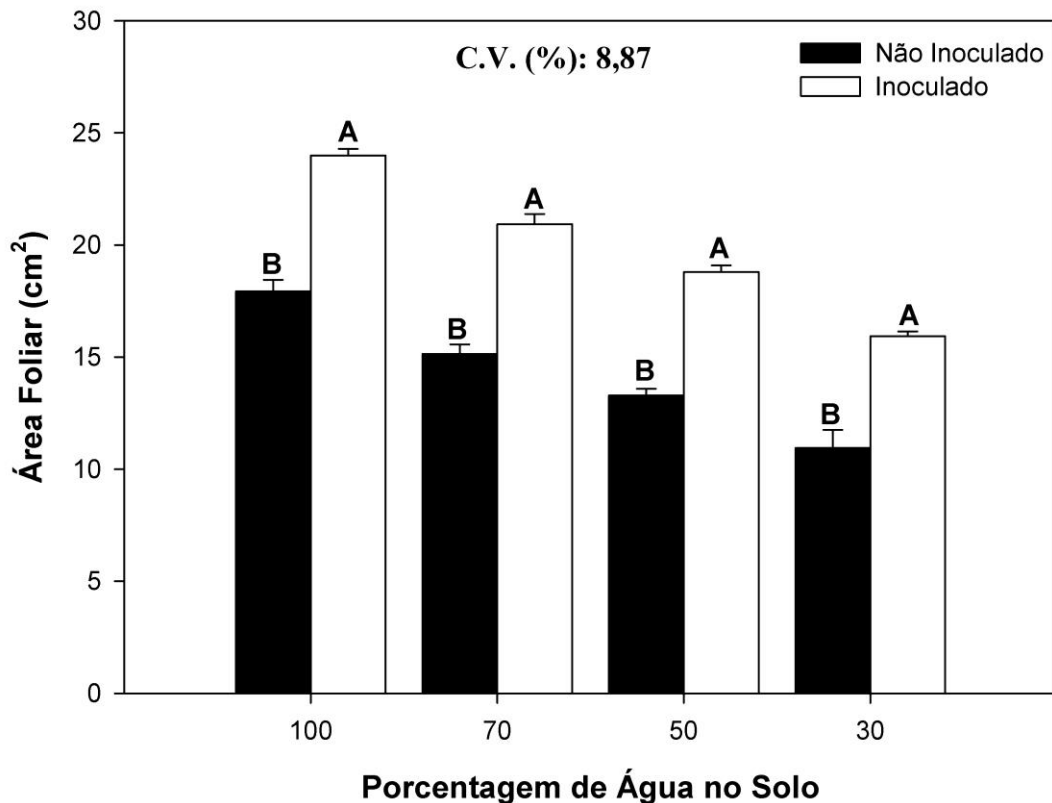
## **5.3 Análises de crescimento**

### **5.3.2 Área foliar**

Os valores da área foliar (AF) das plantas inoculadas foram comparados aos das plantas não inoculadas, dentro de cada nível de restrição hídrica (Figura 3). Para esta análise utilizou-se a média de vinte plantas e os resultados obtidos foram significativos, havendo diferença entre as



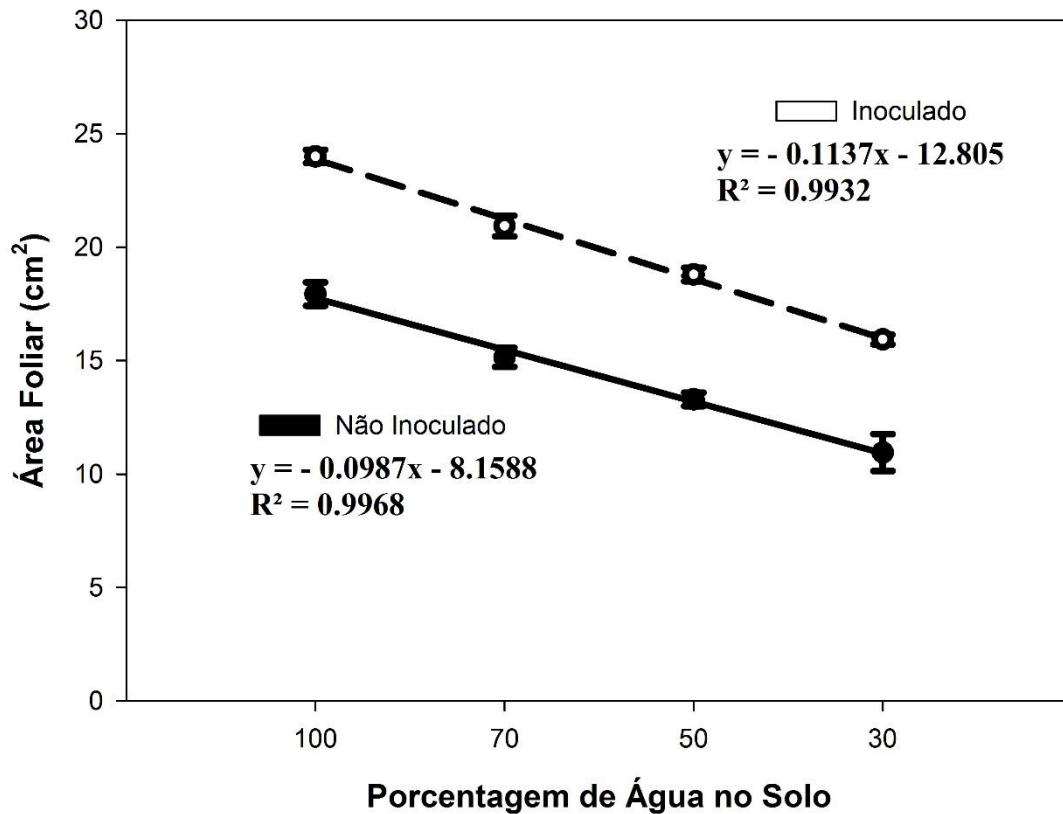
médias dos tratamentos dentro de cada nível. O tratamento inoculado obteve os melhores resultados em todos os níveis de restrição hídrica, em comparação ao tratamento não inoculado, com uma taxa de incremento em torno de 7 cm<sup>2</sup>.



**Figura 3.** Valores médios da área foliar de plantas de arroz vermelho que se desenvolveram sob duas condições de inoculação, não inoculado e inoculado. As médias seguidas de letras iguais, acima das barras, não diferem pelo teste Tukey, a 5 % de probabilidade, entre as condições de inoculação dentro de cada nível de porcentagem de água no solo.

Por meio da análise de regressão verificou-se a ocorrência de efeito significativo dos níveis de restrição hídrica, na área foliar das plantas de arroz vermelho, tanto inoculadas quanto não inoculadas (Figura 4). Houve uma relação negativa entre as variáveis estudadas, onde é possível perceber um comportamento linear decrescente dos valores da área foliar de plantas inoculadas e não inoculadas em função da diminuição da porcentagem de água no solo. Em concordância com os resultados, inferimos que quanto maior o nível de restrição hídrica menor será a área foliar das plantas para as duas condições de inoculação em questão, no entanto com

menores taxas de decréscimo para as plantas inoculadas em relação as não inoculadas, em uma magnitude de 10%.



**Figura 4.** Valores médios da área foliar de plantas de arroz vermelho, inoculadas e não inoculadas, em função de diferentes níveis de porcentagem de água no solo.

A diminuição da área foliar foi provavelmente resultado das modificações na morfologia da planta que ocorrem sob deficiência hídrica. Uma das principais respostas das plantas ao estresse hídrico são as alterações morfológicas com a diminuição da área foliar, reduzida pelo enrolamento das folhas e diminuição do crescimento (PIMENTEL, 2004), assim, a deficiência hídrica leva à perda de turgor inibindo o alongamento celular, bem como, impedindo a divisão celular (FAROOQ et al., 2009). A expansão foliar é controlada por muitos fatores, entre eles, o controle biofísico, relacionado com o fluxo de água para as células em crescimento, e o controle metabólico, relacionado com o fornecimento de carboidratos, destacam-se como grandes limitações para a expansão foliar (DALE, 1988; WALTER et al., 2009). Dessa forma, no início do déficit hídrico, o crescimento é mais afetado pela limitação de água do que pela fotossíntese,

tendo em vista que, em plantas estressadas ocorre o acúmulo de carboidratos, o que evidencia que a redução do crescimento não é consequência do déficit de carbono (MULLER et al., 2011).

Todos esse processo objetivam a economia de água pela planta em situações adversas, controlando a água que é perdida por transpiração, evitando a desidratação dos tecidos, no entanto, à longo prazo, acabam por afetar também os processos fotossintéticos, inibindo consequentemente o crescimento e desenvolvimento normal da planta.

A partir da análise dos dados é notório que a inoculação com a bactéria *G. diazotrophicus* promoveu maiores incrementos da área foliar. Provavelmente a bactéria agiu no sentido de atenuar os efeitos negativos provocados pelo estresse hídrico, conferindo manutenção da turgidez celular, por meio da produção e acumulação de osmoprotetores que mantêm o turgor celular através do equilíbrio da pressão osmótica. Vale salientar que os osmoprotetores são produzidos naturalmente pelas plantas sob estresse, entretanto, a produção conjunta com as bactérias promove melhores resultados na proteção contra o estresse. Assim, a primeira reação das plantas, ao serem submetidas à deficiência hídrica, é reduzir o potencial osmótico (com o acúmulo de osmoprotetores) e, consequentemente, hídrico das raízes, no intuito de gerar um gradiente de potencial capaz de promover a absorção de água, a partir do solo, mantendo um balanço hídrico positivo (GUIMARÃES et al., 2011).

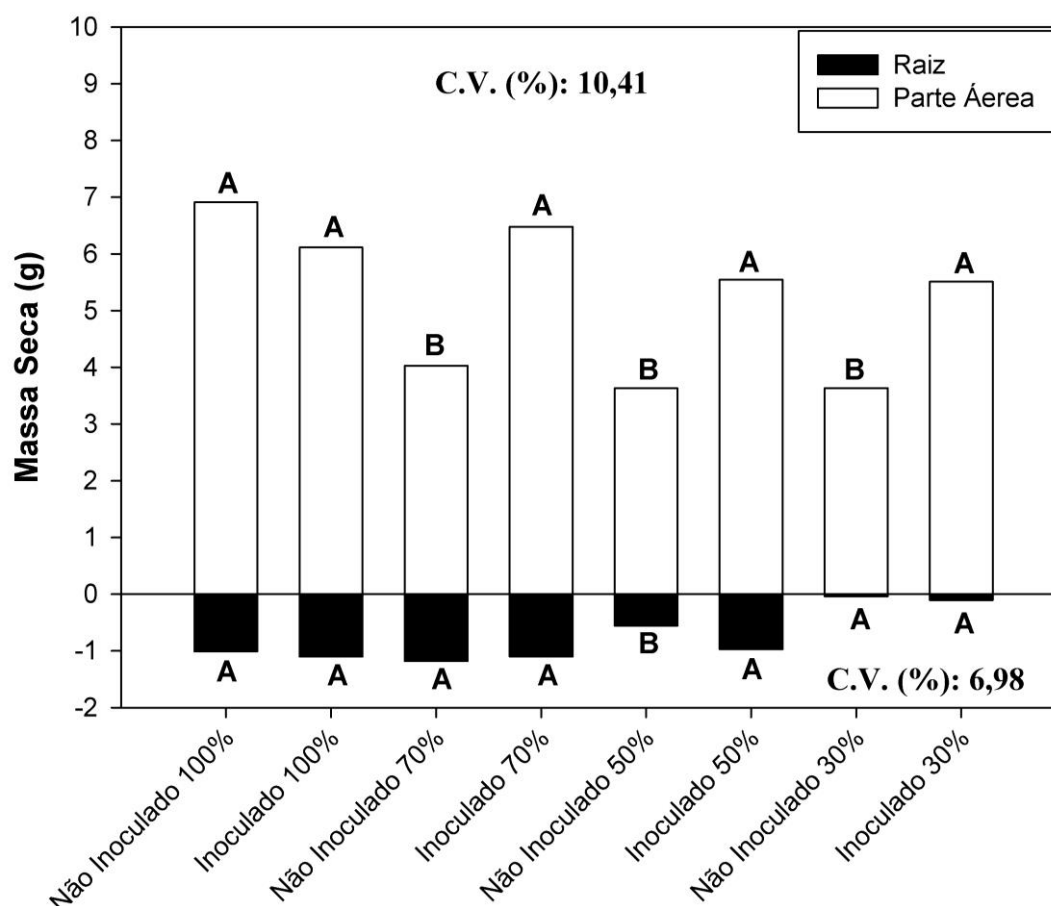
Além da manutenção da turgidez e consequentemente alongamento celular, a bactéria em questão é promotora de crescimento vegetal e para tanto utiliza mecanismos como FBN, solubilização de nutrientes do solo, biossíntese de fitormônios, que proporcionam o crescimento da planta mesmo na adversidade, tais mecanismos podem ter auxiliado no incremento da área foliar de plantas inoculadas mesmo sob estresse. Com maiores níveis de nitrogênio, possíveis pela fixação biológica pela bactéria, podem alterar a morfologia da planta promovendo aumento na área foliar e portanto maior capacidade fotossintética e crescimento, uma vez que, maior área foliar permite maior eficiência na absorção luminosa.

Em contrapartida estudos realizados por Dartora et al. (2013), avaliando plantas de milho inoculadas com as bactérias *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae*, que também são diazotróficas endofíticas, não verificaram efeito significativo da inoculação com as bactérias de forma isolada, quanto à área foliar, porém obtiveram resultados positivos com a inoculação conjunta das duas bactérias na produção e crescimento total da planta.

### 5.3.3 Massa seca das raízes e da parte aérea

As plantas tratadas com a bactéria endofítica *G. diazotrophicus* apresentaram maiores incremento de massa seca da parte aérea (MSPA) (folhas + colmos) em comparação com as plantas não inoculadas, dentro de cada nível de porcentagem de água no solo (Figura 5). Os resultados obtidos foram significativos dentro dos níveis 70, 50 e 30 % da capacidade de campo (CC), com melhores resultado à 70 % para a inoculação, e dentro de 100% para as plantas não inoculadas.

Com relação a massa seca da raiz (MSR) as plantas inoculadas e não inoculadas expressaram em média valores iguais, dentro de cada nível de restrição hídrica, havendo efeito significativo apenas para as plantas à 50 % da CC (Figura 5). Pode-se observar que os piores resultados para a MSR ocorreu nas plantas não inoculadas dentro do nível de 50 % da CC e nas plantas inoculadas e não inoculadas dentro do nível de 30 % da CC.



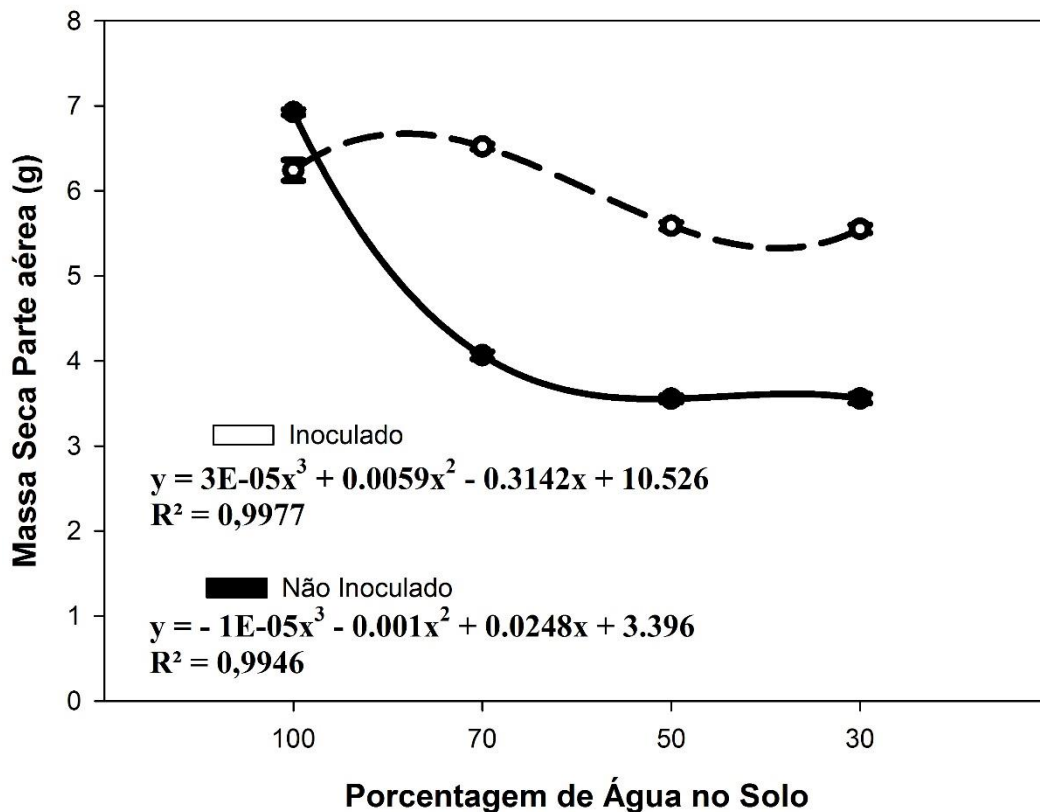
**Figura 5.** Valores médios da massa seca da parte aérea e massa seca de raiz de plantas de arroz vermelho, inoculadas e não inoculadas, sob diferentes condições de restrição hídrica. Médias seguidas de letras iguais, não diferem pelo teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ), entre as condições de inoculação dentro de cada nível de restrição hídrica.

É possível constatar que houve diferença significativa na massa seca da parte aérea de plantas de arroz vermelho, inoculadas e não inoculadas, em função da diminuição da porcentagem de água no solo, os dados foram avaliados por meio da análise de regressão (Figura 6). Os resultados ajustaram-se a um modelo polinomial cúbico, apresentado um coeficiente de determinação igual a 99,7 e 99,4% para as plantas inoculadas e não inoculadas respectivamente.

Para a variável resposta MSPA as plantas tratadas com a bactéria expressaram incremento máximo entre o nível 100 - 70 % da CC (35%), entretanto, ficou evidente a oscilação nos demais níveis de porcentagem de água no solo, quando obtiveram decréscimos da MSPA à 50 % da CC e depois retornaram a aumentar à 30% da CC. Fica evidenciado uma possível relação positiva, mas que pode ter ocorrido a interferência de outros fatores. Já as plantas não inoculadas, obtiveram incremento máximo da MSPA à 100 % da CC, e a partir desse ponto ocorreu

decréscimos, mantendo-se praticamente constante nos níveis de 70, 50 e 30 % da CC. Houve uma possível relação negativa entre as variáveis analisadas, entretanto outros fatores podem ter influenciado no comportamento da variável MSPA (Figura 6).

Não se pode afirmar com precisão, de que forma os diferentes níveis de porcentagem de água no solo influenciou a massa seca da parte aérea de plantas inoculadas e não inoculadas. Pode-se apenas inferir que nas plantas inoculadas, à medida que se aumentavam os níveis de restrição hídrica ocorreu uma tendência ao aumento da MSPA. O mesmo, só que de forma negativa, para as plantas não inoculadas, com o aumento dos níveis de restrição hídrica ocorreu uma tendência à redução da MSPA (Figura 6).

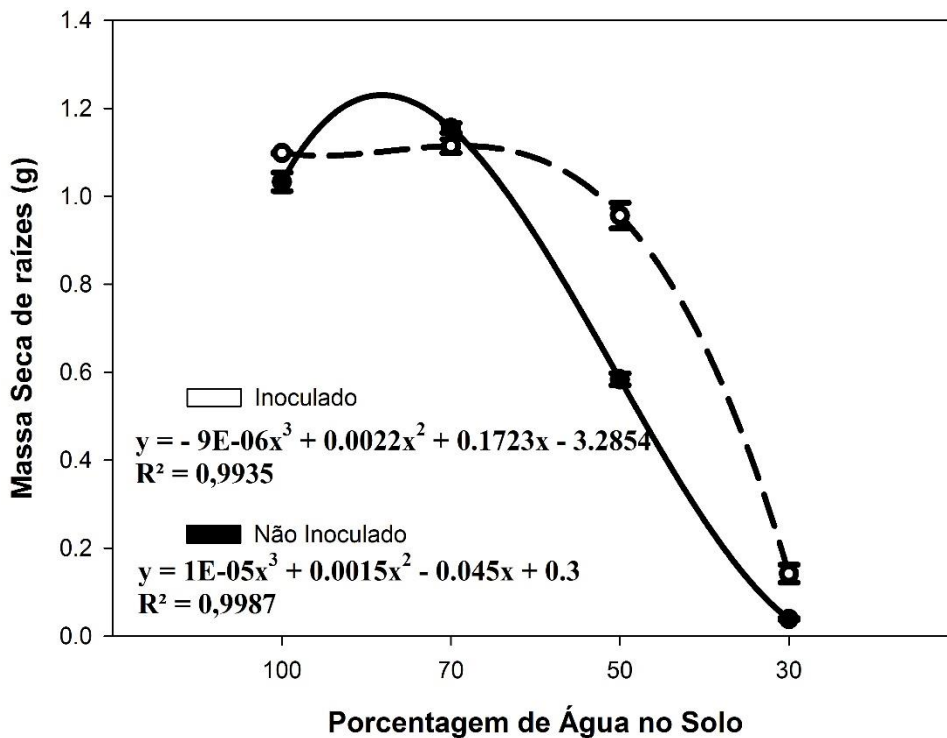


**Figura 6.** Massa seca da parte aérea (MSPA) (folhas + colmos) de planta de arroz vermelho, inoculadas e não inoculadas, em função de diferentes níveis de porcentagem de água no solo.

A partir da análise do gráfico (Figura 7) verifica-se a influência dos níveis de porcentagem de água no solo na variável resposta, massa seca das raízes (MSR), de plantas de

arroz vermelho, inoculadas e não inoculadas. Os resultados foram avaliados por meio da análise de regressão, e ajustaram-se a um modelo polinomial cúbico, apresentado um coeficiente de determinação igual a 99,3 e 99,8% para as plantas inoculadas e não inoculadas respectivamente, demonstrando que o modelo adotado é o que melhor se adéqua ao estudo.

As plantas inoculadas com a bactéria mantiveram praticamente constantes os valores para MSR, em função dos níveis de porcentagem de água no solo de 100 % até próximos à 50 % CC (1 g), à partir desse ponto houve relação negativa, com menores valores de MSR em relação ao aumento dos níveis de restrição hídrica no solo. Já as plantas não inoculadas expressaram incremento máximo de MSR entre os níveis 100 e 70 % da CC (0,8 g), à partir desse ponto também ocorreu relação negativa, com menores valores de MSR em relação ao aumento dos níveis de restrição hídrica no solo.



**Figura 7.** Massa seca de raízes (MSR) de plantas de arroz vermelho, inoculadas e não inoculadas, em função de diferentes níveis de porcentagem de água no solo.

O crescimento de todas as partes da planta é afetado negativamente, sob estresse hídrico (DUQUE e SETTER, 2013), em geral, ocorre regulação do crescimento, principalmente da parte

aérea com o objetivo de diminuir a superfície de evaporação. No entanto, pode haver maior desenvolvimento do sistema radicular como uma alternativa para melhor captação de água e nutrientes do solo. Em planta de arroz não é diferente, as principais características de tolerância à seca estão relacionadas a redução na área foliar (NGUYEN et al., 1997) e a habilidade das raízes em explorar camadas mais profundas do solo (UGA et al., 2013).

O crescimento e desenvolvimento vegetal é regulado por ação de diferentes fitormônios, dentre esses, o etileno é o principal, e pode também atuar em resposta aos estresses ambientais. Assim, as plantas sob estresse hídrico aumentam as concentrações endógenas desse fitormônio, o que interfere de maneira negativa no crescimento das raízes e consequentemente da planta (SHAHAROONA et al., 2006; SALEEM et al., 2007). Uma vez que as bactérias podem alterar o padrão de crescimento das plantas, interferindo no seu desenvolvimento (TSAVKELOVA et al., 2006), os efeitos deletérios do etileno, podem ter sido inibidos nas plantas inoculadas, pela ação da ACC deaminase, enzima bacteriana que regula a síntese do etileno, diminuindo seus níveis nas plantas (ARSHAD E FRANKENBERG, 2002; GLICK, 2005). Assim as plantas tratadas com bactérias que sintetizam a ACC deaminase pode ter relativamente maior crescimento radicular, resistindo melhor à tensões ambientais (ARSHAD et al. 2007). Tal efeito também pode influenciar facilitando a estimulação do crescimento das plantas por AIA tanto endógeno quanto o bacteriano, que atua nos processos de alongamento celular e na formação de raízes laterais e pêlos radiculares (BISWAS et al., 2000), proporcionando melhor absorção de água e nutrientes pela planta, bem como aumento da produção de massa seca.

No entanto, a inoculação não proporcionou maiores incrementos de massa seca da raiz nas plantas inoculadas sob estresse, esse efeito pode estar associado a utilização das reservas radiculares pelas bactérias para o seu próprio crescimento durante o período da deficiência hídrica, tendo em vista que as plantas liberam exsudatos para as bactérias em troca dos benefícios de promoção do crescimento, por ser uma associação de grande importância para as plantas. Provavelmente foi por esse motivo que não ocorreu maiores incrementos da MSR de plantas inoculadas em comparação com as não inoculadas sob estresse, as bactérias consumiram maior quantidade de exsudatos, o que não afetou negativamente o crescimento geral, já que os valores da MSPA foram significativamente maiores.

Contudo, é possível perceber que a bactéria *G. diazotrophicus* proporcionou às plantas inoculadas melhores resultados com relação ao incremento e/ou manutenção da massa seca da parte aérea e das raízes mesmo sob déficit hídrico, fazendo uso dos mecanismos de crescimento vegetal e indução da tolerância à estresses abióticos, para mitigar os efeitos negativos do estresse hídrico.



Estudos conduzidos por Guimarães et al. (2011), avaliando plantas de arroz de terras altas sob déficit hídrico, verificaram que a falta de água afetou negativamente diversos componentes de produção e crescimento das plantas, entre eles, redução na área foliar, biomassa da raiz e parte aérea, corroborando com os resultados apresentados nessa pesquisa.

Olivares et al. (2000) por meio de estudos com plantas de cana-de-açúcar micropropagadas inoculadas com estirpes selecionadas de bactérias diazotróficas, *G. diazotrophicus* e *H. seropedicae*, evidenciaram o potencial de promoção do crescimento dessas bactérias, constatando incrementos na biomassa radicular entre 50 e 350 % em relação ao controle não inoculado.

Pereira et al. (2013) testando a inoculação com bactérias diazotróficas individuais e em mistura, no acúmulo de massa fresca e seca de parte aérea de seis variedades comerciais de cana-de-açúcar. Entre as bactérias foram testadas estirpes de *Herbaspirillum*, *Gluconacetobacter* e *Burkholderia*. Os autores concluíram o estudo afirmando que a inoculação promoveu ganhos de biomassa, sendo a contribuição diferente entre as variedades e estirpes inoculadas, sugerindo uma interação entre estes fatores.

## **5.4 Análises ecofisiológicas**

### **5.4.1 Trocas gasosas**

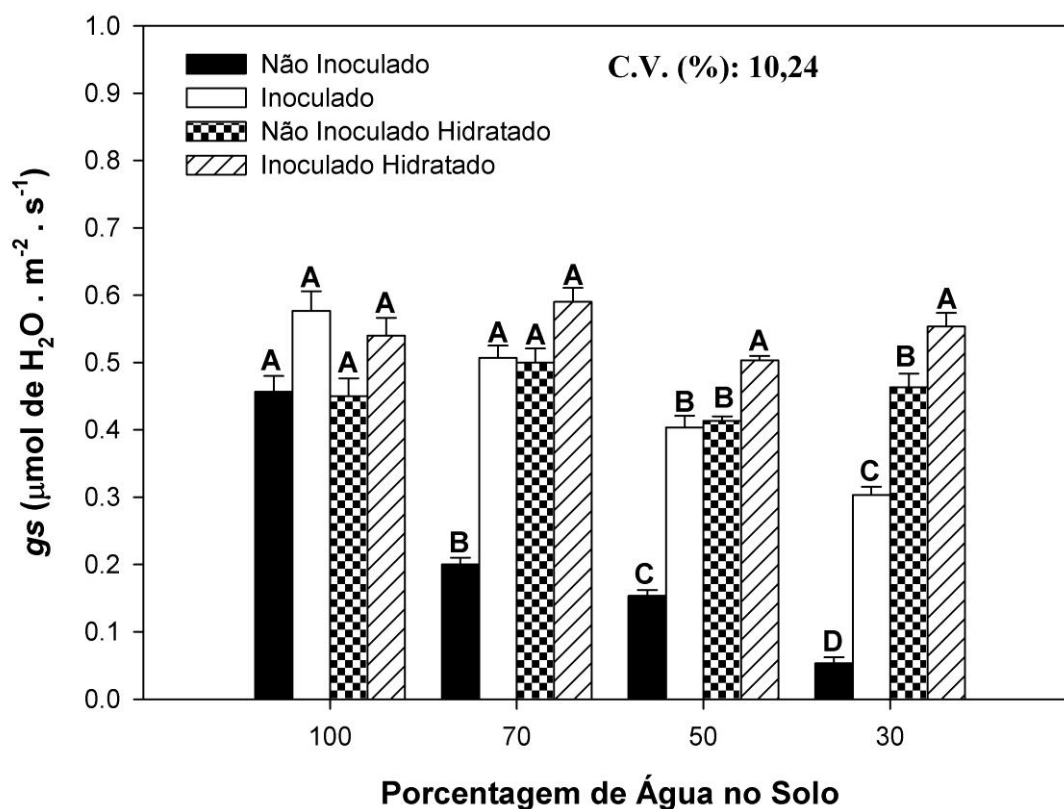
É essencial compreender como o potencial fotossintético pode ser afetado pela natureza, uma vez que a sensibilidade dos processos metabólicos determinam as respostas das plantas ao déficit hídrico, bem como, os processos necessários para evitar seus danos. Tais mecanismos de proteção, permitem que as plantas possam funcionar em termos de produtividade, reprodução e adequação ecológica em ambientes sob diversos balanços hídricos (LAWLOR, 2002). Para isso, a verificação das trocas gasosas constitui-se como uma importante ferramenta para a avaliação da atividade fotossintética, a qual é importante por determinar a adaptação e estabilidade de plantas submetidas a diferentes tensões ambientais, uma vez que a variação das taxas fotossintéticas implica em alterações de crescimento, bem como, da produtividade (PEIXOTO et al., 2002, PAIVA et al., 2005).

#### **5.4.1.1 Condutância estomática (gs)**

Foi avaliada a condutância estomática (gs) em plantas de arroz sob diferentes tratamentos dentro de cada nível de porcentagem de água no solo (Figura 8). Ao nível 100% da CC, as

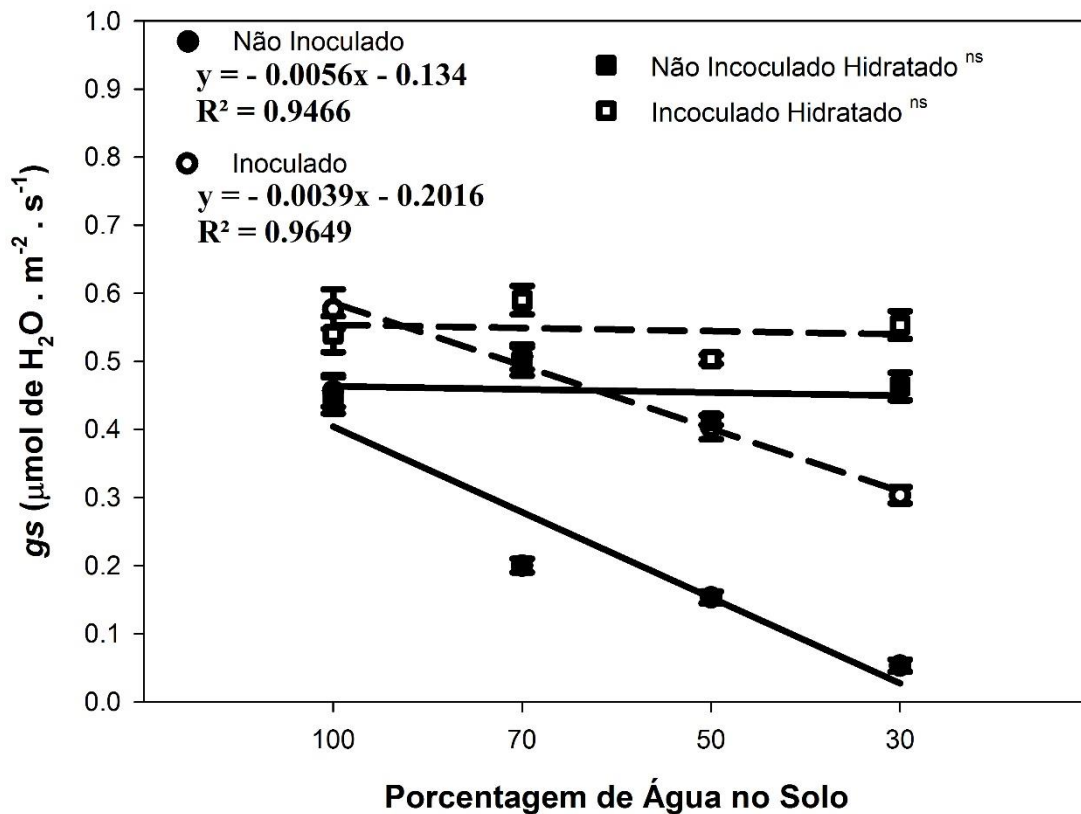
médias dos tratamentos não diferiram entre si, porém o tratamento inoculado promoveu maiores resultados. Houve diferenças significativas entre as médias dos tratamentos dentro dos níveis 70, 50 e 30 % da CC, nos quais foram verificados melhores resultados para o tratamento inoculado hidratado, com incrementos na taxa de condutância estomática, maiores que 100 % em relação ao não inoculado, onde foram verificados sempre os piores resultados de gs, bem como, o tratamento inoculado obteve valores médios consideravelmente mais elevados que o não inoculado, dentro de cada nível de água no solo, cerca de 50%. Vale salientar que essas considerações são a respeito das comparações entre as médias dos tratamentos entre si, dentro de cada nível de porcentagem de água no solo, separadamente, no entanto foram observados resultados semelhantes.

Pode-se inferir que a bactéria mitigou a situação de hidratação, quando comparamos as médias dos tratamentos inoculado e não inoculado hidratado, que são estatisticamente iguais, entre si, dentro dos níveis 70 e 50 % da CC, apenas ao nível 30 % onde o estresse foi mais severo, o inoculado obteve menores médias em relação ao não inoculado hidratado. Assim, a bactéria foi eficiente em aumentar os níveis de gs nas plantas inoculadas e inoculadas hidratadas quando comparadas as suas testemunhas.



**Figura 8.** Efeito dos diferentes tratamentos, não inoculado, inoculado, não inoculado hidratado, inoculado hidratado, na condutância estomática ( $gs$ ) ( $\mu\text{mol de H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) de plantas de arroz vermelho, dentro de cada nível de restrição hídrica. As barras indicam o desvio padrão da média. Médias seguidas de letras iguais, não diferem pelo teste de Tukey à 5 % de probabilidade.

As plantas que foram submetidas a hidratação após o período de estresse hídrico, ao serem avaliadas, as médias de condutância estomática para os tratamentos inoculado hidratado e não inoculado hidratados, não foram significativas, uma vez que estas não estavam mais sob a influência das restrições hídricas (Figura 9). Ainda, por meio da análise de regressão verifica-se a ocorrência de efeito significativo dos níveis de restrição hídrica, na condutância estomática de plantas de arroz vermelho inoculadas e não inoculadas, ainda sob estresse (Figura 9). A resposta da condutância estomática em função da diminuição da porcentagem de água no solo foi a mesma para os dois tratamentos avaliados, inoculado e não inoculado, com um comportamento linear decrescente, ocorrendo diminuição da  $gs$  em função do aumento dos níveis de restrição hídrica, com taxas máximas de  $gs$  à 100 % da CC e mínimas à 30 % da CC. No entanto, menores taxas de decréscimo para as plantas inoculadas em relação as não inoculadas 5x a menos, podem ser observadas.



**Figura 9.** Condutância estomática (gs) de plantas de arroz vermelho, não inoculadas, inoculadas, não inoculadas hidratadas e inoculadas hidratadas, em função de diferentes níveis de porcentagem de água no solo. NS = não significativo.

A partir dos dados obtidos neste trabalho, é possível concluir que, a condutância estomática foi influenciada negativamente pela deficiência hídrica, tanto em plantas de arroz não inoculadas quanto inoculadas. No entanto, a colonização pela bactéria endofítica *G diazotrophicus*, interferiu de maneira positiva na resposta das plantas estressadas quanto à gs, assim, pode-se sugerir que as plantas inoculadas se sobressaíram em comparação com as não inoculadas à deficiência hídrica.

Diversas condições ambientais influenciam os movimentos de abertura e fechamento estomáticos, tais como intensidade luminosa, umidade relativa do ar, concentração de CO<sub>2</sub>, bem como a ocorrência de estresses abióticos, como o estresse hídrico (desidratação) (UNDERWOOD et al., 2007). Dessa forma, em casos de baixa disponibilidade hídrica no solo, ocorre o fechamento estomático, como forma de evitar a perda de água por transpiração, por meio de alterações de pressão de turgescência das células guarda, ou por ação do fitormônio

ácido abscísico (ABA). Esse hormônio vegetal é produzido nas raízes e transportado via xilema para as células guarda (TARDIEU et al., 2010). A síntese do ABA é uma resposta universal das plantas à seca, e provoca o fechamento estomático e conseqüentemente a diminuição da perda de água por transpiração, entretanto essa adaptação para a sobrevivência reduz invariavelmente a fotossíntese, produtividade e enchimento de grãos (RAGHAVENDRA et al., 2010), uma vez que, é por meio da abertura estomática que também ocorre a difusão do CO<sub>2</sub>, substrato básico do processo fotossintéticos. O ABA é, portanto, considerado um importante regulador da adaptação das plantas à estresses ambientais. Provavelmente esse fato motivou um decréscimo da gs em plantas sob estresse e sobretudo não inoculadas.

As investigações de como o estresse hídrico afeta a planta revelou um equilíbrio hormonal entre os fitormônios ABA e citocininas (FIGUEIREDO, et al.; 2008). Tem se evidenciado que estes hormônios exercem atividades antagonistas em determinados processos fisiológicos e de crescimento, bem como, nos processos de adaptação das plantas à estresses ambientais (ZDUNEK e LIPS, 2001; CHANG et al., 2003; CHOW e MCCOURT, 2004; WERNER et al., 2006). Assim, quando as plantas estão expostas ao estresse, o acúmulo de ABA auxilia as plantas a evitarem o estresse por vários mecanismos, por outro lado, as citocininas ativam respostas para retardar tanto o fechamento estomático como a senescência foliar (FINKELSTEIN et al., 2002; HANSEN e DÖRFFLING, 2003; POSPISILOVA, 2003; CHOW e MCCOURT, 2004; POSPISILOVA e BATKOVA, 2004; POSPISILOVA et al., 2005).

Mas o que se observa normalmente em situações de estresse por seca, são elevadas concentrações do fitormônio ABA e diminuições drásticas dos níveis de citocininas, devido a inibição da síntese e aceleração da degradação desse hormônio, reduzindo seus níveis em raiz e parte aérea das plantas sob tensões ambientais (KUDOYAROVA et al., 2007; NISHIYAMA et al., 2011). No entanto, com o objetivo de reverter essa situação, a aplicação de citocininas exógenas, bem como mecanismos que promovam uma maior biossíntese, é uma alternativa que pode contribuir para aumentar a abertura estomática e conseqüentemente a transpiração de muitas plantas (DAVIES e ZHANG, 1991; POSPISILOVA e BATKOVA, 2004; POSPISILOVA et al., 2005).

A inibição do fechamento estomático em plantas inoculadas e expostas ao déficit hídrico, promovida pelo endófito *G. diazotrophicus*, observada neste estudo, pode ser explicada, devido à prováveis alterações na concentração hormonal da planta, mediada por este microrganismo, as quais acarretaram em mudanças fisiológicas. É sabido que as bactérias promotoras de crescimento vegetal sintetizam hormônios, tais como AIA, giberelinas, citocininas, entre outros, que mimetizam os efeitos dos hormônios endógenos vegetais, com o objetivo de modular o

balanço hormonal da planta, a fim de reprimir as respostas de defesa à estresses ambientais (ROBERT-SEILANIANTZ et al., 2007).

Neste sentido, a bactéria endofítica *G. diazotrophicus*, pode ter modificado a relação entre o ABA nos estômatos, causando diminuição da concentração de ABA ou aumento da concentração de citocininas, biossintetizadas por esta bactéria, alterando essa sinalização hormonal e com isso garantindo a manutenção da abertura estomática (COHEN et al., 2008). Tendo como consequência, maior disponibilidade de CO<sub>2</sub> para as plantas tratadas com a bactéria.

Em estudos conduzidos por Figueiredo et al. (2008) ao avaliar os efeitos do estresse hídrico em concentrações de fitormônios, ABA, AIA, ácido giberélico (GA3) e citocininas em tecidos de plantas de feijão submetidos a diferentes níveis de estresse hídrico, verificaram que o estresse provoca uma alteração no equilíbrio hormonal, incluindo aumento do conteúdo de ABA, um pequeno declínio nos níveis de AIA e GA3 e uma queda acentuada no conteúdo de citocininas nas folhas de feijoeiro. Eles concluem dizendo que, a concentração endógena de citocininas foi a mais afetada pelo estresse hídrico, o que amplificou a resposta nas folhas com aumento do conteúdo de ABA.

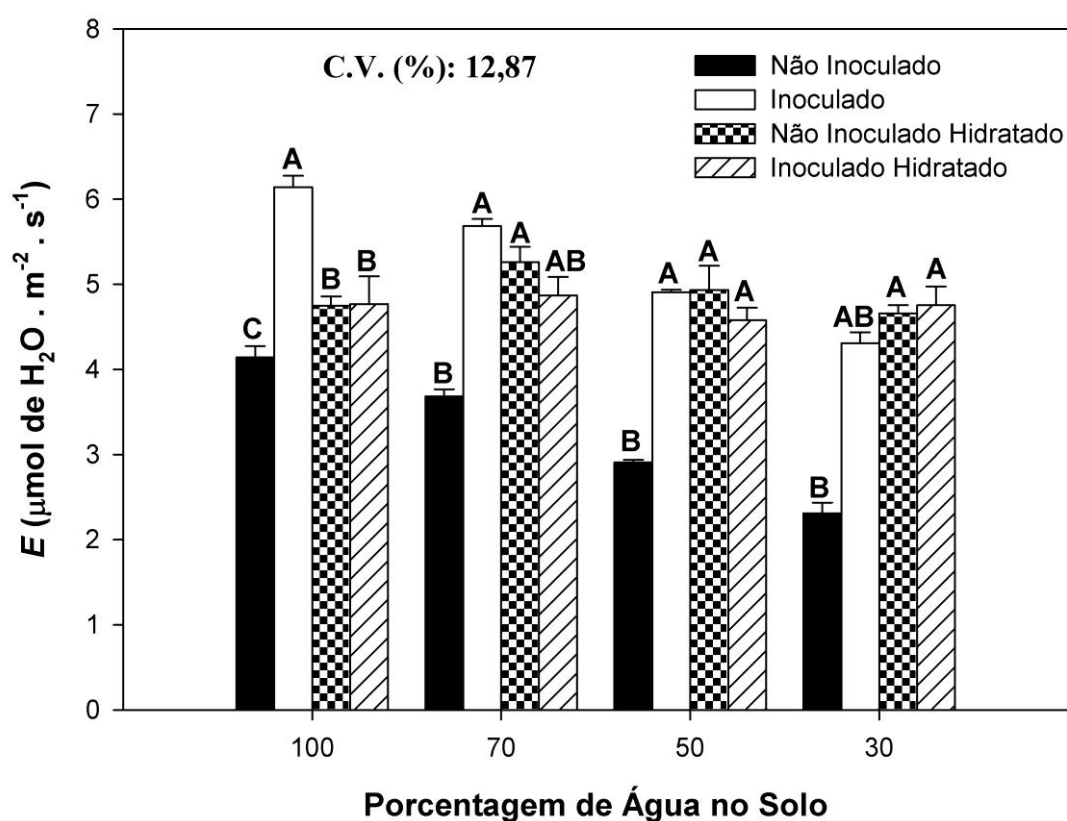
Os baixos valores de gs não são considerados como uma solução ideal, a longo prazo, para o déficit hídrico, a menos que haja ajustes em todos os aspectos dos mecanismos, no sentido de lidar com o excesso de energia e com o desequilíbrio entre oferta e demanda de fotoassimilados e consequentemente crescimento de órgãos (LAWLOR e TEZARA, 2009).

#### **5.4.1.2 Transpiração (E)**

Na avaliação da taxa de transpiração (E) em plantas de arroz vermelho sob diferentes tratamentos, não inoculado, inoculado, não inoculado hidratado e inoculado hidratado, dentro de cada nível de porcentagem de água no solo, foram verificados efeitos significativos, onde as médias dos tratamentos diferiram entre si (Figura 10). Assim, é possível determinar os tratamentos que permitiram maiores e menores resultados para a taxa de transpiração, nesse estudo. Analisando a figura 10, verifica-se que o tratamento inoculado obteve os valores médios mais altos para a taxa de transpiração dentro de cada nível à 100, 70 e 50 % da CC, ao nível 30 % esse comportamento foi observado para tratamento inoculado hidratado, mesmo não havendo diferença significativa entre eles. Dentro desses mesmos níveis de água no solo, as menores taxas de transpiração foram as referente aos tratamento não inoculados, com valores de incremento de 40, 32 e 45%, respectivamente.

Curiosamente, as médias dos tratamentos ao nível 100% da CC foram diferentes entre si, no entanto, não eram esperadas diferenças significativas, uma vez que as plantas dentro desse nível de água no solo, não estavam sob déficit hídrico, onde as médias dos tratamentos após a hidratação foram estatisticamente iguais entre si, e menores em comparação com o tratamento inoculado.

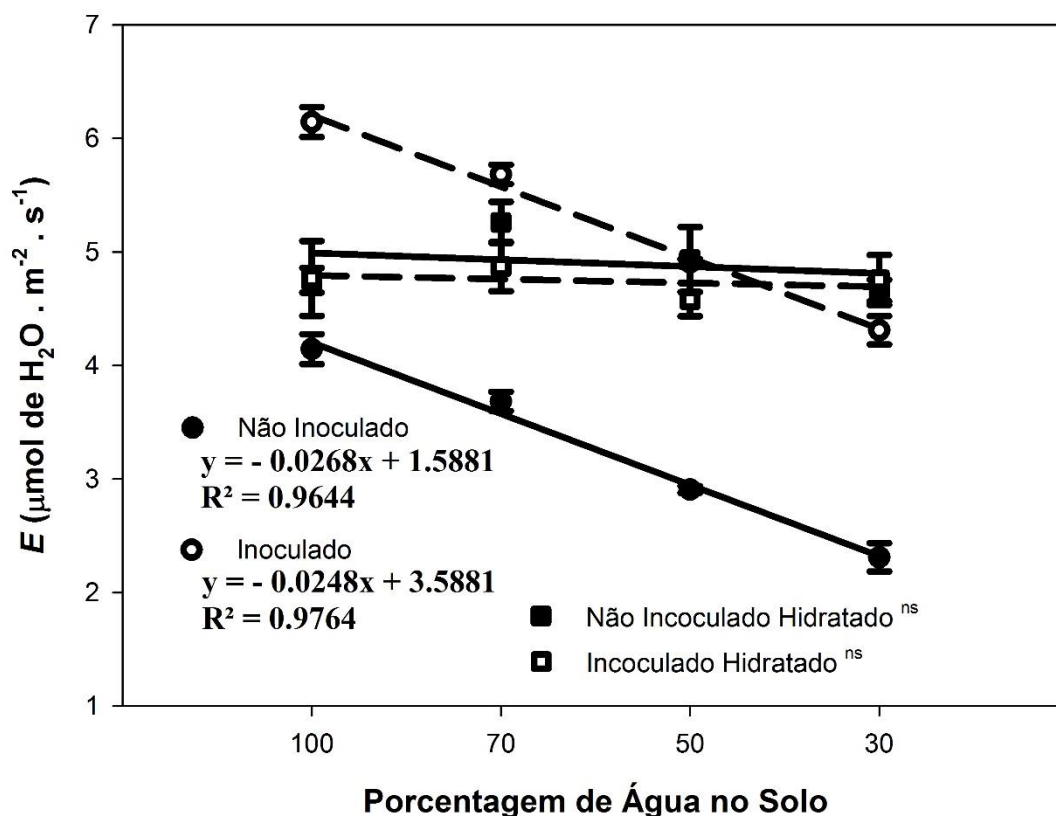
Assim, as plantas tratadas com o endófito apresentaram valores maiores (ou iguais) para a taxa de transpiração do que os tratamentos hidratados, que por sua vez foram maiores que as médias do tratamento não inoculado, dentro de cada nível de água no solo (Figura 9).



**Figura 10.** Efeito dos diferentes tratamentos, não inoculado, inoculado, não inoculado hidratado, inoculado hidratado, na transpiração ( $E$ ) ( $\mu\text{mol de H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) de plantas de arroz vermelho, dentro de cada nível de restrição hídrica. As barras indicam o desvio padrão da média. Médias seguidas de letras iguais, não diferem pelo teste de Tukey à 5 % de probabilidade.

Igualmente a análise anterior, as plantas que foram submetidas a hidratação após o período de estresse hídrico, ao serem avaliadas as médias de transpiração para os tratamentos inoculado hidratado e não inoculado hidratado, não foram observadas diferenças significativas, devido a estas plantas não estarem mais sob influência da restrição hídrica (Figura 11). Em contrapartida, foi verificado efeito significativo dos diferentes níveis de água no solo nas médias de transpiração de plantas de arroz vermelho inoculadas e não inoculadas. Os resultados ajustaram-se a um modelo linear com um comportamento decrescente da reta (Figura 11). Assim, pode-se dizer que quanto maior o nível de restrição hídrica menor a taxa de transpiração de plantas de arroz vermelho inoculadas e não inoculadas. A bactéria, no entanto, promove menor taxa de decréscimo da transpiração (25%) em plantas inoculadas em comparação com o tratamento controle.





**Figura 11.** Transpiração ( $E$ ) ( $\mu\text{mol de H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) de plantas de arroz vermelho, não inoculadas, inoculadas, não inoculadas hidratadas e inoculadas hidratadas, em função de diferentes níveis de porcentagem de água no solo. NS = não significativo.

Da mesma maneira que a condutância estomática, conclui-se que a taxa de transpiração também foi afetada pela deficiência hídrica. Uma vez que a transpiração é regulada pela abertura e fechamento estomáticos, os resultados obtidos nesta avaliação, encontram-se de acordo com os expostos para a variável condutância estomática. Dessa forma, a taxa de transpiração foi mais elevada nas plantas inoculadas, as quais apresentaram maior  $g_s$ . O mesmo pode ser observado para as plantas não inoculadas, onde a condutância estomática diminuiu levando à redução da taxa de transpiração.

A transpiração é uma forma eficiente de dissipar o calor proveniente do sol. As folhas diretamente expostas à radiação solar apresentam maior temperatura e, portanto, maior diferença de pressão de vapor entre folha e o meio externo (ANGELOCCI et al., 2004), favorecendo dessa forma um aumento na taxa de transpiração. Entretanto, em condições de estresse hídrico ocorre um aumento da resistência difusiva ao vapor de água mediante o fechamento dos estômatos, o

que reduz a transpiração e conseqüentemente o suprimento de CO<sub>2</sub> (SHINOZAKI e YAMAGUCHI-SHINOZAKI, 2007). Em condições normais de água no solo, a abertura estomática é dependente do estado hídrico da folha e da demanda evaporativa da atmosfera (ANGELOCCI et al., 2004).

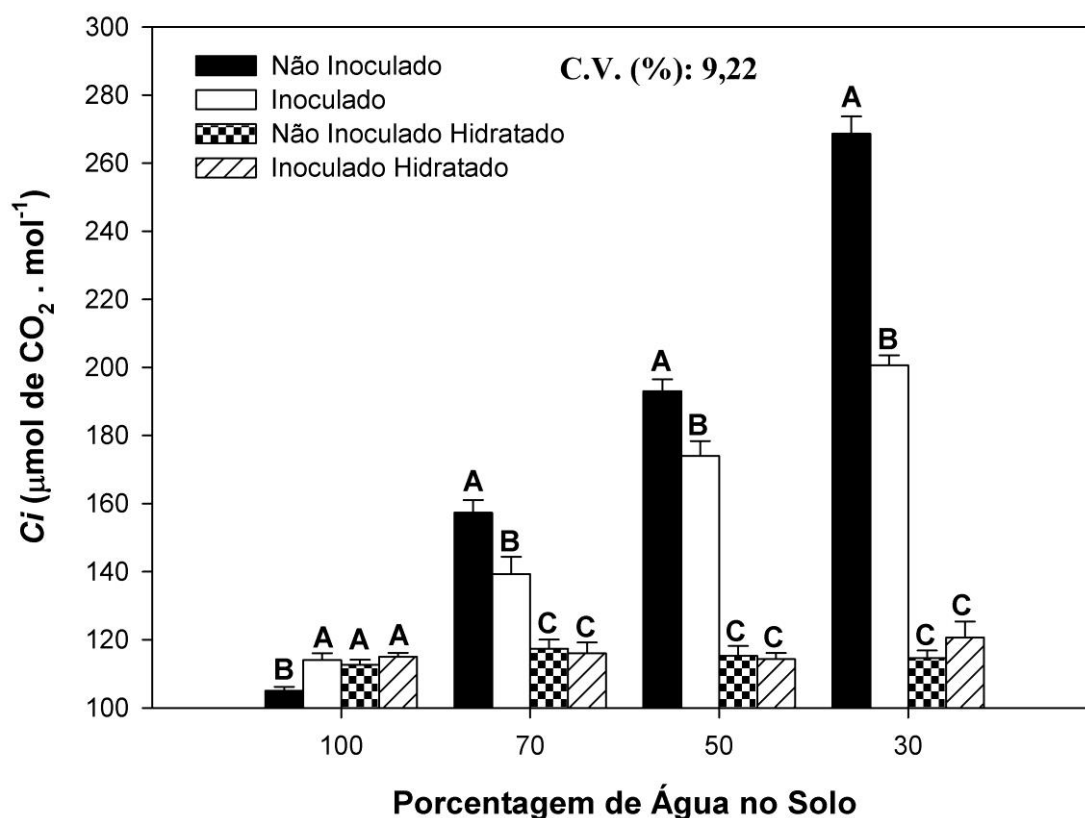
A resistência estomática regula a perda de água, que está associada à difusão de gases pela abertura do estômato (ostíolo/fenda estomática). Dessa forma, quando a água não for um fator limitante, ocorre a regulação temporal da abertura estomática, abertos durante o dia e fechados durante a noite. Quando a água torna-se um fator limitante e sua disponibilidade no solo está reduzida, os estômatos abrem menos ou até permanecem fechados, evitando a desidratação (TAIZ e ZEIGER, 2013), com a redução das taxas de transpiração.

As plantas também podem controlar a perda de água por transpiração, reduzindo a área foliar e prevenindo a desidratação dos tecidos, em resposta ao estresse hídrico. Resultados obtidos por meio da avaliação da área foliar de plantas de arroz vermelho inoculadas e não inoculadas submetidas à diferentes níveis de estresse hídrico, neste estudo, corroboram com os resultados aqui apresentados, quando houve diminuição da área foliar em plantas não inoculadas estressadas, sendo os mesmos tratamentos onde ocorreu redução da transpiração e da condutância estomática.

Assim, concluímos que quanto maior é a limitação da condutância estomática, menor é a taxa de transpiração, a fim de promover o aumento da tolerância das plantas ao estresse hídrico.

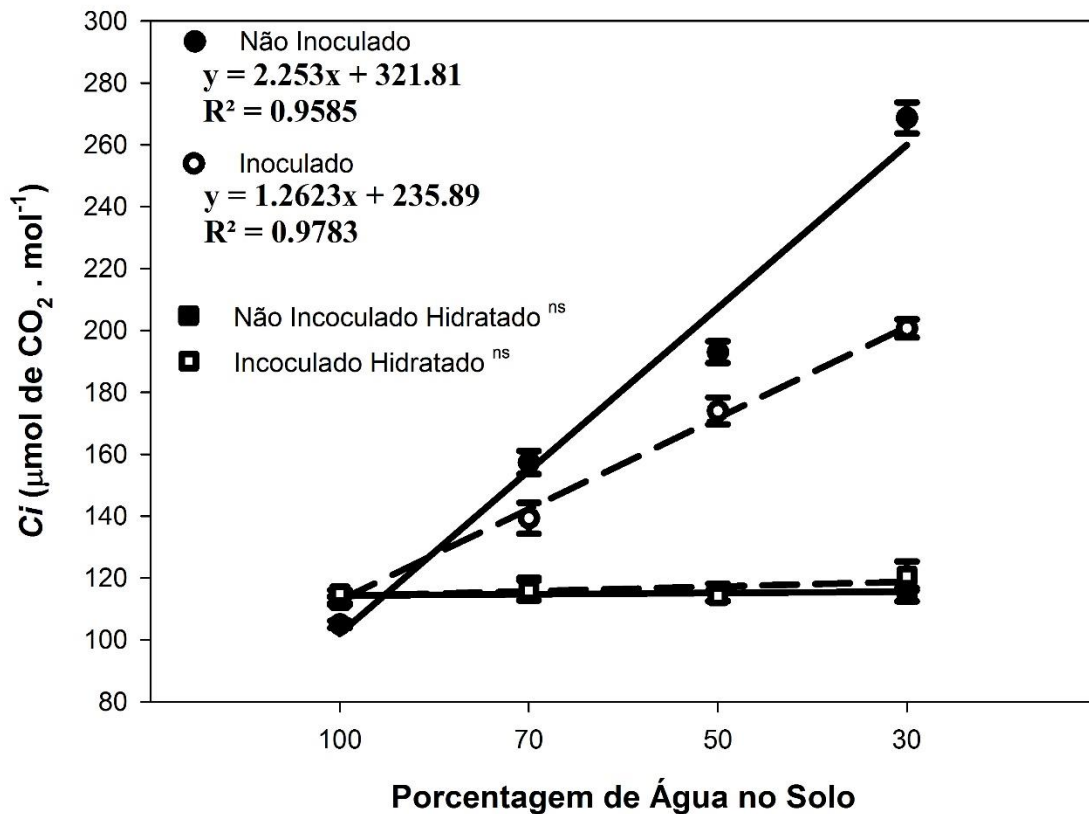
#### **5.4.1.3 Concentração de carbono interno (Ci)**

Para a análise das médias da variável concentração de carbono interno (Ci), foi verificado efeito significativo dos tratamentos dentro de cada nível de porcentagem de água no solo (Figura 12). Com maior acúmulo de Ci principalmente nos tratamentos não inoculado seguidos do inoculado, dentro dos níveis de 70, 50 e 30% da CC, com maiores incrementos na taxa de Ci à 30% da CC para o tratamento não inoculado (272 mmol de CO<sub>2</sub>. mol<sup>-1</sup>) onde o estresse foi mais severo. Ao nível 100% da CC não houve acúmulo de grandes concentrações de carbono interno, havendo diferença significativa entre os tratamentos, com menores taxas de acúmulo no tratamento não inoculado. Dentro de cada nível de água no solo (70, 50 e 30% da CC) o tratamento inoculado favoreceu ao maior acúmulo de Ci em comparação com os tratamentos não inoculado hidratado e inoculado hidratado, nos quais foram verificados os menores acúmulos de Ci.



**Figura 12.** Efeito de diferentes tratamentos, na concentração de carbono interno (Ci) ( $\mu\text{mol de CO}_2 \cdot \text{mol}^{-1}$ ) em plantas de arroz vermelho, dentro de cada nível de restrição hídrica. As barras indicam o desvio padrão da média. Médias seguidas de letras iguais, não diferem pelo teste de Tukey à 5 % de probabilidade.

Foi verificado efeito significativo dos diferentes níveis de porcentagem de água no solo na concentração de Ci de plantas de arroz vermelho inoculadas e não inoculadas (Figura 13). O que não foi verificado para os tratamentos hidratados, onde os diferentes níveis de água no solo não influenciou na concentração de Ci dessas plantas. As médias ajustaram-se a um modelo linear, com um comportamento crescente da reta, assim, pode-se dizer que a medida que se aumentavam os níveis de restrição hídrica aumentava-se a concentração de carbono interno. Fica evidenciado no gráfico (Figura 13), que as plantas não inoculadas obtiveram maior incremento (48%) em comparação com as plantas inoculadas.



**Figura 13.** Concentração de carbono interno (Ci) ( $\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-1}$ ) de plantas de arroz vermelho, não inoculadas, inoculadas, não inoculadas hidratadas e inoculadas hidratadas, em função de diferentes níveis de porcentagem de água no solo. NS = não significativo.

Na avaliação da concentração de carbono interno (Ci) é possível concluir que o déficit hídrico influenciou nesta variável, bem como, houve um acúmulo demasiado de carbono interno por parte das plantas de arroz vermelho não inoculadas, e também do arroz vermelho tratado com a bactéria, só que em menores taxas. Em concordância com os resultados anteriores, era esperado justamente o oposto, devido à redução na condutância estomática e na taxa de transpiração, onde nessas condições ocorre menor influxo de  $\text{CO}_2$  para as células da folha (cloroplasto) com posterior diminuição das taxas fotossintética e de crescimento, consequentemente. Reforçando esta ideia, Ometto et al. (2003), afirma que a Ci é influenciada por fatores que reduzem o influxo de  $\text{CO}_2$  para o espaço interno das folhas, devido a redução da condutância estomática, provocada por fatores ambientais.

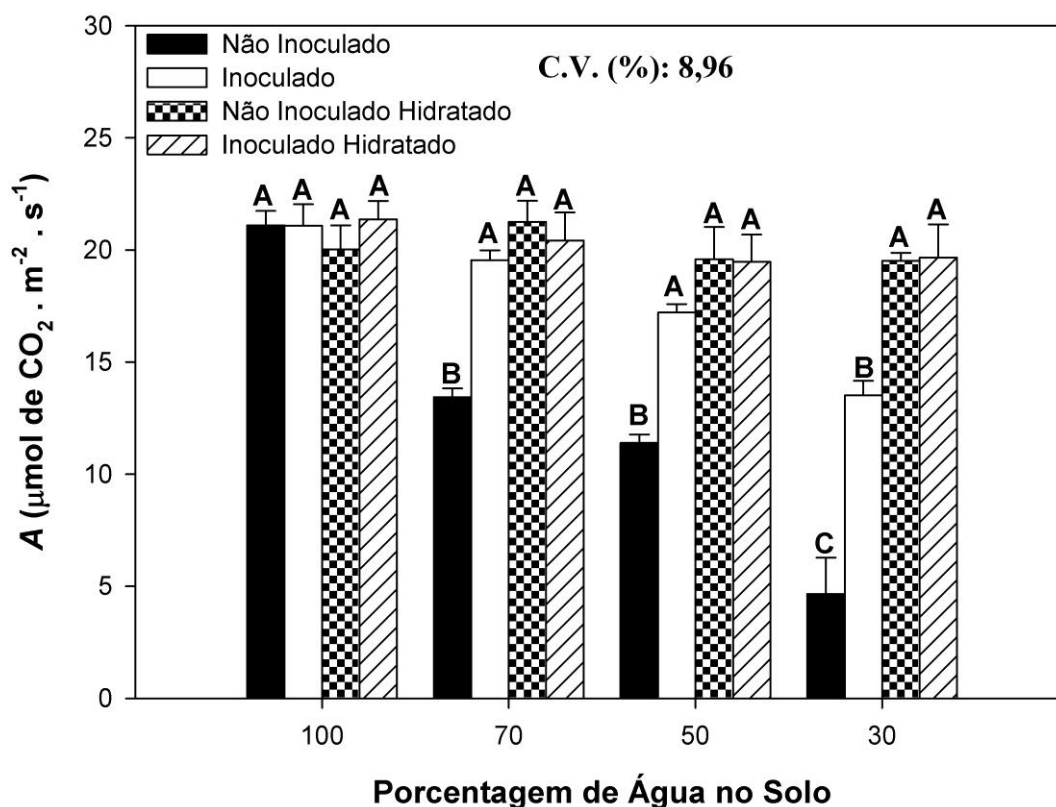
Uma provável explicação para o fato de que as plantas de arroz vermelho não inoculadas, mesmo com baixos índices de  $g_s$ , apresentaram elevadas concentrações de Ci, seria devido ao

fechamento apenas parcial dos estômatos, o que permitiria a difusão do CO<sub>2</sub> atmosférico para as células da folha, sem, no entanto, haver a difusão de vapores de água para a atmosfera. Garantindo, dessa forma, a assimilação do CO<sub>2</sub> e evitando a desidratação dos tecidos. Esse fato pode ter ocorrido pelo fato de que baixos valores de C<sub>i</sub> também estimulam a abertura estomática para permitir a entrada de CO<sub>2</sub>, resultando em maior equilíbrio entre entrada e saída desse gás (MACHADO et al., 2009).

Entretanto, além da maior difusão do CO<sub>2</sub>, o fato é que este carbono está acumulado intercelularmente, o que significa que o mesmo não está sendo devidamente utilizado nos processos fotossintéticos. Para isso Machado et al. (1999) sugerem que o aumento de C<sub>i</sub>, pode estar relacionado à queda na atividade de enzimas envolvidas no processo de fixação do CO<sub>2</sub>. E Larcher, 2006 vem a confirmar, quando afirma que os valores considerados elevados na C<sub>i</sub> no interior das folhas, indica que o CO<sub>2</sub> não está sendo utilizado para a síntese de açúcares pelo processo fotossintético, com acúmulo desse gás, indicando que algum fator não estomático estaria interferindo nesses processo.

#### **5.4.1.4 Fotossíntese líquida (A)**

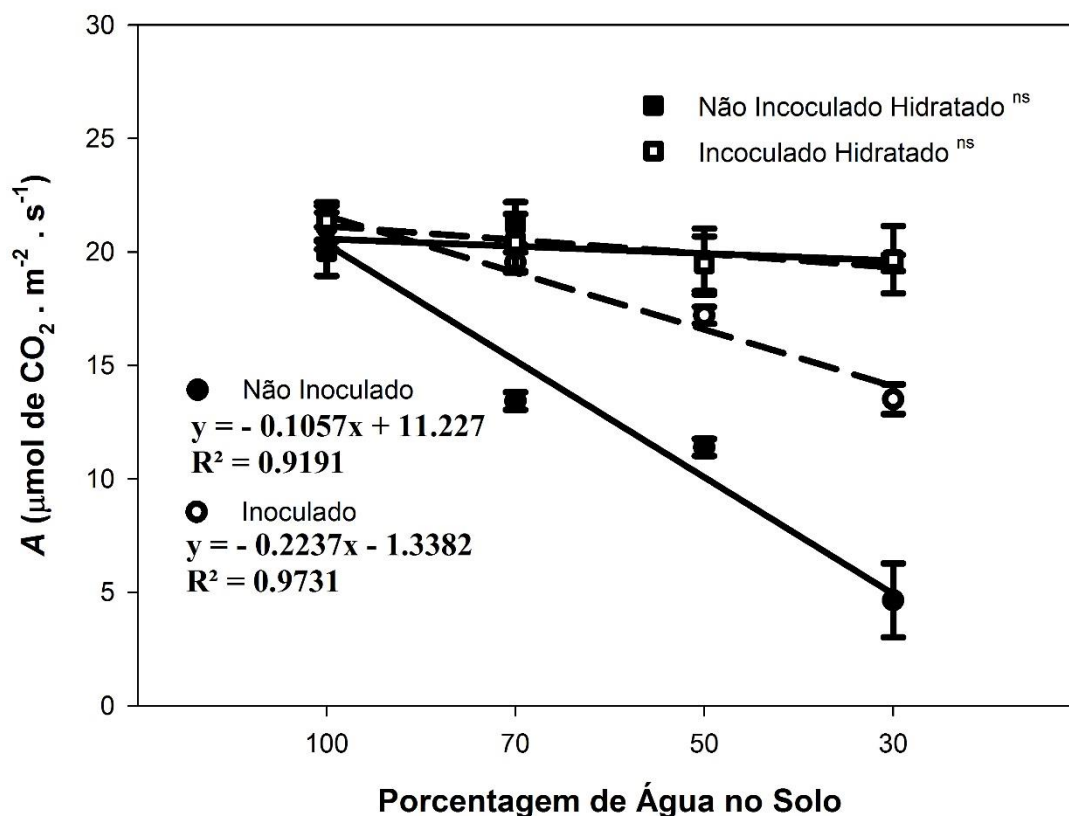
Foi avaliada a fotossíntese líquida (A) em plantas de arroz vermelho sob diferentes tratamentos dentro de cada nível de porcentagem de água no solo. Os resultados demonstraram que não houve diferença significativa entre as médias dos tratamentos ao nível de 100% da CC, o que não ocorreu para os demais (70, 50 e 30 % da CC), onde foram verificadas médias diferentes entre si (Figura 14). Os tratamentos não inoculados obtiveram os piores resultados para a fotossíntese líquida, dentro dos níveis 70, 50 e 30% da CC, nos quais o tratamento inoculado se sobressaiu em comparação com o não inoculado, nos teores de A. Os tratamentos não inoculados hidratado e inoculados hidratado obtiveram valores médios estatisticamente iguais entre si dentro de todos os níveis analisados, bem como, maiores quando comparados ao não inoculado e inoculado, com incrementos de 4x a mais.



**Figura 14.** Efeito de diferentes tratamentos, na fotossíntese líquida (A) em plantas de arroz vermelho, dentro de cada nível de restrição hídrica. As barras indicam o desvio padrão da média. Médias seguidas de letras iguais, não diferem pelo teste de Tukey à 5 % de probabilidade.

Os diferentes níveis de restrição hídrica influenciou negativamente a fotossíntese líquida de plantas de arroz vermelho inoculadas e não inoculadas, onde a partir da análise do gráfico (Figura 15) pode-se contatar esse efeito significativo. Os dados foram avaliados por meio da análise de regressão e os resultados obtidos ajustaram-se a um modelo linear, com um comportamento decrescente da reta, o que permite-se dizer que ocorreu diminuição da taxa de fotossíntese líquida em função do aumento dos níveis de restrição hídrica. O que também pode ser observado é que as plantas inoculadas obtiveram menores decréscimos de A, 3x menos, em relação ao não inoculado. Com taxas máximas de A à 100 % da CC e mínimas à 30 % da CC.

As plantas que foram submetidas a hidratação após o período de estresse hídrico, referente aos tratamentos não inoculado hidratado e inoculado hidratado, ao serem avaliadas as médias de fotossíntese líquida, não foram observados efeitos significativos em função da porcentagem de água no solo, uma vez que as mesmas não estavam mais sob a influência das restrições hídricas (Figura 15).



**Figura 15.** Fotossíntese líquida (A) de plantas de arroz vermelho, não inoculadas, inoculadas, não inoculadas hidratadas e inoculadas hidratadas, em função de diferentes níveis de porcentagem de água no solo. NS = não significativo.

De acordo com os resultados obtidos nesta avaliação, fica evidente que o estresse hídrico interfere diretamente na fotossíntese. Esperava-se da fotossíntese líquida, levando em consideração que o carbono é o substrato básico para a fotossíntese, que as plantas de arroz vermelho não inoculadas (as quais obtiveram as taxas mais elevadas de  $C_i$ ) apresentassem maiores taxas de A. Mas, de acordo com o que já foi reportado anteriormente, as altas taxas de  $C_i$ , revelam que algum problema está afetando o aparelho fotossintético, impedindo o seu funcionamento normal. A avaliação para a fotossíntese líquida revelou diminuição das taxas de A para as plantas de arroz não inoculadas e também inoculadas, sendo estas últimas menos afetadas pelo déficit hídrico, observa-se, portanto, que o endófito promoveu incrementos na A em plantas sob estresse.

Como já foi bastante discutido até agora, a deficiência hídrica leva invariavelmente a redução da fotossíntese e um dos principais motivos, está em haver um decréscimo da difusão de

CO<sub>2</sub> da atmosfera até o sítio de carboxilação nas células das folhas (CHAVES et al., 2009; PINHEIRO e CHAVES, 2011), provocado por meio da resistência estomática. Além da resistência estomática, outros fatores não estomáticos, podem ser atribuídos a inibição da fotossíntese, tais como problemas relacionados às alterações na maquinaria fotoquímica, como degradação de clorofilas, redução da atividade e concentração da Rubisco (Ribulose 1-5 bifosfato carboxilase oxigenase), fotoinibição, taxa de transferência de elétrons e redução da eficiência fotoquímica do FSII (FLEXAS e MENDRANO, 2002; LAWLOR e CORNIC, 2002). Diversas enzimas do metabolismo C3 e C4 têm redução da atividade sob déficit hídrico (ALFONSO e BRÜGGEMANN, 2012). Sendo esses os possíveis motivos para os resultados obtidos nesta avaliação. Uma vez que as plantas não inoculadas obtiveram relativamente maior acúmulo de Ci e no entanto menores taxas de A, além de menores taxas de gs e E.

Por meio das avaliações anteriores, é possível perceber que as plantas tratadas com o endófito obtiveram sempre as maiores taxas de gs, E e A. A interação com essas bactérias promove às plantas hospedeiras, maior abertura estomática e maior fotossíntese, a fim de aliviar os efeitos do estresse causado por déficit hídrico (HAN e LEE, 2005). Onde a fotossíntese das plantas colonizadas por essas bactérias possivelmente é estimulada por melhoria no estado nutricional da planta, bem como, por eliminação das limitações enzimáticas durante o processo fotossintético, além de maior transporte de elétrons e de estimular o consumo de trioses fosfato da célula, garantindo fluxo de saída para os drenos (KASCHUK et al., 2009). As trioses fosfato são produzidas no processo bioquímico da fotossíntese, por meio da redução do CO<sub>2</sub> pelo agente redutor NADPH<sub>2</sub>.

A estimulação da fotossíntese, é possível pois além de todos esses benefícios, as bactérias promovem a manutenção do estado hídrico da planta. A inoculação com bactérias promotoras de crescimento vegetal, promove à planta hospedeira maior potencial hídrico celular, em situações de estresse hídrico, quando comparadas às plantas controle (CREUS et al., 2004), garantindo um balanço hídrico positivo. A condição hídrica é restabelecida por meio da ação de diferentes mecanismos utilizados por esses microrganismos, tais como maior promoção do crescimento radicular, ajuste osmótico, entre outros. Um Balanço hídrico positivo, permite ao vegetal aumento na absorção de água e nutrientes, bem como a translocação de fotoassimilados contribuindo para o desenvolvimento adequado da planta (CRUSCIOL et al., 2008).

O estímulo à fotossíntese provocado pelo endófito garantiu promoção de crescimento às plantas inoculadas, mesmo sob déficit hídrico, assim, a maior taxa de fotossíntese líquida resultou em incrementos da massa seca da parte aérea e raiz, bem como aumento na área foliar

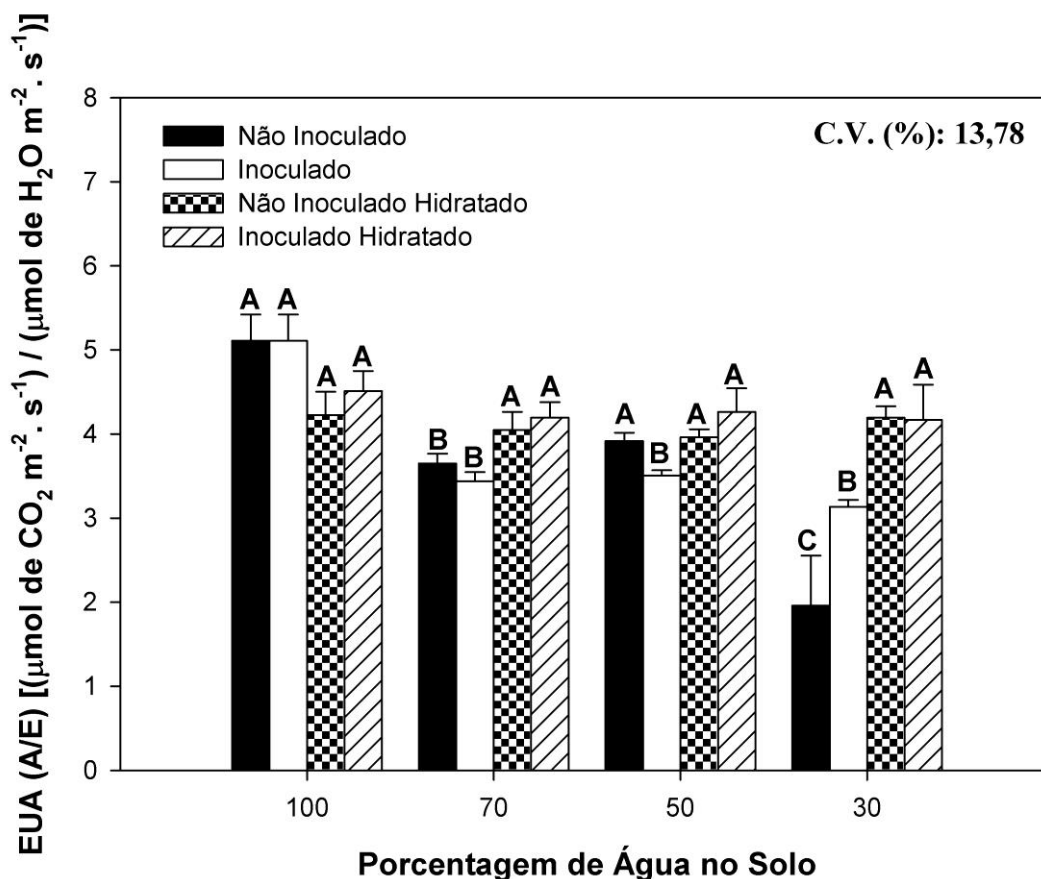


das plantas de arroz vermelho tratadas com a bactéria, como pode ser observado na análise dos parâmetros de crescimento, já avaliados neste trabalho.

Resultados semelhantes ao deste trabalho, foram obtidos por Naveed et al. (2014), que forneceram evidências de que a colonização do milho por bactérias endofíticas induz a melhoria na tolerância à seca. Para isso foram testadas duas cepas de bactérias endofíticas: *Burkholderia phytofirmans* PsJN e *Enterobacter* sp. FD17 inoculadas em duas cultivares de milho sob duas condições de estresse, foram avaliados os parâmetros de crescimento e fisiológicos. Os resultados revelaram que a inoculação com bactérias minimizou os efeitos do estresse hídrico em plantas de milho, com aumentos significativos da biomassa parte aérea, biomassa radicular, bem como, aumento da taxa fotossintética, maior condutância estomática, aumento da transpiração, teor de clorofila e eficiência do fotossistema II. Os autores concluíram o estudo dizendo que a aplicação da estirpe *B. phytofirmans* PsJN foi mais eficiente para melhorar a fisiologia, teor relativo de água e biomassa do milho sob condições de seca do que *Enterobacter* sp FD17. E que a melhoria da fisiologia da planta acaba por conduzir a um melhor rendimento e qualidade da cultura. Assim, as bactérias endofíticas poderiam ser eficientemente utilizadas para reduzir os efeitos do estresse hídrico sobre o crescimento e fotossíntese do milho. Sugerem ainda que o grau de proteção depende do tipo da estirpe bacteriana e o genótipo da planta.

#### **5.4.1.5 Eficiência instantânea do uso da água (EUA)**

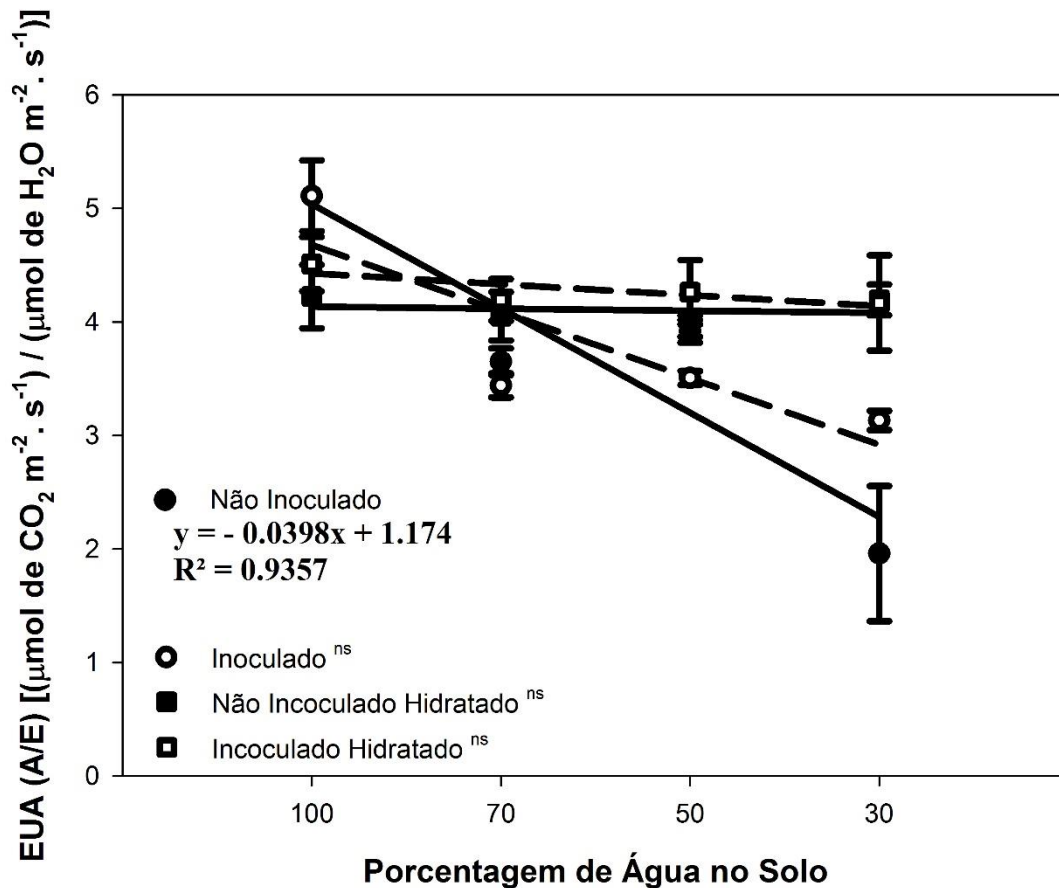
Foi avaliada a Eficiência Instantânea do Uso da Água (EUA) das plantas de arroz vermelho submetidas a quatro tratamentos, não inoculado, inoculado, não inoculado hidratado e inoculado hidratado, dentro de cada nível de porcentagem de água no solo (Figura 16). Os resultados obtidos demonstram que ao nível 100% da CC não foram observadas diferenças significativas entre as médias dos tratamentos. O que não foi verificado nos demais níveis de restrição hídrica, onde as médias dos tratamentos diferiram entre si, ao nível 70% da CC os tratamentos não inoculado e inoculado não diferiram entre si e obtiveram valores médios inferiores aos tratamentos hidratados, os quais também não diferiram entre si. Ao nível 50 % da CC os maiores valores da EUA foram referentes aos tratamentos não inoculado, não inoculado hidratado e inoculado hidratado, no entanto sem haver diferenças entre as médias, que diferiram do tratamento inoculado que apresentou valor inferior. Ao nível 30% da CC, o tratamento não inoculado foi o mais afetado com a redução da EUA em comparação com o inoculado, que revelou valores de EUA maiores, no entanto os tratamentos hidratados foram os responsáveis pelos maiores valores, não diferindo estatisticamente entre si.



**Figura 16.** Eficiência Instantânea do Uso da Água (EUA) (A/E) de plantas de arroz vermelho sob diferentes tratamentos, dentro de cada nível de restrição hídrica. As barras indicam o desvio padrão da média. Médias seguidas de letras iguais, não diferem pelo teste de Tukey à 5 % de probabilidade.

Analisando a figura 17, é possível perceber a influência dos níveis de porcentagem de água no solo na EUA em plantas não inoculadas. Os dados foram avaliados por meio da análise de regressão, e os resultados ajustaram-se a um modelo linear com comportamento decrescente da reta. Assim permite-se concluir que a EUA em planta de arroz vermelho não inoculadas diminui em função da diminuição da porcentagem de água no solo. Com taxas máxima de EUA em 100 % da CC e mínimas à 30 % da CC, neste estudo.

A EUA, no entanto, não foi influenciada pelos níveis de restrição hídrica, quando avaliadas as plantas de arroz inoculadas hidratadas e não inoculadas hidratadas, uma vez que nessas condições as plantas não estavam mais sob influência do estresse hídrico. Curiosamente o mesmo resultado foi verificado em plantas de arroz vermelho inoculadas com a bactéria endofítica *G. diazotrophicus*, onde as mesmas não sofreram influência dos regimes hídricos.



**Figura 17.** Eficiência Instantânea do Uso da Água (EUA) (A/E) de plantas de arroz vermelho, não inoculadas, inoculadas, não inoculadas hidratadas e inoculadas hidratadas, em função de diferentes níveis de porcentagem de água no solo. NS = não significativo.

A eficiência do uso de água (EUA) é a razão entre a fotossíntese líquida (A) e a taxa de transpiração (E). De acordo com Silva (2012), a EUA é a capacidade que a planta tem de limitar a perda de água, e ao mesmo tempo, permitir a absorção de dióxido de carbono. Assim, a regulação eficiente da transpiração pode resultar em maior eficiência no uso da água

Na avaliação desse parâmetro pode-se perceber, que de um modo geral que as plantas de arroz sob os diferentes tratamentos obtiveram elevadas taxas de EUA, decaindo apenas sob estresses mais severos, à 30% da CC, principalmente para o tratamento não inoculado. Em geral, os tratamentos obtiveram valores médio muito próximos.

O endófito não promoveu maiores incremento com relação a eficiência do uso de água, uma vez que, possuiu as maiores taxas de condutância estomática ( $g_s$ ) e transpiração (E), bem como, de fotossíntese líquida (A). Já nas plantas não inoculadas, foram observadas sempre menores taxas de  $g_s$ , E e A, no entanto com elevados valores de  $C_i$ . Considerando que a relação

entre a condutância estomática e a transpiração é linear, então quanto maior for a resistência estomática menor será a perda de água por transpiração. Com menores taxas de E, ocorre aumento da EUA, no entanto, para o mesmo tratamento, não foi verificado aumentos na taxa de A, o que remete possivelmente a alterações metabólicas da fotossíntese. Uma vez que a diminuição nas taxas de gs afetam diretamente as taxas de E, mas, pode não afetar as taxas de A, e o CO<sub>2</sub> pode ser assimilado.

Devido ao fechamento parcial dos estômatos, com uma variação considerável na A e o decréscimo de E, as plantas de arroz vermelho não inoculadas foram relativamente pouco mais eficientes no uso de água nas condições de 50 e 70% da CC. Embora este tratamento tenha apresentado melhoria na eficiência do uso da água, não foi observado incrementos de massa seca da parte aérea e raiz, bem como, aumento da área foliar.

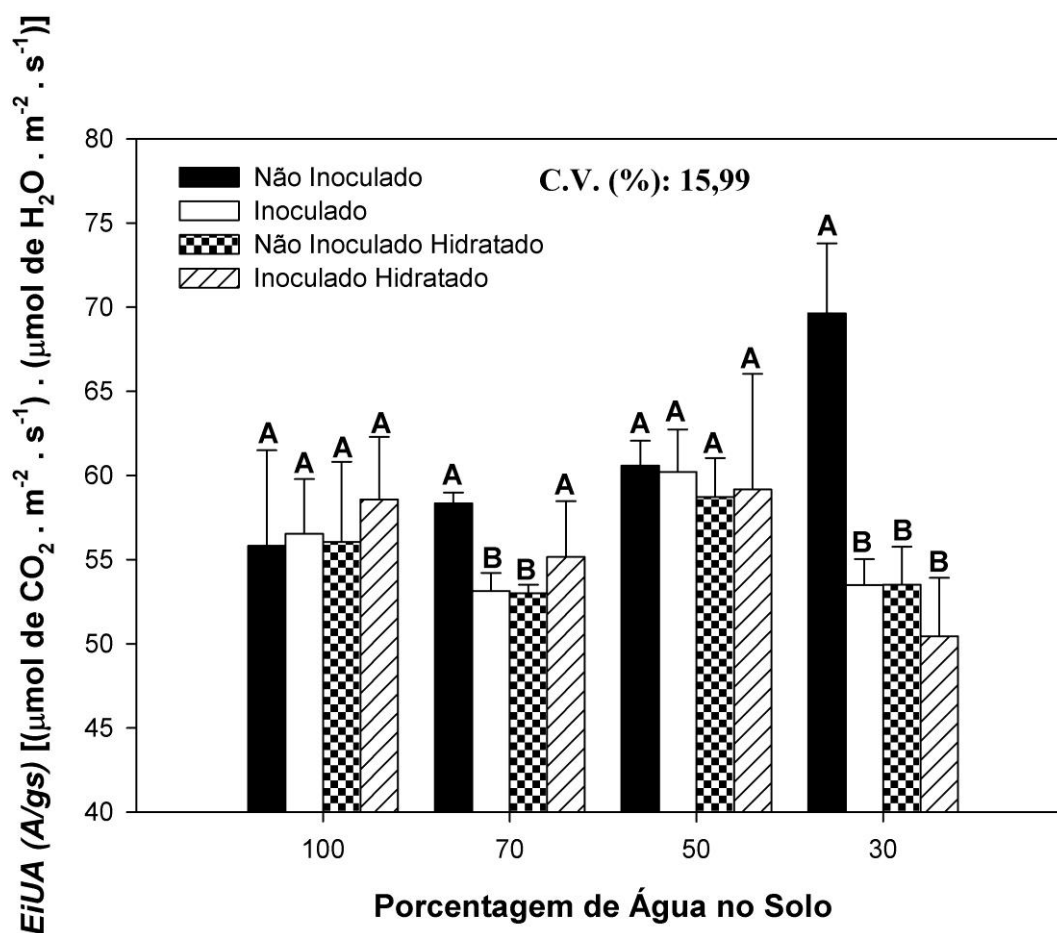
Foram observadas efeitos benéficos sobre a fotossíntese de plantas de *Arabidopsis thaliana* inoculadas com a *G. diazotrophicus*, no entanto, estas plantas não foram submetidas à nenhuma tipo de estresse abiótico. Os estudo foram conduzidos por Souza et al., 2015, no qual observaram também que as taxas de transpiração foram significativamente menores, como consequência, da maior absorção de carbono e menor perda de água através da transpiração, é a maior eficiência do uso da água em comparação com as plantas sem inoculação. Assim, os autores concluíram que os resultados sugerem que a bactéria afeta positivamente a fisiologia da planta hospedeira, aumentando a capacidade fotossintética e melhorando a eficiência do uso de água.

Apesar de existir um número considerável, cada vez mais crescente, de pesquisas relacionadas à inoculação de plantas com bactérias promotoras de crescimento vegetal, para a verificação de seus benefícios, ainda são poucos os relatos sobre os benefícios na eficiência do uso da água de planta tratadas com bactérias endofíticas, bem como, associadas a algum tipo de estresse abiótico.

#### **5.4.1.6 Eficiência intrínseca do uso da água (EiUA)**

Ao analisar a eficiência intrínseca do uso da água (EiUA) das plantas de arroz sob diferentes tratamentos, verifica-se que nos níveis de água no solo 100 e 50% da CC não foram observadas diferenças significativas entre as médias dos tratamentos. Já dentro dos níveis 70 e 30 % da CC, as médias diferiram entre si, com maiores taxas de EiUA nas plantas que receberam o tratamento não inoculado, comparando-se aos demais tratamentos (10 e 50%, respectivamente)

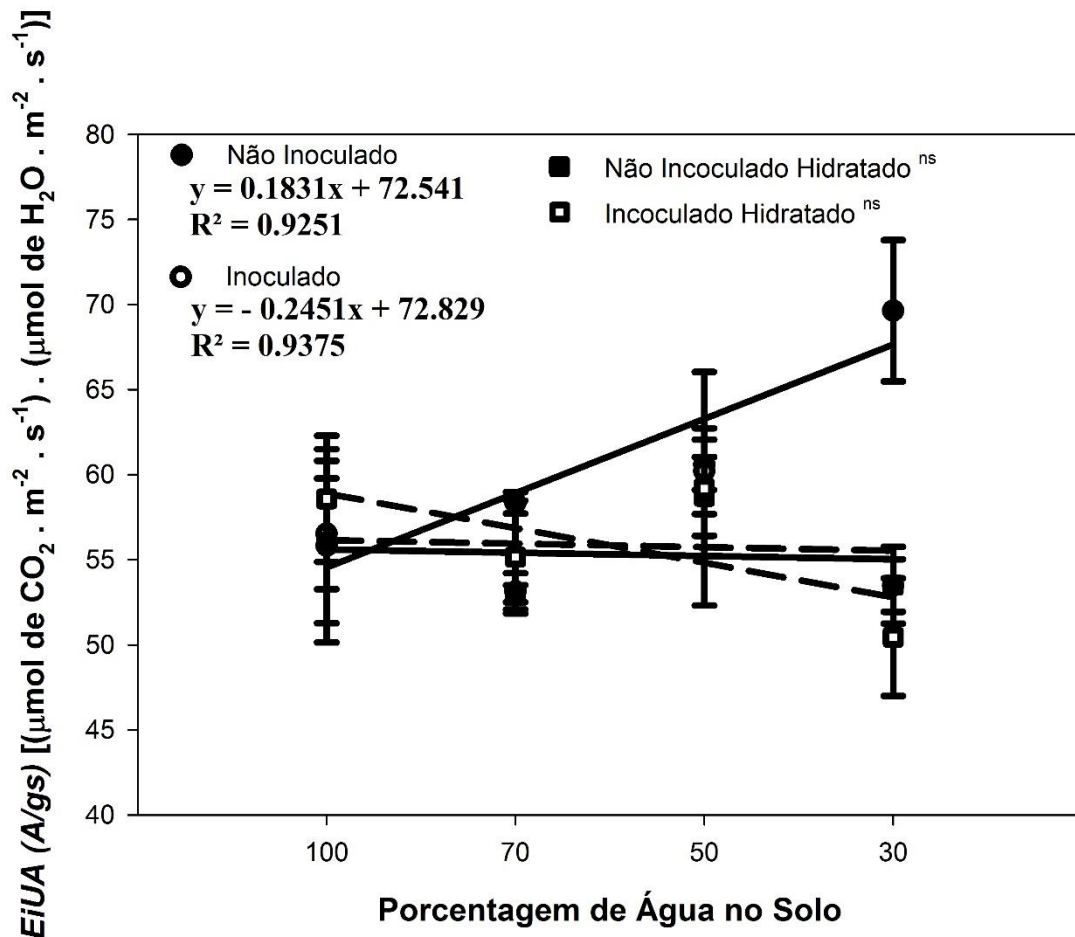
(Figura 18). Observa-se também que após a hidratação, teve um decréscimo significativo do conteúdo da EiUA nas plantas inoculadas e não inoculadas, principalmente à 30% da CC.



**Figura 18.** Eficiência Intrínseca do Uso da Água (EiUA) (A/gS) de plantas de arroz vermelho sob diferentes tratamentos, dentro de cada nível de restrição hídrica. As barras indicam o desvio padrão da média. Médias seguidas de letras iguais, não diferem pelo teste de Tukey à 5 % de probabilidade

Houve efeito significativo dos níveis de água no solo sobre a EiUA das plantas de arroz vermelho inoculadas e não inoculadas (Figura 19). Os dados foram submetidos a análise de regressão, e ajustaram-se a um modelo linear, com um comportamento decrescente para as plantas de arroz vermelho inoculadas com a bactéria, onde permite-se dizer que a medida que se aumenta os níveis de restrição hídrica há uma tendência à diminuição das taxas de EiUA. Para as plantas não inoculadas o comportamento da reta foi crescente, no qual à medida que se diminui a quantidade de água no solo ocorreu um aumento das taxas de EiUA.

Os diferentes níveis de água no solo não promoveu efeito significativo nas taxas de EiUA das plantas não inoculadas hidratadas e inoculadas hidratadas, uma vez que estas plantas avaliadas uma hora após a hidratação, não estavam mais sob influência do estresse hídrico (Figura 19).



**Figura 19.** Eficiência intrínseca do Uso da Água (EiUA) (A/g) de plantas de arroz vermelho sob diferentes tratamentos em função de diferentes níveis de porcentagem de água no solo. NS = não significativo.

A eficiência intrínseca do uso de água (EiUA) é dada pela razão entre a taxa de fotossíntese líquida (A) e a condutância estomática (gs). O aumento da EiUA nas plantas sob estresse e não inoculadas, pode estar atribuída a capacidade da planta em regular as trocas gasosas, ao reduzir proporcionalmente mais a condutância estomática e, conseqüentemente a

transpiração, do que a assimilação de CO<sub>2</sub>, o que gera uma economia de água por cada molécula de CO<sub>2</sub> assimilada, uma vez que a redução da condutância estomática limita proporcionalmente mais a transpiração do que a entrada de CO<sub>2</sub> na folha (CHAVES e OLIVEIRA, 2004)

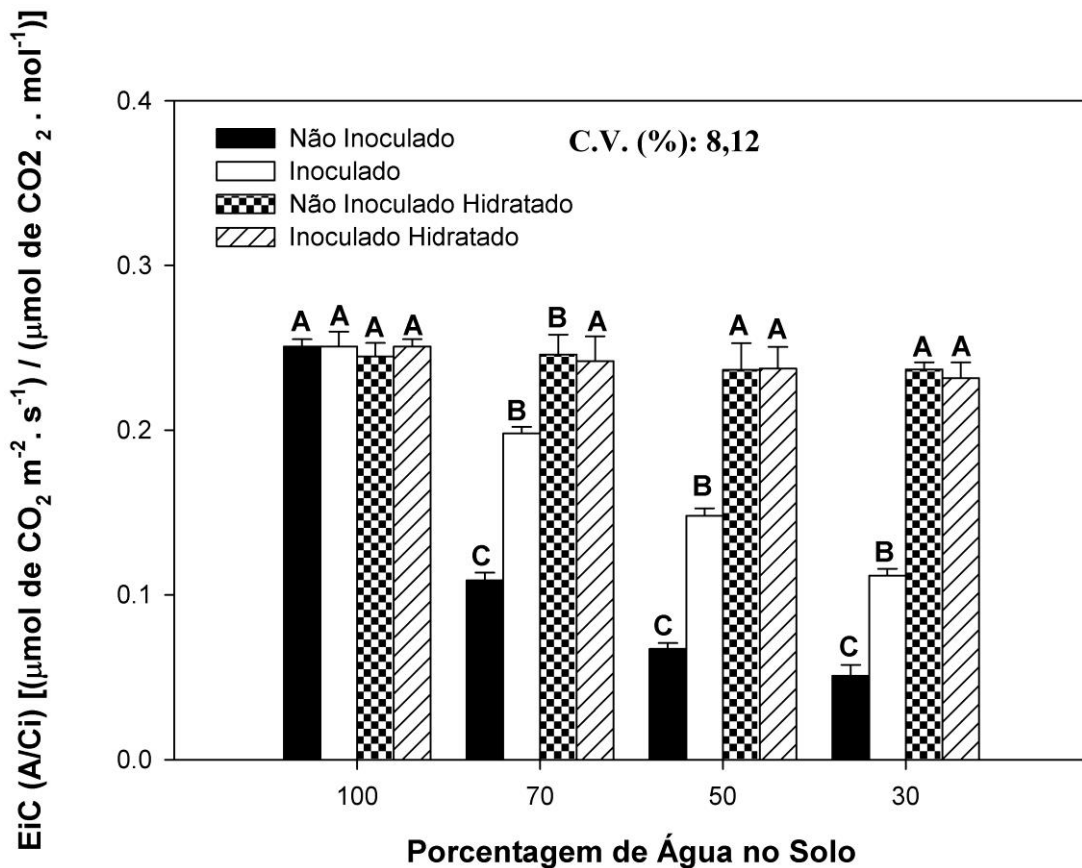
Como nas plantas não inoculadas a condutância estomática foi menor, a EiUA para estas plantas foi mais elevado, e observado em valores crescentes com o aumento do déficit hídrico. As plantas inoculadas, por sua vez como obtiveram maiores taxas de gs, foram observadas menores taxas de EiUA, com valores decrescentes com o aumento do déficit hídrico. Considerando que a relação entre a fotossíntese líquida e a condutância estomática é não linear, assim, mesmo com decréscimos na gs pode haver manutenção da atividade fotossintética.

Considerando, que houve variações nas taxas de fotossíntese líquida, com menores valores para o tratamento não inoculado com relação ao inoculado, e o decréscimo da condutância estomática apenas para os tratamentos não inoculados, os melhores resultados na eficiência intrínseca do uso de água, foram os referentes ao tratamento não inoculado. Dessa forma, como menores taxas de gs ocorre aumento da EiUA, no entanto, para o mesmo tratamento, não foram verificados aumentos na taxa de A.

De um modo geral, a EUA e a EiUA, avaliadas nestes trabalho, foram equivalentes à diminuição da gs, principalmente nas plantas não inoculadas, e obtiveram valores elevados sob déficit hídrico. Chaves e Oliveira (2004), relataram que a EiUA aumenta em resposta ao déficit hídrico induzido pelo fechamento estomático. As respostas com relação a gs e E são os principais efeitos sobre as trocas gasosas das plantas sob déficit hídrico, os quais interferem de maneira direta nos efeitos na EUA e na EiUA.

#### **5.4.1.7 Eficiência instantânea de carboxilação (EiC)**

Na avaliação da eficiência instantânea de carboxilação (EiC) em plantas de arroz vermelho sob diferentes tratamentos, foi verificado que dentro da condição 100 % da CC as médias dos tratamentos são estatisticamente iguais entre si, não havendo diferenças significativas (Figura 20), considerando que este nível não passou por estresse. Dentro dos níveis 70, 50 e 30 % da CC, as médias para EiC diferiram entre os tratamentos, comportando-se de maneira semelhantes dentro de cada nível. Desse modo, as médias dos tratamentos inoculados foram superiores aos tratamentos não inoculados, os quais foram os que apresentaram as menores taxas de EiC. Para os tratamentos não inoculado hidratado e inoculado hidratado os valores médios da EiC foram superiores quando comparados aos tratamentos inoculado e não inoculado. (Figura 20).

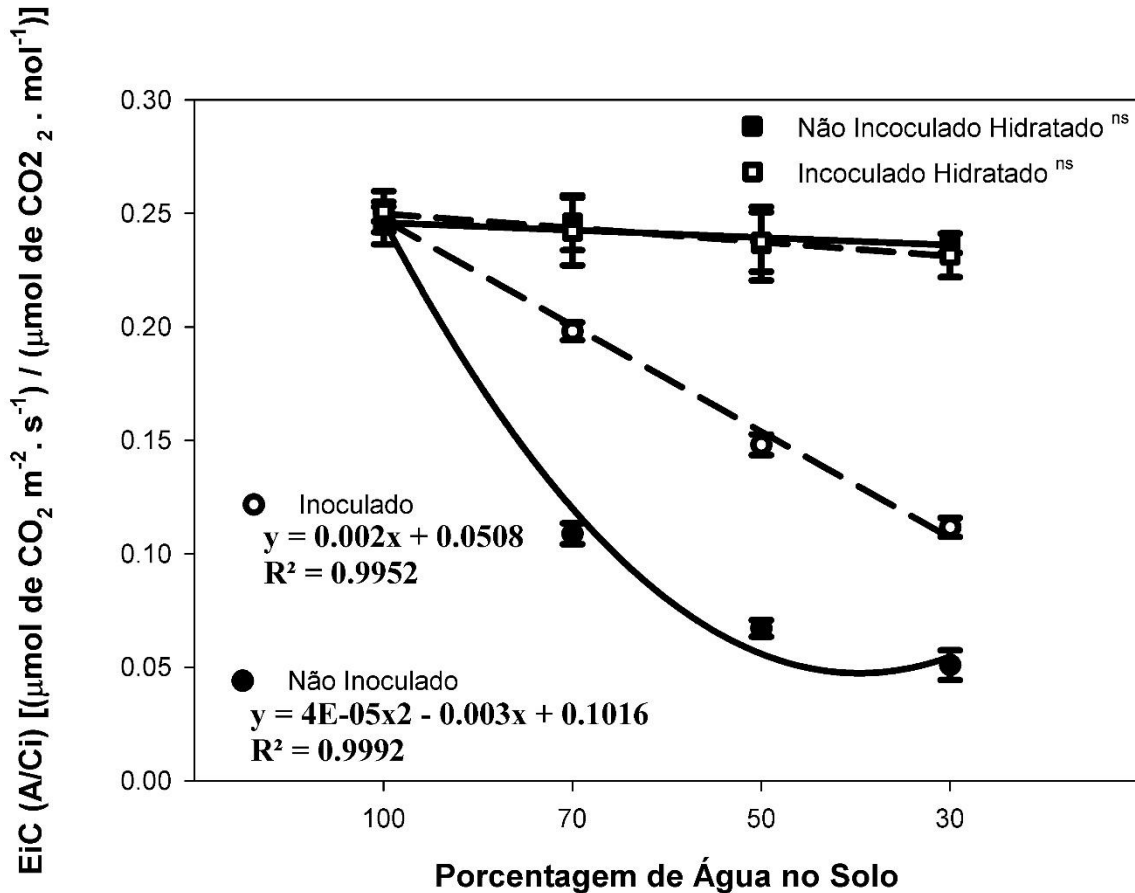


**Figura 20.** Eficiência Instantânea de carboxilação (EiC) (A/Ci) de plantas de arroz vermelho sob diferentes tratamentos, dentro de cada nível de restrição hídrica. As barras indicam o desvio padrão da média. Médias seguidas de letras iguais, não diferem pelo teste de Tukey à 5 % de probabilidade.

As plantas que foram submetidas a hidratação após o período de estresse hídrico, ao serem avaliadas as médias da EiC para os tratamentos inoculado hidratado e não inoculado hidratados, não foram significativas, uma vez que estas não estavam mais sob a influência das restrições hídricas (Figura 21). No entanto, foi verificado efeito significativo dos diferentes níveis de água no solo na EiC das plantas inoculadas e não inoculadas. Os dados foram avaliados por meio da análise de regressão, onde os resultados ajustaram-se a um modelo linear, com comportamento decrescente da reta, para as plantas inoculadas, assim, constatou-se que o aumento do déficit hídrico promoveu expressiva redução das taxas de EiC. Os resultados das médias da EiC para as plantas não inoculadas, ajustaram-se a um modelo quadrático, apresentado um coeficiente de determinação igual 99 %, estimando alta capacidade preditiva para o modelo utilizado. Com um ponto de mínimo próximo entre 50 e 30% da CC, onde encontram-se os



valores médios mais baixos da EiC, e após é observado uma tendência ao aumento quando próximo à 30% da CC.



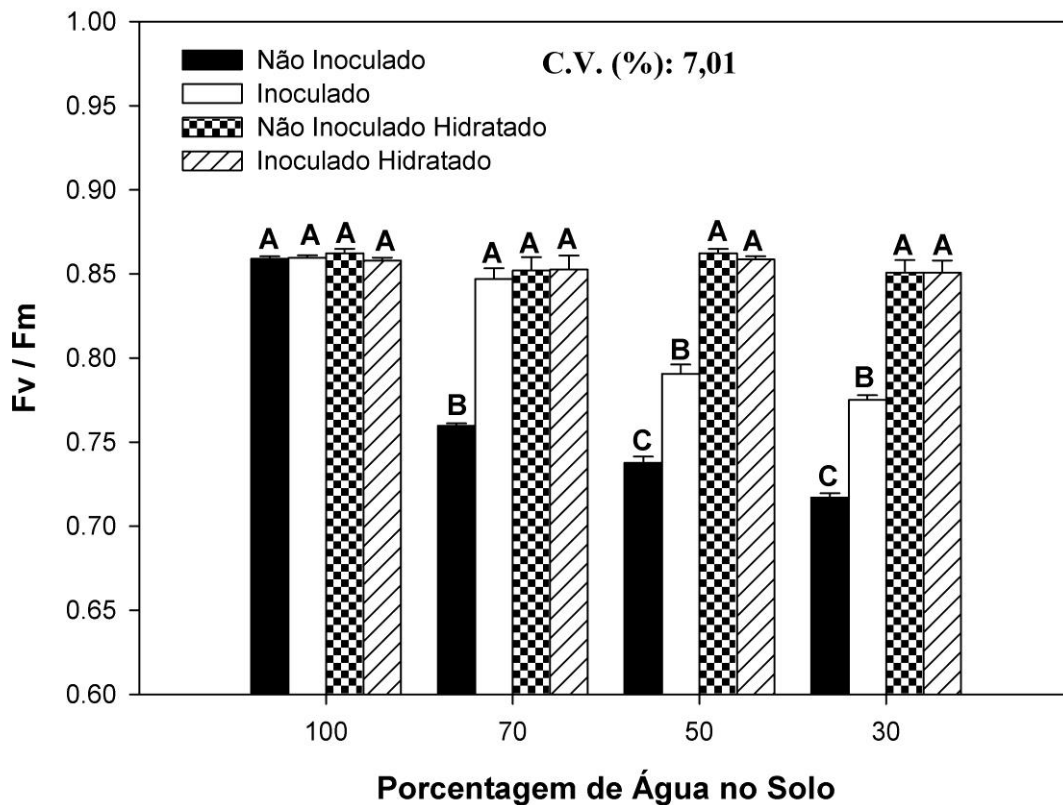
**Figura 21.** Eficiência instantânea de Carboxilação (EiC) de plantas de arroz vermelho sob diferentes tratamentos em função de diferentes níveis de porcentagem de água no solo. NS = não significativo.

A eficiência intrínseca de carboxilação (EiC) é a razão entre a fotossíntese líquida (A) e a concentração de carbono interno (Ci). Nesta relação foram constatadas maiores taxas de EiC para as plantas inoculadas, quando comparadas as plantas não inoculadas, considerando que o fator Ci diminuiu (foi menor do que nas plantas não inoculadas) e a fotossíntese aumentou, bem como a eficiência de carboxilação. As plantas de arroz vermelho não inoculadas, no entanto, ocorreu o contrário, maiores taxas de Ci e diminuição da fotossíntese líquida e da eficiência de carboxilação, sugerindo nesta última avaliação como já citado anteriormente, fatores não estomáticos relacionados a atividade fotossintética.

## **5.4.2 Fluorescência da clorofila *a***

### **5.4.2.1 Relação Fv/Fm**

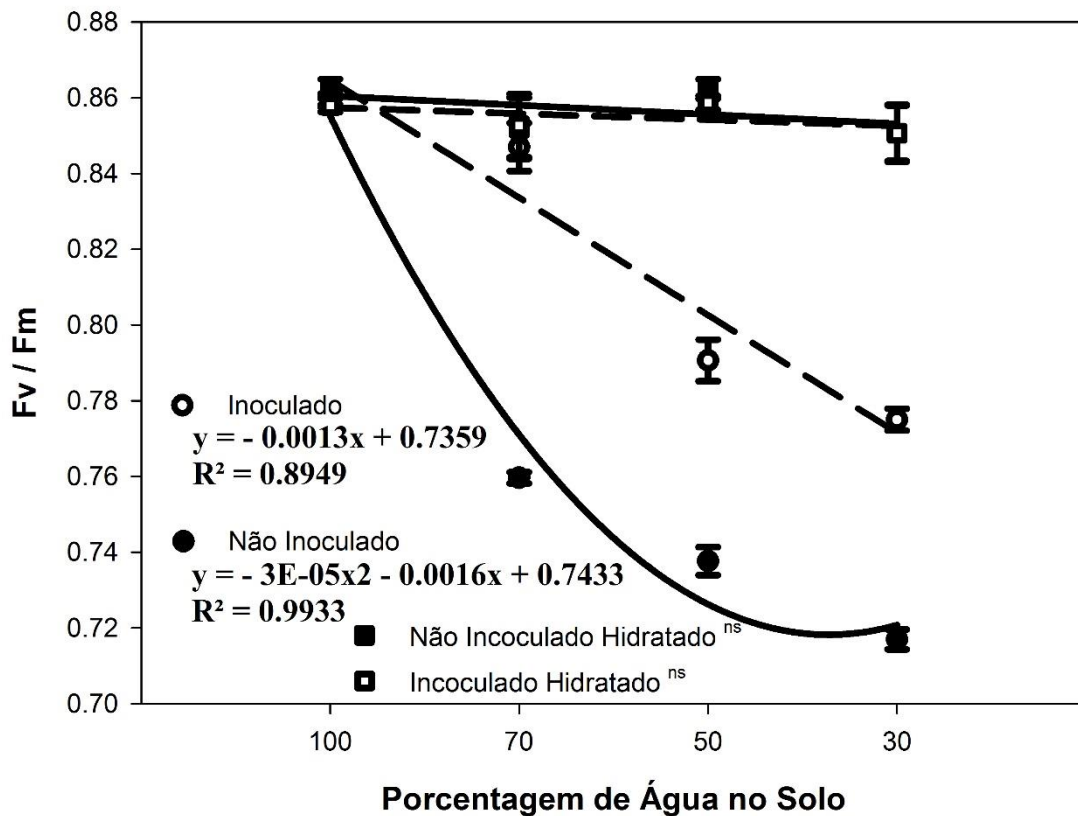
O rendimento quântico máximo do FSII (fotossistema dois), também expresso pela relação Fv/Fm (Fluorescência variável/Fluorescência máxima) foi avaliado em plantas de arroz vermelho sob quatro diferentes tratamentos dentro de cada nível de porcentagem de água no solo (Figura 22). Assim como na maioria das variáveis apresentadas até aqui, no nível à 100% da CC, não foram verificadas diferenças entre as médias dos tratamentos, destacando-se com valores médios altos para esta variável. Nos demais níveis de restrição hídrica, 70, 50 e 30% da CC, os valores médios entre as médias foram estatisticamente diferentes entre si, onde as mesmas comportaram-se de maneira semelhante dentro dos níveis avaliados. Dessa forma, os tratamentos inoculados apresentaram médias superiores aos tratamentos não inoculados. Para os tratamentos inoculado hidratado e não inoculado hidratado foi verificado valores médios superiores aos tratamentos inoculados e não inoculados, embora estes valores não diferiram estatisticamente entre si, o que pode indicar que após uma hora da hidratação, as plantas recuperaram suas atividades fotossintéticas (Figura 22). De acordo com Chaves et al. (2009) a recuperação da taxa fotossintética, após a reidratação, reflete a capacidade da planta em resistir ao estresse e evitar maiores perdas da produtividade. Revelando uma certa tolerância ao estresse hídrico nas condições de cultivo em que as plantas foram impostas.



**Figura 22.** Relação Fv/Fm ou rendimento quântico máximo do FSII de plantas de arroz vermelho sob diferentes tratamentos, dentro de cada nível de restrição hídrica. As barras indicam o desvio padrão da média. Médias seguidas de letras iguais, não diferem pelo teste de Tukey à 5 % de probabilidade.

Verifica-se a partir da análise da figura 23, que os diferentes níveis de água no solo influenciou na resposta do rendimento máximo do FSII em plantas inoculadas e não inoculadas. Os dados foram submetidos a análise de regressão, onde os resultados obtidos para as plantas de arroz inoculadas, ajustaram-se a um modelo linear, com um comportamento decrescente da reta, no qual à medida que se aumenta a deficiência hídrica o rendimento máximo do FSII é diminuído, havendo uma relação negativa. Os resultados obtidos para a relação Fv/Fm em plantas não inoculadas ajustaram-se a um modelo quadrático, apresentando um coeficiente de determinação de 99%, estimando alta capacidade preditiva para o modelo utilizado. Os valores médios mínimos (0,72 e 0,71, respectivamente) para a relação Fv/Fm encontram-se entre os níveis 50 e 30% da CC. Nos tratamentos hidratados não foi verificado efeito significativo dos níveis de água no solo. É possível observar também, que o decréscimo da eficiência fotoquímica nas plantas não inoculadas, foi acompanhada de decréscimos na avaliação dos parâmetros das

trocas gasosas, condutância estomática, transpiração e fotossíntese, as quais também reduziram à medida do aumento do déficit hídrico, bem como, do tratamento inoculado, porém em menores decréscimos.



**Figura 23.** Relação  $F_v/F_m$  ou rendimento quântico do FSII de plantas de arroz vermelho sob diferentes tratamentos em função de diferentes níveis de porcentagem de água no solo. NS = não significativo.

É possível concluir assim, que o rendimento quântico do FSII (eficiência fotoquímica), dada pela razão entre a fluorescência variável e a fluorescência máxima, foi afetado severamente pelo déficit hídrico, e que o endófito foi eficaz em promover maiores incrementos nessa relação ( $F_v/F_m$ ) em plantas inoculadas e inoculadas hidratadas. Os processos fotossintéticos podem ser influenciados por diversas alterações nas condições ambientais aonde estão inseridas as plantas, e podem ser causados por efeito estomático e não-estomático. Como já citado anteriormente, não é apenas a limitação estomática que irá influenciar negativamente a fotossíntese, uma vez que as

plantas não inoculadas submetidas ao estresses, obtiveram menores valores de  $g_s$ , e no entanto elevados valores de  $C_i$ , o que sugeriu alterações na maquinaria fotossintética. Desse modo, nesta avaliação foram investigadas as possíveis causas metabólicas de inibição da fotossíntese, por meio do rendimento quântico do fotossistema II.

As plantas quando estão submetidas à estresses abióticos, tais como o estresse hídrico, desencadeiam alterações no funcionamento dos cloroplastos, principalmente à nível das membranas dos tilacóides. Essas alterações provocam mudanças nas características dos sinais de fluorescência, quantificados nas folhas por meio da fluorescência inicial ( $F_0$ ), fluorescência máxima ( $F_m$ ) e fluorescência variável ( $F_v$ ) da clorofila  $a$ , e conseqüentemente alterações na eficiência fotoquímica, dada pelo rendimento quântico do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) (CHA-UM e KIRDMANEE, 2011; SILVA et al., 2011). Dessa forma, para medir o desempenho fotossintético, são utilizadas medidas da fluorescência da clorofila  $a$ , associadas ao FSII, sendo, portanto, o valor da razão  $F_v/F_m$ , proporcional ao rendimento quântico da fase fotoquímica da fotossíntese (BUTLER e KITAJIMA, 1975), assim, essa relação representa a eficiência máxima da luz que é absorvida pelo complexo antena do FSII e é convertida em energia química (BAKER, 2008). A avaliação do rendimento quântico do fotossistema II, pode fornecer um diagnóstico da integridade do aparato fotossintético diante das adversidades ambientais (TESTER e BACIC, 2005), sendo assim, diminuição na razão  $F_v/F_m$  sugere uma inibição da atividade fotoquímica (PEREIRA et al., 2000).

As causas metabólicas de diminuição da fotossíntese, relacionados aos efeitos não-estomáticos, estão compreendidas desde a captação de energia luminosa até a fixação de  $CO_2$ , e são prejudicados principalmente por mudanças nas condições de diminuição do conteúdo relativo de água nas folhas, provocadas por déficit hídrico do solo (LAWLOR, 2002). Os efeitos estão relacionados às alterações na maquinaria fotoquímica, como degradação de clorofilas (atividade do componentes coletores de luz), redução da atividade e concentração da Rubisco (metabolismo do carbono), fotoinibição, taxa de transferência de elétrons e redução da eficiência fotoquímica do FSII (FLEXAS e MENDRANO, 2002; LAWLOR e CORNIC, 2002).

A fotoinibição, ou efeito fotoinibitório, nada mais é que, o aumento excessivo da luz acima da capacidade de utilização pela fotossíntese. A quantidade de energia radiante que atinge o complexo coletor de luz dos fotossistemas pode determinar efeitos positivos ou deletérios na eficiência das reações fotoquímicas dos centros de reação (LEMOS FILHO, 2000). Uma vez que o estresse hídrico pode comprometer a atividade de enzimas do metabolismo do carbono (Rubisco), é limitada a fixação de  $CO_2$  no ciclo de Calvin-Benson, assim, não ocorre o consumo do poder redutor e gasto de energia (redução do consumo e conseqüentemente produção de ATP

e NADPH), ocorrendo diminuição do consumo de elétrons liberados a partir da água. Como resultado, o centro de reação dos fotossistemas estão todos fechados, ou seja, reduzidos, e continuam a receber energia luminosa (em excesso), que em caso de não ser dissipada devidamente (*quenching* não fotoquímicos), provoca danos ao aparelho fotoquímico, com reduções na razão Fv/Fm (LAWLOR, 2002).

Os principais efeitos fotoinibitórios são, a fotodestruição de pigmentos fotossintéticos (POWLES, 1984), e a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), como superóxidos, oxigênio singlete e peróxidos (TAIZ e ZEIGER, 2013), que resulta do complexo antena ativado (estado excitado) doar energia (reagir) com o oxigênio molecular (O<sub>2</sub>) (KRIEGER-LISZKAY, 2005). AS EROs reagem com as proteínas e lipídios, provocando danos às estruturas celulares e metabolismo, especialmente associados à fotossíntese (LAWLOR e TEZARA, 2009).

Neste sentido, o aumento do rendimento quântico do fotossistema II em plantas inoculadas, sugere que a bactéria *G. diazotrophicus* promoveu alguns de seus mecanismo para evitar os efeitos deletérios do estresse hídrico, os quais provavelmente ocorreram nas plantas não inoculadas sob estresse. O endófito pode ter mantido normal ou aumentado a taxa de transporte de elétrons entre os fotossistemas, e assim maior número de moléculas de ATP e NADPH estavam sendo produzidas para a atividade bioquímica da fotossíntese (carboxilação de CO<sub>2</sub>). A bactéria pode ter agido também no sentido de promover maior produção dos pigmentos fotossintetizantes, o que aumenta a capacidade de absorção de energia luminosa, bem como atuado na reparação de proteínas constituintes dos cloroplastos, danificadas principalmente por ação das EROs. O principal constituinte da clorofila e de proteínas é o nitrogênio, elemento este que é fixado por tais microrganismo promotores de crescimento vegetal e pode ter auxiliado na recuperação da maquinaria fotossintética, além de utilizar mecanismo antioxidantes. A inoculação das plantas com microrganismos endofíticos, pode diminuir os efeitos danosos dos estresses ambientais, incluindo o aumento da atividade das enzimas antioxidantes e metabólitos secundários (DOBBELAERE et al., 2003).

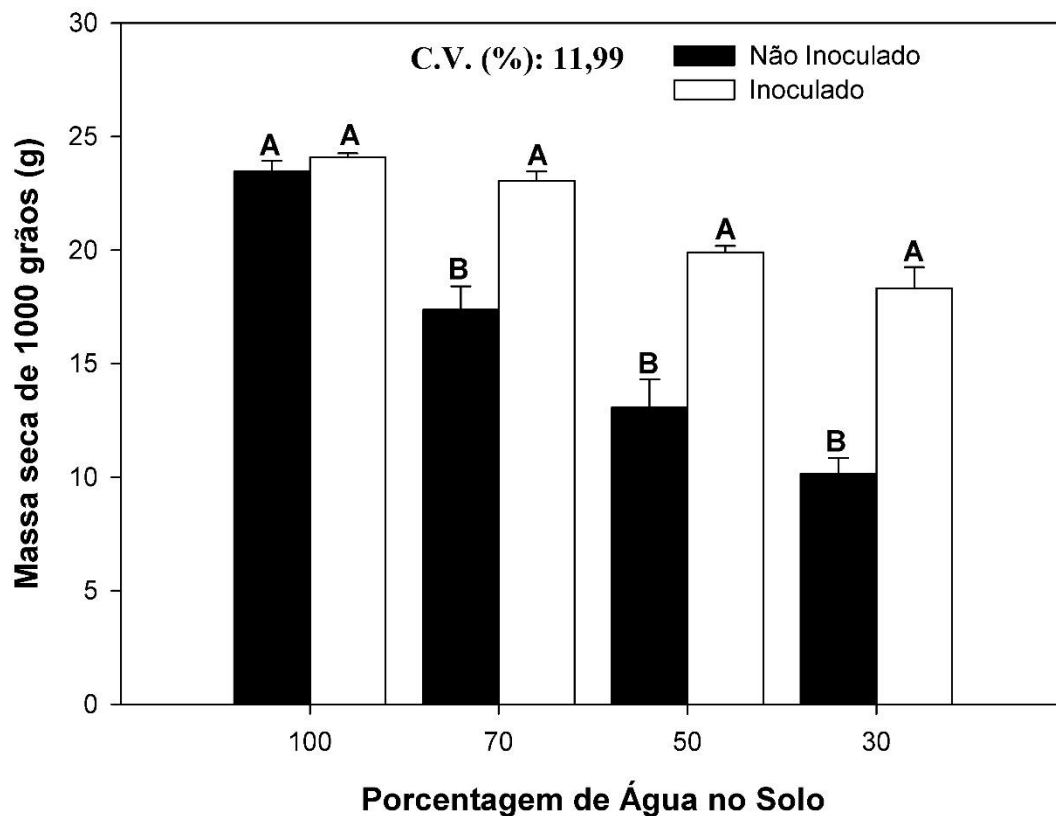
Contudo, os resultados mostram que a interação planta-bactéria melhorou o rendimento quântico do fotossistema II em plantas de arroz vermelho submetidas ao déficit hídrico. Além disso, mantiveram maiores taxas de fotossíntese líquida, condutância estomática e transpiração em relação as plantas não inoculadas. Desse modo, pode-se concluir que a bactéria *G. diazotrophicus* promoveu às plantas hospedeiras maior eficiência fotoquímica, fixação de CO<sub>2</sub> e utilização da energia solar, e que esses resultados demonstram um aumento da tolerância ao déficit hídrico por parte da planta inoculada, impedindo que os efeitos deletérios do estresse inibam os processos fotoquímicos.

Em estudos conduzidos por Dias (2010), no qual foram avaliados os efeitos dos estresses salino e hídrico sobre plantas de cana-de-açúcar inoculadas com a bactéria promotora de crescimento *G. diazotrophicus* PAL5, por meio da medição da eficiência fotoquímica (Fv/Fm), entre outros parâmetros. As plantas inoculadas foram então submetidas à salinidade e à desidratação por um período de 15 e 30 dias, e foi observado um decréscimo da razão Fv/Fm, indicando uma menor eficiência fotoquímica como consequência do estresse associado a inoculação, ou seja, os estresses salino e hídrico foram mais prejudiciais em plantas inoculadas em relação ao controle (sem inoculação). Neste estudo, o autor verificou que o estresse hídrico foi ainda mais severo em plantas inoculadas, que aos 20 dias de tratamento todas as plantas colonizadas e impostas ao déficit hídrico não suportaram e morreram.

## **5.5 Componentes produtivos**

### **5.5.1 Massa seca de 1000 grãos**

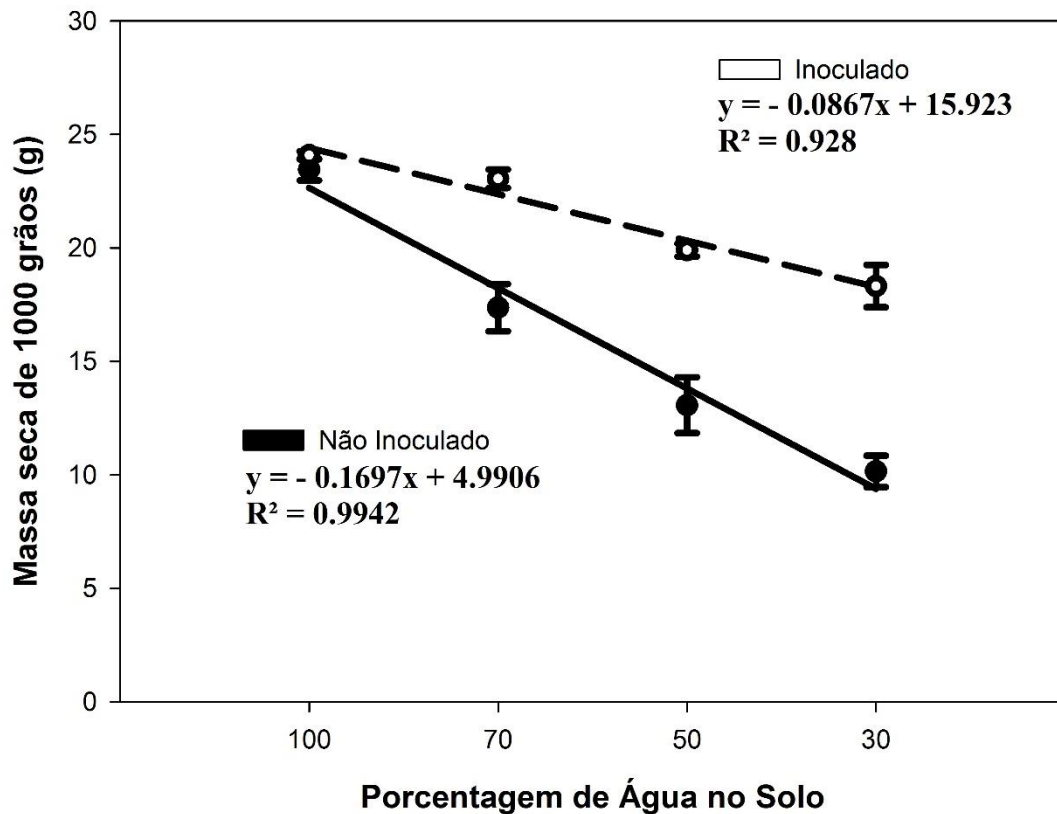
Foi avaliada a massa seca de 1000 grãos de plantas de arroz vermelho inoculadas e não inoculadas, dentro de cada nível de restrição hídrica. Verificou-se maior incremento dessa variável nas plantas tratadas com a bactéria *G. diazotrophicus*, quando comparadas às testemunhas, dentro de todos os níveis de porcentagem de água no solo. Os resultados obtidos foram significativos à 70, 50 e 30 % da CC, sempre com maiores médias para as plantas inoculadas (Figura 24).



**Figura 24.** Massa seca de 1000 grãos (g) de plantas de arroz vermelho inoculadas e não inoculadas, dentro de cada nível de restrição hídrica. As barras indicam o desvio padrão da média. Médias seguidas de letras iguais, não diferem pelo teste t à 5 % de probabilidade.

Os diferentes níveis de porcentagem de água no solo provocou efeito significativo na massa seca de 100 grãos de plantas de arroz vermelho independentemente da condição de inoculação. Os dados foram submetidos a análise de regressão, e ajustaram-se a um modelo linear, com um comportamento decrescente da reta para os valores de massa seca de 1000 grãos de plantas de arroz vermelho inoculadas e não inoculadas em função da diminuição de porcentagem de água no solo. Em concordância com os resultados, inferimos que quanto maior o nível de restrição hídrica menor será a massa seca de 1000 grãos das plantas para as duas condições de inoculação em questão, no entanto com menores taxas de decréscimo para as plantas inoculadas em relação as não inoculadas (Figura 25).





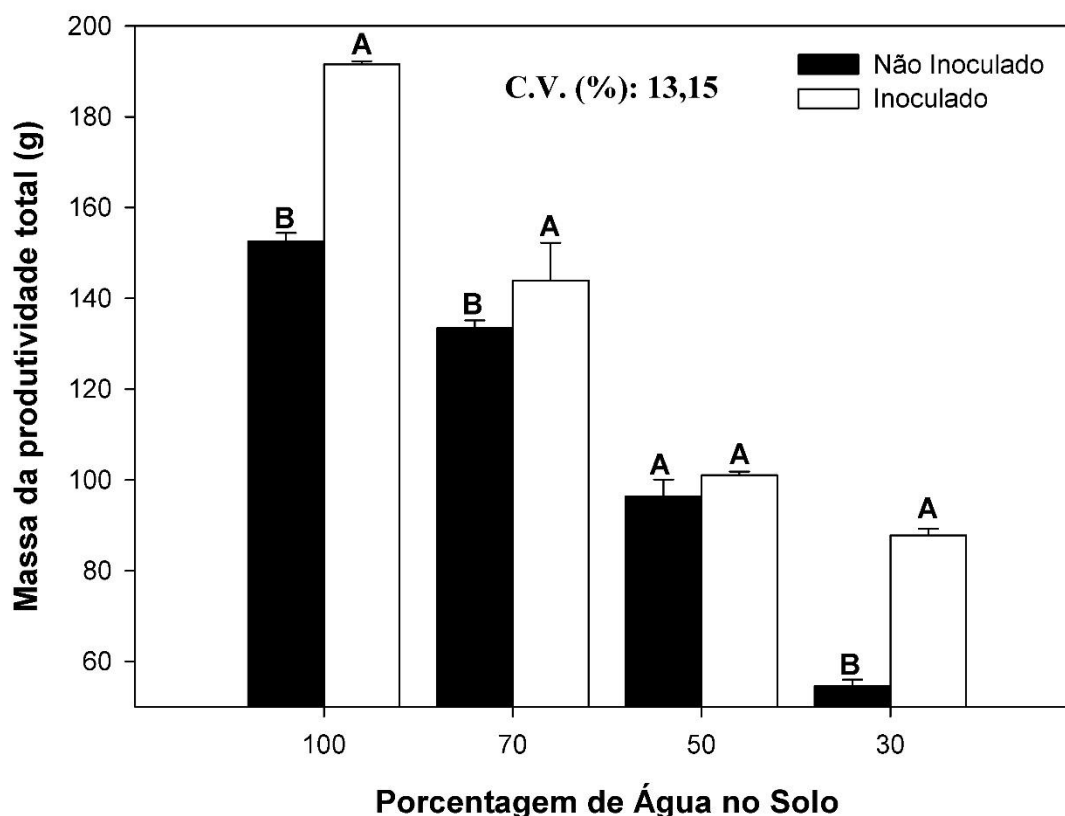
**Figura 25.** Massa seca de 1000 grãos (g) de plantas de arroz vermelho inoculada e não inoculada em função de diferentes níveis de porcentagem de água no solo.

De acordo com Terra et al. (2013), quando plantas de arroz estão submetidas à estresse hídrico, há uma tendência na redução no peso dos grãos, devido principalmente a menor produção de fotoassimilados pelas plantas nessa condição adversa, o que tem como consequência uma menor exportação desses assimilados, para o enchimento dos grãos, resultando em menor peso.

### 5.5.2 Massa da produtividade total

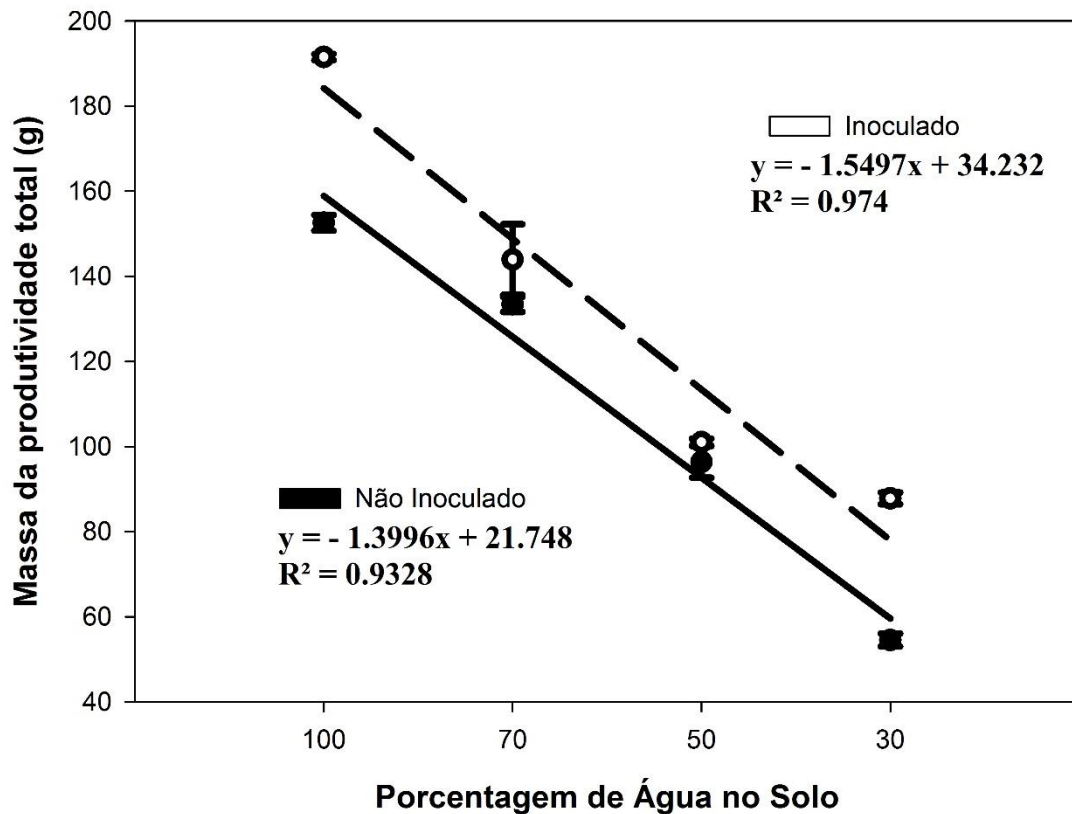
Quando comparadas as médias da massa seca da produtividade total de plantas de arroz vermelho inoculadas com as não inoculadas, verifica-se que a inoculação com a bactéria promoveu incrementos dentro de todos os níveis de porcentagem de água no solo. Os resultados obtidos foram significativos, havendo diferença entre as médias dos tratamentos dentro dos

níveis 100, 70 e 30% da CC, apenas ao nível 50% da CC as médias não diferiram entre si (Figura 26).



**Figura 26.** Massa da produtividade total (g) de plantas de arroz vermelho inoculadas e não inoculadas, dentro de cada nível de restrição hídrica. As barras indicam o desvio padrão da média. Médias seguidas de letras iguais, não diferem pelo teste t à 5 % de probabilidade.

Os diferentes níveis de restrição hídrica influenciou negativamente a produtividade total de plantas de arroz vermelho inoculadas e não inoculadas, onde a partir da análise do gráfico (Figura 27) pode-se contatar esse efeito significativo. Os dados foram submetido a análise de regressão e os resultados obtidos ajustaram-se a um modelo linear, com um comportamento decrescente da reta, o que permite-se dizer que ocorreu diminuição da produtividade total em função do aumento dos níveis de restrição hídrica. O que também pode ser observado é que as plantas inoculadas obtiveram menores decréscimos em relação as não inoculadas (25%). Com os melhores resultados para a inoculação observados à 100% da CC.



**Figura 27.** Massa da produtividade total (g) de plantas de arroz vermelho inoculadas e não inoculadas em função de diferentes níveis de porcentagem de água no solo.

Os estresses abióticos incluindo o estresse hídrico, são graves ameaças à sustentabilidade das colheitas, e estão entre os principais motivo de perdas da produtividade, principalmente nos sistemas de cultivo do tipo sequeiro. Tem sido relatadas em diferentes culturas a redução da produção provocada pelo déficit hídrico, o que pode depender da gravidade e a duração do estresse, bem como, do genótipo da plantas e o período do desenvolvimento vegetal ao qual foi imposto.

A fase do desenvolvimento das plantas de arroz mais sensível ao estresse hídrico é a fase reprodutiva, a qual necessita de maior quantidade de água, especialmente nos estádios de florescimento e enchimento dos grãos, o que compromete a produtividade do arroz. A falta de água nessa fase provoca esterilidade ou má formação de espiguetas (MOREIRA e KLUGE, 1999). Na fase de maturação, a deficiência hídrica afeta o peso das sementes de arroz (STONE et al., 1986). No entanto, o estresse hídrico foi imposto durante a fase vegetativa do desenvolvimento das plantas de arroz, e de acordo com Crusciol et al. (2003), que afirmam que

quando a deficiência hídrica ocorre durante a fase vegetativa, pode-se observar plantas com baixo perfilhamento, área foliar reduzida, além de aumento no número de dias do ciclo da cultura. Tais alterações, pode ter refletido no menor rendimento da cultura, sobretudo das plantas não inoculadas.

Alguns autores afirmam ainda que, se o estresse hídrico for imposto na fase vegetativa do desenvolvimento vegetal, nesse período não estão sendo formados os componentes reprodutivos, assim os efeitos sobre a produção de grãos são atenuados posteriormente, logo assim que as condições hídricas se tornarem favoráveis, o que poderia garantir níveis satisfatórios de rendimento de grãos (BERGAMASCHI et al., 2006). Dessa forma, a imposição do déficit hídrico durante a fase vegetativa, não são consideradas críticas, e não comprometem significativamente a produtividade esperada.

Contudo, diante de tais perspectivas, não foi o observado neste estudo, as plantas de arroz vermelho que foram submetidas ao estresse hídrico na fase vegetativa do desenvolvimento, apresentaram menor produtividade total e menor massa seca de 1000 grãos com o aumento da restrição hídrica, independentemente da condição de inoculação, sendo que as plantas tratadas com a bactéria apresentaram menores decréscimos da produtividade. As respostas das plantas após o período de estresse, bem como, a interação com outros fatores, são extremamente importantes, para se avaliar os efeitos desse estresse (PLAUT, 2003).

O baixo potencial produtivo das culturas sob estresse hídrico, pode ser explicado em função das alterações da relação fonte-dreno (AMUDHA e BALASUBRAMANI, 2011; SILVA et al., 2012). De acordo com McMichael e Quisenberry (1993), o déficit hídrico pode mudar a partição de assimilados entre as raízes e parte aérea, o que pode causar grande efeito na produtividade da planta, diminuindo também o acúmulo de fitomassa da parte aérea.

Com o decréscimo das taxas fotossintéticas durante o período de déficit hídrico, é reduzida a quantidade de assimilados disponíveis para a exportação para os órgãos drenos (Kim et al., 2000). Uma vez que, durante o período de estresse hídrico ocorre maior alocação de matéria seca nas raízes, dessa forma, com maior taxa de translocação de assimilados para essa área, com a finalidade de aumentar a absorção de água (LEPORT et al., 2006).

A taxa de exportação de assimilados (a sacarose) da fonte (folhas) para os drenos (frutos ou sementes) é dependente da taxa fotossintética e da concentração de sacarose foliar, a qual reduz em decorrência do déficit hídrico, que promove o aumento da atividade de uma enzima denominada invertase ácida. Desse modo, a redução na taxa de fotossíntese e as baixas concentrações de sacarose nas folhas podem causar diminuição das taxas de exportação de

assimilados (sacarose) para os órgãos dreno, afetando, assim, o desenvolvimento reprodutivo do vegetal (KOMOR, 2000; KIM et al., 2000).

Dessa forma, o déficit hídrico reduz o crescimento e desenvolvimento da planta, levando a produção de órgãos pouco desenvolvidos, flores reduzidas e problemas com o enchimento dos grãos. A diminuição do enchimento de grãos ocorre devido a diminuição na acumulação de sacarose e enzimas de síntese de amido (FAROOQ et al., 2009).

A bactéria mais uma vez agiu no sentido de atenuar os efeitos deletérios do estresse hídrico, uma vez que, promoveu a manutenção das taxas de fotossíntese líquida, mesmo sob estresse nas plantas inoculadas.

## 6. CONCLUSÕES

O déficit hídrico influenciou negativamente todos os parâmetros avaliados, independentemente da condição de inoculação;

A interação planta-bactéria foi bem sucedida, entre o genótipo de arroz vermelho e a bactéria endofítica *G. diazotrophicus*;

A colonização desses microrganismos potencializou na planta hospedeira várias das respostas ao estresse hídrico, sendo a inoculação com a bactéria *G. diazotrophicus*, uma potencial ferramenta contra o estresse hídrico em arroz vermelho;

Em condições de restrição hídrica a interação planta-bactéria influenciou positivamente as trocas gasosas, com maiores taxas de condutância estomática, transpiração e fotossíntese líquida, bem como promoveu incrementos na produção total, e no crescimento da planta;

Os resultados demonstram um aumento da tolerância ao déficit hídrico por parte das plantas inoculadas, impedindo que os efeitos deletérios do estresse inibam o crescimento e desenvolvimento vegetal, garantindo a manutenção das atividades fotossintéticas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMAD P.; PRASAD M. N. V. Abiotic Stress Responses in Plants: Metabolism, Productivity and Sustainability. **Springer Science Business Media**, New York, NY, 2012.

ALFONSO, S.U.; BRÜGGEMANN, W. Photosynthetic responses of a C3 and three different metabolic subtypes to drought stress. **Photosynthesis Research**, v.112, p.175-191, 2012.

AMUDHA, J.; BALASUBRAMANI, G. Recent molecular advances to combat abiotic stress tolerance in crop plants. **Biotechnology and Molecular Biology Review**, Frankfurt, v.6, p.31-58, 2011.

ANGELOCCI, L. R. Água na planta e trocas gasosas/energéticas com a atmosfera: introdução ao tratamento biofísico. Piracicaba: **Edição do autor**. 272 p. 2002.

ANGELOCCI, L.R.; MARIN, F.R.; OLIVEIRA, R.F.; RIGHI, E.Z. Transpiration, leaf diffusive conductance, and atmospheric water demand relationship in an irrigated acid lime orchard. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 16, p. 53-64, 2004.

ARORA, N.K.; KHARE, E.; MAHESHWARI, D.K. Plant growth promoting rhizobacteria: constraints in bioformulation, commercialization, and future strategies. In: **Plant growth and health promoting bacteria**. Springer Berlin Heidelberg, p. 97-116, 2010.

ARSHAD, M.; FRANKENBERGER W.T.; Ethylene: agricultural sources and applications. **Kluwer Academic / Plenum Publishers**, New York, 2002.

ARSHAD, M.; SALEEM, M.; HUSSAIN, S. Perspectives of bacterial ACC deaminase in phytoremediation. **Trends Biotechnol**, v. 25, p. 356-362, 2007.

ASADA, K. Production and Scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. **Plant Physiology**, Rockville, v. 141, p. 391-396, 2006.

BAKER, N.R; Chlorophyll fluorescence a probe of photosynthesis in vivo. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 89-113, 2008.

BAPTISTA, J. M.; ALMEIDA, M. D. C.; VIEIRA, P.; SILVA, A. C. M.; RIBEIRO, R.; FERNANDO, R. M.; CAMEIRA, M. D. R. Programa nacional para o uso eficiente da água. **Lisboa: Instituto Superior de Agronomia**, 212p, 2001.

BALDANI, V.L.D. **Efeito da inoculação de Herbaspirillum spp no processo de colonização e infecção de plantas de arroz e, ocorrência e caracterização parcial de uma nova bactéria diazotrófica**. Tese de Doutorado, UFRRJ, 290 p. 1996.

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

BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: Special emphasis on the Brazilian experience. **An. Acad. Bras. Cienc.** 77:549-579, 2005.

BARBOSA, Leonardo de Paiva. **Avaliação de métodos para controle de qualidade de inoculantes para soja**. Lavras, MG, 2014. (Tese de Doutorado). UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS.

BHARGAVA S.; SAWANT, K. Drought stress adaptation: metabolic adjustment and regulation of gene expression. **Plant Breeding**, v. 132, n. 1, p. 21-32, 2013.

BEEBE, S.E.; RAO, I.M.; BLAIR, M.W.; ACOSTA-GALLEGOS, J.A. Phenotyping common beans for adaptation to drought. **Frontier in Physiology**, v. 4, p. 35, 2013.

BERGAMASCHI, H., DALMAGO, G. A., COMIRAN, F., BERGONCI, J. I., MÜLLER, A. G., FRANÇA, S.; PEREIRA, P. G. Water deficit and yield in maize crop. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 2, p. 243-249, 2006.

BERTALAN M.; ALBANO R.; DE PÁDUA V.; ROUWS L.; ROJAS C.; HEMERLY A.; TEIXEIRA K.; SCHWAB S.; ARAUJO J.; OLIVEIRA A.; FRANÇA L.; MAGALHÃES V.; ALQUÉRES S.; CARDOSO A.; ALMEIDA W.; LOUREIRO M.M.; NOGUEIRA E.; CIDADE D.; OLIVEIRA D.; SIMÃO T.; MACEDO J.; VALADÃO A.; DRESCHSEL M.; FREITAS F.; VIDAL M.; GUEDES H.; RODRIGUES E.; MENESES C.; BRIOSO P.; POZZER L.; FIGUEIREDO D.; MONTANO H.; JUNIOR J.; DE SOUZA FILHO G.; MARTIN QUINTANA



FLORES V.; FERREIRA B.; BRANCO A.; GONZALEZ P.; GUILLOBEL H.; LEMOS M.; SEIBEL L.; MACEDO J.; ALVES-FERREIRA M.; SACHETTO-MARTINS G.; COELHO A.; SANTOS E, AMARAL G.; NEVES A.; PACHECO A.B.; CARVALHO D.; LERY L.; BISCH P.; RÖSSLE S.C.; URMÉNYI T.; RAEL PEREIRA A.; SILVA R.; RONDINELLI E.; VON KRÜGER W.; MARTINS O.; BALDANI J.I.; FERREIRA P.C. Complete genome sequence of the sugarcane nitrogen-fixing endophyte *Gluconacetobacter diazotrophicus* Pal5. **BMC Genomics** v.10, p.450-483, 2009.

BISWAS, J. C.; LADHA, J. K.; DAZZO, F. B.; YANNI, Y. G.; ROLFE, B. G. Rhizobial inoculation influences seedling vigor and yield of rice. **Agronomy Journal**, Madison, v. 92, n. 5, p. 880-886, 2000.

BRASIL, 2011. Instrução Normativa n 13 de 24 de março de 2011. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, n 58 de 25 de março de 2011, p .3-4. 2011.

BULGARELLI, D.; SCHLAEPPI, K.; SPAEPEN, S.; VAN THEMAAT, E. V. L.; SCHULZE-LEFERT, P. Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 64, p. 807-838, 2013.

BUTLER, W.L.; KITAJIMA, M. A tripartite model for chloroplast fluorescence, In: **Proceedings of the 3 international congresso on photosynthesis**. Editora M. Avron, Elsevier Amsterdam, p. 13-24, 1975.

CARLESSO, R.; ZIMMERMANN, L.F. Água no solo: parâmetros para dimensionamento de sistemas de irrigação. **Santa Maria: UFSM**, 88p. 2000.

CARVALHO, G.A.B.; HUNGRIA, M.; MIURA, L.M. Análise e controle da qualidade de inoculantes microbianos de interesse agrícola: bactérias fixadoras de nitrogênio. In: **Jornada acadêmica da embrapa soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2009, v.4, p. 86-90. (Embrapa Soja. Documentos, 312). Editado por Odilon Ferreira Saraiva, Paula Geron Saiz Melo. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/574713>

CAVALCANTE, V.A.; DÖBEREINER, J. A new acid-tolerant nitrogen-fixing bacterium associated with sugarcane. **Plant and Soil**. v.108, p.23-31, 1988.

CHA-UM, S.; KIRDMANEE, C. Remediation of salt-affected soil by the addition of organic matter: an investigation into improving glutinous rice productivity. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 68, n. 4, p. 406-410, 2011.

CHANG H., JONES M.L., BANOWETZ G.M., CLARK D.G. Overproduction of cytokinins in petunia flowers transformed with P(SAG12) - IPT delays corolla senescence and decreases sensitivity to ethylene. **Plant Physiol.** v. 132, p. 2174–2183, 2003.

CHAVES, M.M.; MAROCO, J.P.; PEREIRA, J.S. Understanding plant responses to drought – from genes to the whole plant. **Functional Plant Biology**, v.30, p.239-264, 2003.

CHAVES, M.M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: Regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of Botany**, p. 1-10, 2009.

CHAVES M.M., OLIVEIRA M.M. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for watersaving agriculture. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, p. 2365–2384, 2004.

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** v. 24, p. 199-204, 2001.

CHENU C.; ROBERSON E.B. Diffusion of glucose in microbial extracellular polysaccharide as affected by water potential. **Soil Biol Biochem**, v. 28, p. 877–884, 1996.

CHOW B., MCCOURT P. Hormone signalling from a developmental context. **J. Exp. Bot.** v. 55, p. 247–251, 2004.

CLAEYS, H.; INZÉ, D. The agony of choice: how plants balance growth and survival under water-limiting conditions. **Plant Physiology**, v. 162, p. 1768–1779, 2013.

COHEN, A. C., BOTTINI, R., AND PICCOLI, P. N. *Azospirillum brasilense* sp 245 produces ABA in chemically-defined culture medium and increases ABA content in Arabidopsis plants. **Plant Growth Regulation**, v. 54, p. 97–103, 2008.

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 and Biochemistry**, v. 42, p. 669 – 678, 2010.

COUNCE, P.A.; KEISLING, T.C.; MITCHELL, A.J.; Uniform, objective and adaptive system for expressing rice development. **Crop Science**, v. 40, p. 436-443, 2000.

CREUS, C. M.; SUELDO, R. J.; BARASSI, C. A. Water relations and yield in *Azospirillum*-inoculated wheat exposed to drought in the field. **Canadian Journal of Botany**, v.82, p.273-281, 2004.

CRUSCIOL, C. A. C.; ARF, O.; SORATTO, R. P.; ANDREOTTI, M.; RODRIGUES, R. A. F. Produtividade e qualidade industrial de grãos de arroz de terras altas em função de lâminas de água no sistema irrigado por aspersão. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 25, n. 21, p. 125-130, 2003.

CRUSCIOL, C. A. C.; ARF, O.; SORATTO, R. P.; MATEUS, G. P. Grain of upland rice genótipos in response to cropping systems in the Brazilian tropical savanna. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 65, n.5, p. 468-473, 2008.

DALE, J. E. The control of leaf expansion. **Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol**, v. 39, p. 267–295, 1988.

DARTORA, J., GUIMARÃES, V. F., MARINI, D., & SANDER, G. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **R Bras Eng Agríc Ambiental**, v. 17, p. 1023-1029, 2013.

DAVIES, W. J., KUDOYAROVA, G., & HARTUNG, W. Long-distance ABA signaling and its relation to other signaling pathways in the detection of soil drying and the mediation of the plant's response to drought. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 24, n. 4, p. 285-295, 2005.

DAVIES W.J., ZHANG J. Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. **Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.** v. 42, p. 55–76, 1991.

DIAS, JANICE MARIA RIBEIRO. **Estudo da produção de ácido abscísico em *gloconacetobacter dizotrophicus* e caracterização do efeito da inoculação por tal bactéria na resposta de plantas de cana de açúcar aos estresses hídrico e salino.** Campos dos Goytacazes Rio de janeiro, 2010, Tese: Doutorado. Universidade estadual do norte fluminense Darcy Ribeiro – UENF.

DOBBELAERE, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. **Crit. Rev. Plant. Sci.** v. 22, p. 107-149, 2003.

DOBEREINER, J. History and new perspectives of diazotrophs in association with non-leguminous plants. **Symbiosis, Rehovot**, v. 13, p. 1-13, 1992.

DOBRA, J.; MOTYKA, V.; DOBREV, P.; MALBECK, J.; PRASIL, I.T.; HASEL, D.; GAUDINOVA, A.; HAVLOVA, M.; GUBIS, J.; VANKOVA, R. Comparison of hormonal responses to heat, drought and combined stress in tobacco plants with elevated proline contents. **Journal of Plant Physiology**, v. 167, p. 1360–1370, 2010.

DOORNBOS, R. F.; VAN LOON, L. C.; BAKKER, P. A. H. M. Impact of root exudates and plant defense signaling on bacterial communities in the rhizosphere. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 32, p. 227-243, 2012.

DUQUE, L.O., SETTER, T.L. Cassava response to water deficit in deep pots: root and shoot growth, ABA, and carbohydrate reserves in stems, leaves and storage roots. **Tropical Plant Biology**, v. 6, p. 199–209, 2013.

EGAMBERDIEVA D.; KUCHAROVA Z. Selection for root colonizing bacteria stimulating wheat growth in saline soils. **Biol Fert Soil**, 2009.

FAGERIA, N.K. Deficiência hídrica em arroz de cerrado e resposta ao fósforo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 15, p. 259-65, 1980.

FARINA, R.; BENEDUZI, A.; AMBROSINE, A.; de CAMPOS, S. B.; LISBOA, B. B.; WENDISCH, V.; VARGAS, L. K. Diversity of plant growth-promoting rhizobacteria communities associated with the stages of canola growth. **Applied Soil Ecology**, v. 55, p. 44-52, 2012.

FAROOQ, M.; WAHID, A.; KOBAYASHI, D.; FUJITA, D.; BASRA, S. M. A. Plant drought stress effects, mechanisms and management. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 29, p.185-212, 2009.

FERREIRA, E. P. B.; KNUPP, A. M.; MARTIN-DIDONET, C. C. G. Crescimento de cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) influenciado pela inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 3, p. 655-665, 2014.

FERREIRA ME, YAMADA T & MALAVOLTA E. A cultura do arroz de sequeiro. In: Ferreira ME, Yamada T & Malavolta E (Eds.) **Fisiologia do Arroz**. Piracicaba, Instituto da Potassa e Fosfato. p.77-90, 1983.

FERREIRA, J. S. **Seleção e avaliação de veículos para inoculação de bactérias diazotróficas na cultura do arroz inundado**, Seropédica, 2004, 44f. Dissertação (Mestrado em Ciência do

solo), Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

FIGUEIREDO, M. V.; BURITY, H. A.; MARTÍNEZ, C. R.; CHANWAY, C. P. Alleviation of drought stress in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by co-inoculation with *Paenibacillus polymyxa* and *Rhizobium tropici*. **Applied soil ecology**, v. 40 n.1, p. 182-188, 2008.

FINKELSTEIN R.R., GAMPALA S.S., ROCK C.D. Abscisic acid signaling in seeds and seedlings. **Plant Cell** (suppl.), v. 14, p. 15–45, 2002.

FLEXAS, J., MEDRANO, H. Drought-inhibition of photosynthesis in C3 plants: stomatal and non-stomatal limitations revisited. **Ann. Bot.** v. 89, p. 183–189, 2002.

FLOSS, E.L. **Fisiologia das plantas cultivadas: o estudo do que está por trás do que se vê**. 4.ed. Passo Fundo: Universidade de Passo Fundo, 733p. 2008.

FONSECA, J. R.; de CASTRO, E. D. M.; de MORAIS, O. P.; SOARES, A. A.; PEREIRA, J. A.; da SILVA L.; RESENDE, V. L. J. M.; **Descrição morfológica, agrônômica, fenológica e culinária de alguns tipos especiais de arroz (*Oryza sativa* L.)**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão (Documentos, 210), 2007.

FORNASIERI FILHO, D.; FORNASIERI, J. L. **Manual da cultura do arroz**. Jaboticabal: FUNEP, p. 589, 2006.

FUENTES-RAMIREZ, L.E., CABALLERO-MELLADO, J., SEPULVEDA, J. & MARTINEZ-ROMERO, E. Colonization of sugarcane by *Acetobacter diazotrophicus* is inhibited by high N-fertilization. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 29, p. 117–127, 1999.

GALINSKI, E.A. Osmoadaptation in bacteria. **Advances in Microbial Physiology**, v. 37, p. 272–328, 1995.

GILLIS, M.; KERSTERS, K. *Acetobacter diazotrophicus* sp. nov., a nitrogen fixing acetic acid bacterium associated with sugarcane. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v.39, n.3, p.361-364, 1989.

GLICK B. R. Modulation of plant ethylene levels by the bacterial enzyme ACC deaminase. **FEMS Microbiol Lett.** v. 251 p. 1–7, 2005.

GLICK B. R. Promotion of plant growth by bacterial ACC deaminase. **Crit Rev Plant Sci**, v. 26, p. 227–242, 2007.

GLICK, B.R., PATTEN, C.L., HOLGUIN, G. E PENROSE, D.M. Biochemical and genetics mechanisms used by plant growth promoting bacteria. **Imperial College Press**, London, 1999.

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

GROVER, M.; ALI, S. Z.; SANDHYA, V.; RASUL, A.; VENKATESWARLU, B. Role of microorganisms in adaptation of agriculture crops to abiotic stresses. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 27 n. 5, p. 1231-1240, 2011.

GUIMARÃES, C. M.; SANTOS, A. B.; MAGALHÃES JÚNIOR, A. M.; STONE, L. F. Sistemas de cultivo. In: SANTOS, A. B.; STONE, L. F.; VIEIRA, N. R. A. (Ed.). **A cultura do arroz no Brasil**. Goiânia: EMBRAPA-CNPAP, p. 53-96, 2006.

GUIMARÃES, C. M.; FAGERIA, N. K.; BARBOSA FILHO, M. P. Como a planta de arroz se desenvolve. **Arquivo do Agrônomo**, Campinas, n.13, p.1-12, 2002.

GUIMARÃES, M.C.; STONE, L.F.; OLEIVEIRA, J.P.; RANGEL. P. H. N.; RODRIGUES, C.A.P. Sistema radicular do arroz de terras altas sob deficiência hídrica. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 41, n. 1, p. 126-134 p, 2011.

HAN, H. S.; LEE, K. D. Plant growth promoting rhizobacteria effect on antioxidant status, photosynthesis mineral uptake and growth of lettuce under soil salinity. **Research Journal of Agriculture and Biological Sciences**, v.1, p. 210-215, 2005.

HA, S.; VANKOVA, R.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K.; TRAN, L.S. Cytokinins: metabolism and function in plant adaptation to environmental stresses. **Trends Plant Sci**, v. 17, p. 172–179, 2012.

HANSEN H., DÖRFFLING K. Root-derived trans-zeatin riboside and abscisic acid in drought-stressed and rewatered sunflower plants: interaction in the control of leaf diffusive resistance? **Funct. Plant Biol**, v. 30, p. 365– 375, 2003.

HARDOIM P. R.; VAN OVERBEEK, S.V.; VAN ELSAS, J.D. Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. **Trends Microbiol**, v. 16, p. 463–471, 2008.

HAYNES R.J.; SWIFT R.S. Stability of soil aggregates in relation to organic constituents and soil water content. **J Soil Sci**, 41:73–83, 1990.

JOSÉ LUIS DA SILVA NUNES (2010). **Características do Arroz (*Oryza sativa*)**, disponível em: <http://www.agrolink.com.br/culturas/arroz/caracteristicas.aspx>, acessado dia 02/02/2016.

JÚNIOR, F. B. R.; SILVA, L. G.; REIS, V. M.; DÖBEREINER, J. Ocorrência de bactérias diazotróficas em diferentes genótipos de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n.5, 2000.

KASCHUK, G.; KUYPER, T.W.; LEFFELAAR, P.A.; HUNGRIA, M.; GILLER, K. E. Are the rates of photosynthesis stimulated by the carbon sink strength of rhizobial and arbuscular mycorrhizal symbioses? **Soil Biology & Biochemistry**, v. 41, p. 1233-1244. 2009.

KERSTERS, K.; LISDIYANTI, P.; KOMAGATA, K.; SWINGS, J. The Family Acetobacteraceae: The genera *Acetobacter*, *Acidomonas*, *Asaia*, *Gluconacetobacter*, *Gluconobacter*, and *Kozakia*. In: DWORKIN, M.; FALKOW, S.; ROSENBERG, E.; SCHLEIFER, K. H.; STACKEBRANDT, E. (Eds.). **The Prokaryotes: A handbook on the biology of bacteria: Proteobacteria: Alpha and beta sub classes**. New York: Springer, v. 5, p.163-200, 2006.

KIM, J.Y., MAHÉ, A., BRANGEON, J., PRIOUL, J.L. A maize vacuolar invertase, IVR2, is induced by water stress. Organ/tissue specificity and diurnal modulation of expression. **Plant Physiol.** v. 124, p. 71–84, 2000.

KOHLER, J.; HERNÁNDEZ, J. A.; CARAVACA, F.; ROLDÁN, A. Plant-growth-promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi modify alleviation biochemical mechanisms in water-stressed plants. **Functional Plant Biology**, v. 35, p. 141–151, 2008.

KOMOR, E. Source physiology and assimilate transport: the interaction of sucrose metabolism, starch storage and phloem export in source leaves and the effects on sugar status in phloem. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 27, p. 497-505, 2000.

KONRAD, M. L. F.; SILVA, J. A. B.; FURLANI, P. R.; MACHADO, E. C. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila em seis cultivares de cafeeiro sob estresse de alumínio. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n. 3, p. 30-37, 2005.

KRAMER, P.J; BOYER, J.S. Water Relations of Plants and Soils. **American Press**, 1995.

KRIEGER-LISZKAY A. Singlet oxygen production in photosynthesis. **Journal of Experimental Botany**, v. 56, p. 337-346, 2005

KRISHNAN, A.; PEREIRA, A. Integrative approaches for mining transcriptional regulatory programs in Arabidopsis. **Brief Function Genomics Proteomics**, v. 7, p. 264–274, 2008.

KUDOYAROVA G.R, VYSOTSKAYA L.B, CHERKOZYANOVA A, DODD I.C. Effect of partial rootzone drying on the concentration of zeatin-type cytokinins in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) xylem sap and leaves. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, p. 161–168, 2007.

KUSS, A.V. **Fixação de nitrogênio por bactérias diazotróficas em cultivares de arroz irrigado**. Santa Maria - RS, Tese (Doutorado em Ciência do Solo) - Universidade Federal de Santa Maria – UFRB, 109p. 2006.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima, 2006. 753p.

LAWLOR, D.W. Genetic engineering to improve plant performance under drought: physiological evaluation of achievements, limitations, and possibilities. **Journal of Experimental Botany**, v.64, p. 83–108, 2013.

LAWLOR, D. W.; TEZARA, W. Causes of decreased photosynthetic rate and metabolic capacity in water-deficient leaf cells: a critical evaluation of mechanisms and integration of processes. **Annals of botany**, 2009.

LAWLOR D.W. Limitations to photosynthesis in water-stressed leaves: stomatal vs metabolism and the role of ATP. **Annals of Botany**, v. 89, p. 871-885, 2002.

LAWLOR D.W; CORNIC G. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. **Plant, Cell and Environment**, v. 25, p. 275-294, 2002.

LEMOS-FILHO, J.P. Fotoinibição em três espécies do cerrado (*Annona crassifolia*, *Eugenia dysentericae* e *Campomanesia adamantium*) na estação seca e na chuvosa. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 23, p. 45-50, 2000.

LEPORT, L., TURNER N.C., FRENCH R.J., BARR M.D., DUDA R., DAVIES S.L. Physiological responses of chickpea genotypes to terminal drought in a Mediterranean-type environment. **Eur. J. Agron.** v. 11, p. 279–291, 2006.

MACHADO, E. C.; MEDINA, C. L.; GOMES, M. M. A. Teor de água no substrato de crescimento e fotossíntese em laranjeira “Valença”. **Bragantia**, Campinas, v.58, n.2, p.217-226, 1999.



MACHADO, R. S.; RIBEIRO, R. V.; MARCHIORI, P. E. R.; MACHADO, D. F. S. P.; MACHADO, E. C.; LANDELL, M. G. A. Respostas biométricas e fisiológicas ao deficit hídrico em cana-de-açúcar em diferentes fases fenológicas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n.12, p.1575-1582, 2009.

MAYAK, S.; TIROSH T.; GLICK B. R. Plant growth promoting bactéria that confer resistance to water stress in tomato and pepper. **Plant Sci**, p. 525–530, 2004.

MENESES, C. H. S. G.; ROUWS, L. F. M.; ARAÚJO, J. L. S.; VIDAL, M. S.; BALDANI, J. I. Exopolysaccharide production is required for biofilm formation and plant colonization by the nitrogen-fixing endophyte *Gluconacetobacter diazotrophicus*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**. Rio de Janeiro, v. 24, n. 12, p. 1448–1458, 2011.

MENEZES, B. R. S.; MOREIRA, L. B.; PEREIRA, M. B.; LOPES, H. M.; COSTA, E. M.; CURTI, A. T. M. Características morfoagronômicas de dois genótipos de arroz vermelho em cultivo inundado. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. Recife, v.7, n.3, p. 394-401, 2012.

McMICHAEL, B. L. & QUISENBERRY, J. E. The impact of the soil environment on the growth of root systems. **Environmental and Experimental Botany**, v.33, p. 53-61, 1993.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Plant Science**, Limerick, v.7, n.9, 2002.

MIZOI, J., SHINOZAKI, K., & YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. AP2/ERF family transcription factors in plant abiotic stress responses. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Regulatory Mechanisms**, v. 1819, n. 2, p. 86-96, 2012.

MOREIRA, M.F.; KLUGE, R.A. Arroz. In. CASTRO, P.R.C.; KLUGE, R.A. (Eds.). **Ecofisiologia de cultivos anuais**. São Paulo: Nobel, p. 91-108, 1999.

MULLER, B.; PANTIN, F.; GÉNARD, M.; TURC, O.; FREIXES, S.; PIQUES, M.; GIBON, Y. Water deficits uncouple growth from photosynthesis, increase C content, and modify the relationships between C and growth in sink organs. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, p. 1715–1729, 2011.

MUTHUKUMARASAMY, U. G., KANG, K. D., PARK, W. T., JEON, C. Y., PARK, Y. S., CHO, S. W., KWON, J., SONG, D. H., AND REVATHI G. Enumeration, isolation and identification of diazotrophs from Korean wetland rice varieties grown with long-term

application of N and compost and their short-term inoculation effect on rice plants. **J. Appl. Microbiol.** 102:981-991, 2007.

MUTHUKUMARASAMY, R.; CLEENWERCK, I.; REVATHI, G.; VADIVELU, M.; JANSSENS, D.; HOSTE, B.; GUM, K. U.; PARK, K. D.; SON, C. Y.; SA, T. M.; CABALLERO-MELLADO, J. Natural association of *Gluconacetobacter diazotrophicus* and diazotrophic *Acetobacter peroxydans* with wetland rice. **Systematic and Applied Microbiology**, Munique, v.28, n.4, p.277–286, 2005.

NASCIMENTO, J. T.; PEDROSA, M. B.; TAVARES SOBRINHO, J. Efeito da variação de níveis de água disponível no solo sobre o crescimento e produção do feijão caupi, vagens e grãos verdes. **Horticultura Brasileira**, v.22, p.174-177, 2004.

NAVEED, M., MITTER, B., REICHENAUER, T. G., WIECZOREK, K., & SESSITSCH, A. Increased drought stress resilience of maize through endophytic colonization by *Burkholderia phytofirmans* PsJN and *Enterobacter* sp. FD17. **Environmental and Experimental Botany**, v. 97, p. 30-39, 2014.

NEVES, C. F. C., SCHVARTZMAN, M. M. A. M. Variables search technique applied to gas separation. **Química Nova**. São Paulo, v. 25, n. 2, p. 327-329, 2002.

NISHIYAMA R, WATANABE Y, FUJITA Y, LE DT, KOJIMA M, WERNER T, VANKOVA R, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K, SHINOZAKI K, KAKIMOTO T. Analysis of cytokinin mutants and regulation of cytokinin metabolic genes reveals important regulatory roles of cytokinins in drought, salt and abscisic acid responses, and abscisic acid biosynthesis. **The Plant Cell**, v. 23, p. 2169–2183, 2011.

NGUYEN, H.T.; BABU, R.C.; BLUM, A. Breeding for drought resistance in rice: physiology and molecular genetics considerations. **Crop Science**, v. 37, p. 1426-1437, 1997.

OKON, Y; LABANDERA-GONZALEZ, C. A. Review agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 26, p. 1591–1601, 1994.

OLIVARES, F.L.; REIS, V.M. & FAÇANHA, A.R. The role of endophytic diazotrophic in sugarcane root morphogenesis and development. In: FINAN, T.M.; O'BRIAN, M.R.; LAYZELL, D.B., VESSEY, J.K. & NEWTON. W., eds. **Nitrogen fixation: Global perspectives**. Oxon, CAB International, p.476-477, 2000.

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

OLIVEIRA, A. L. M.; DOS REIS COSTA, K.; FERREIRA, D. C.; MILANI, K. M. L.; DOS SANTOS, O. J. A. P.; SILVA, M. B.; ZULUAGA, M. Y. A. Biodiversity of soil bacteria and its applications for a sustainable agriculture. **Biochemistry and Biotechnology Reports, BBR**, v. 3 n. 1, p. 56-77. 2014.

OMETTO J.P.H.B., EHLERINGER, J. R., MARTINELLI, L. A., BERRY, J., FLANAGAN, L., DOMINGUES, T. F., & HIGUCHI, N. Variação temporal do isótopo estável do carbono em material arbóreo em florestas da região Amazônica. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ECOLOGIA, 4. 2003, Fortaleza. **Anais...** Rio Claro: Sociedade de Ecologia do Brasil, 2003.

PAIVA, A. S. FERNANDES, E. J., RODRIGUES, T. J., & TURCO, J. E. Condutância estomática em folhas de feijoeiro submetido a diferentes regimes de irrigação. **Engenharia Agrícola**, Piracicaba, v. 25, n. 1, p. 161-169, 2005.

PEIXOTO, P. H. P.; MATTA, F. M.; CAMBRAIA, J. Responses of the photosynthetic apparatus to aluminum stress in two sorghum cultivars. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 25, n. 4, p. 821-832, 2002.

PEREIRA, J. A. **O arroz-vermelho cultivado no Brasil**. Teresina; Embrapa Meio-Norte, 2004.

PEREIRA, J. A.; de MORAIS, O. P. **As variedades de arroz vermelho brasileiras**. Teresina: Embrapa Meio-Norte (Embrapa Meio-Norte. Documentos, 229), p. 38, 2014.

PEREIRA, J. A.; de MORAIS, O. P., FILHO, J. M. C.; TORGA, P. P.; BASSINELLO, P. Z.; da SILVA, J. A.; CÂMARA, RIBEIRO, V. Q.; BRS 902: Cultivar de arroz vermelho para o mercado tradicional brasileiro. In: **IX Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado (CBAI)**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Teresina, Piauí. 2015, disponível em: <http://www.cbai2015.com.br/docs/trab-1-5479-201.pdf>

PEREIRA, J. A.; BASSINELLO, P. Z.; FONSECA, J. R.; RIBEIRO, V. Q. Potencial genético de rendimento e propriedades culinárias do arroz-vermelho cultivado. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 20, n. 1, p. 43-48, jan./mar. 2007.

PEREIRA, J. A. **O arroz e outros elementos culturais da Guiné-Bissau**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, v. 300, p. 77, 2008.

PEREIRA, J. A. **Cultura do arroz no Brasil**: subsídios para a sua história. Teresina: Embrapa Meio-Norte, p. 226, 2002.

PEREIRA, J. A.; BASSINELLO, P. Z.; CUTRIM, V. A.; RIBEIRO, V. Q. Comparação entre características agronômicas, culinárias e nutricionais em variedades de arroz branco e vermelho. **Caatinga**, Mossoró, v. 22, n. 1, p. 243-248, 2009.

PEREIRA, J. A.; MORAIS, O. P.; BRESEGHELLO, F. **Análise da heterose de cruzamentos entre variedades de arroz-vermelho**. Pesquisa Agropecuária Brasileira (1977. Impressa), v. 43, p. 1135-1142, 2008.

PEREIRA, V. R., JASMIM, J. M., MANHÃES, N. E., DE CASTRO, B. B., & DA SILVA, L. A. A. **Bactérias promotoras do crescimento vegetal, diferentes substratos e adubação em Alcantarea Vinicolor**. *Confict*. 2013. Disponível em: <http://essentiaeditora.iff.edu.br/index.php/confict/article/viewFile/4240/2383>

PEREIRA, W., LEITE, J. M., HIPÓLITO, G. D. S., SANTOS, C. L. R. D., & REIS, V. M. Acúmulo de biomassa em variedades de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes estirpes de bactérias diazotróficas. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44 n. 2, p. 363-370, 2013.

PEREIRA, W.E.; SIQUEIRA, D.L.; MARTINEZ, C.A.; PUIATTI, M. Gas exchange and chlorophyll fluorescence in four citrus rootstocks under aluminium stress. **Journal of Plant Physiology**, v.157, p.513-520, 2000.

PIMENTEL, C. **A relação da planta com a água**. EDUR - Editora Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, RJ. 191 páginas 1ª edição, 2004.

PINHEIRO, B. S. Características morfofisiológicas da planta relacionadas à produtividade. In: SANTOS, A.B.; STONE, L.F.; VIEIRA, N.R.A. (Ed.). **A cultura do arroz no Brasil**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, p.209-256, 2006.

PINHEIRO, C.; CHAVES, M. Photosynthesis and drought: can we make metabolic connections from available data? **Journal of Experimental Botany**, v.62, p.869-882, 2011.

PLAUT, Z. Plant exposure to water stress during specific growth stages. **Encyclopedia of Water Science**, Taylor & Francis, pp. 673– 675, 2003.

POSPISILOVA J. Participation of phytohormones in the stomatal regulation of gas exchange during water stress. **Biol. Plant**, v. 46, p. 491–506, 2003.

POSPISILOVA J., BATKOVA P. Effects of pre-treatments with abscisic acid and/or benzyladenine on gas exchange of French bean, sugar beet, and maize leaves during water stress and after rehydration. **Biol. Plant.** v. 48, p. 395–399, 2004.

POTTS M. Desiccation tolerance of prokaryotes. **Microbiol Rev.**58:755805, 1994.

POWLES, S.B. Photoinhibition of photosynthesis induced by visible light. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 35, p. 15-44, 1984.

PUNSCHKE, K.; CARLO-MAGNO, M.; LA BANDERA, C. Potencial agronómico de bacterias fijadoras de nitrógeno endófitas de arroz. Actas Uruguay, 2005. In: V Simposio de Recursos Geneticos para América Latina y el Caribe: **Anais..** Actas Uruguay, 2005.

RAGHAVENDRA, A.S, GONUGUNTA, V.K, CHRISTMANN, A, GRILL, E. ABA perception and signalling. **Trends Plant Sci**, v. 15, p. 395–401, 2010.

REIFSCHNEIDER, F.J.B.; NASS, L.L.; HENZ, G.P.; HEINRICH, A.G.; RIBEIRO, C.S.C.; EUCLIDES FILHO, K.; BOITEUX, L.S.; RITSCHER, P.; FERRAZ, R.M.; QUECINI, V. **Uma pitada de biodiversidade na mesa dos brasileiros.** 1ª edição, 156 p. Brasília, DF. 2015.

REINHOLD-HUREK, B., HUREK, T., GILLIS, M., HOSTE, B., VANCANNEYT, M., KERSTERS, K., & DE LEY, J. Azoarcus gen. nov., nitrogen-fixing proteobacteria associated with roots of kallar grass (*Leptochloa fusca* (L.) Kunth), and description of two species, *Azoarcus indigenus* sp. nov. and *Azoarcus communis* sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 43, n. 3, 574-584, 1993.

REIS, V. M.; DÖBEREINER, J. Effect of high sugar concentration on nitrogenase activity of *Acetobacter diazotrophicus*. **Archives of Microbiology**, v.171, p.13-18, 1998.

ROBERSON E.B.; FIRESTONE, M.K. Relationship between desiccation and exopolysaccharide production in soil *Pseudomonas* sp. **Appl Environ Microbiol**, v. 58, p. 1284–1291, 1992.

ROBERT-SEILANIANZ, A.; NAVARRO, L.; BARI, R.; JONES, J.D. Pathological hormone imbalances. **Current Opinion in Plant Biology**, v 10, p. 372-379, 2007.

RODRIGUES, L. S.; BALDANI, V. L. D.; REIS, V. M.; BALDANI, J. I. Diversidade de bacterias diazotróficas endofíticas dos gêneros *Herbaspirillum* e *Burkholderia* na cultura do arroz inundado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 2, p. 275-284, 2006.

RODRIGUES NETO, J.; MALAVOLTA JUNIOR, V. A. VICTOR, O. Meio Simples para isolamento e cultivo de *Xanthomonas campestris* pv. Citri tipo B. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v.12, n.1, p.16-22, 1986.

RONTEIN, D., BASSET, G., HANSON, A.D. Metabolic engineering of osmoprotectant accumulation in plants. **Metabolic Engineering**, v. 4, p. 49–56, 2002.

ROUWS, L. F. M.; MENESES, C. H. S. G.; GUEDES, H. V.; VIDAL, M. S.; BALDANI J. I.; SCHWAB S. Monitoring the colonization of sugarcane and rice plants by the endophytic diazotrophic bacterium *Gluconacetobacter diazotrophicus* marked with gfp and gus A reporter genes. **Letters in Applied Microbiology**, Munique, v.51, n.3, p. 325–330, 2010.

RYU, C. M. Bacterial volatiles induce systemic resistance in Arabidopsis. **Plant Physiol**, v. 134, p. 1017–1026, 2004.

SALEEM, M.; ARSHAD, M.; HUSSAIN, S.; BHATTI, A. S. Perspective of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase in stress agriculture. **Journal of industrial microbiology & biotechnology**, v. 34, n. 10, p. 635-648, 2007.

SANDHYA V.; ALI S.K.Z.; GROVER M.; REDDY G.; VENKATESWARLU B. Alleviation of drought stress effects in sunflower seedlings by exopolysaccharides producing *Pseudomonas putida* strain P45. **Biol Fert Soil**, v. 46, p. 17–26, 2009.

SANTOS, A.B.; STONE, L.F. VIEIRA, N.R.A. **A cultura do arroz no Brasil**. 2 ed Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 1000p, 2006.

SANTOS, C. M. dos. **Mecanismos fisiológicos e bioquímicos da cana-de-açúcar sob estresses induzidos por deficiência hídrica e paraquat**. 2013, 93p, Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu.

SCHOLES, I. D.; HORTON, P. Photosynthesis and chlorophyll fluorescence: simultaneous measurements In: HENDRY, G. A. F.; GRIME, I. P. **Methods in comparative plant ecology**. A laboratory manual. 1.ed. Chapman & Hall, London, p. 130-135, 1993.

SHAHAROONA B.; ARSHAD M.; ZAHIR Z. A. Effect of plant growth promoting rhizobacteria containing ACC-deaminase on maize (*Zea mays* L.) growth under axenic conditions and on nodulation in mung bean (*Vigna radiata* L.). **Lett Appl Microbiol** v. 42 p. 155– 159, 2006.

SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Gene networks involved in drought stress response and tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, p. 221-227, 2007.

SILVA, A. A.; SILVA, J. F. Competição entre plantas daninhas e culturas. In: SILVA, A. A.; SILVA, J. F. (Eds.). **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, p. 17-61, 2007.

SILVA, L. A. A.; JASMIM, J. M.; MANHÃES, N. E.; OLIVARES, F. L. Bactérias promotoras do crescimento vegetal em *Pilosocereus pachycladus*. **Confict**. 2013.

SILVA, P. P., SOARES, L., DA COSTA, J. G., DA SILVA VIANA, L., DE ANDRADE, J. C. F., GONÇALVES, E. R., & RIFFEL, A. Path analysis for selection of drought tolerant sugarcane genotypes through physiological components. **Industrial Crops and Products**, v. 37, n. 1, p. 11-19, 2012.

SILVA, E. N.; RIBEIRO, R. V.; SILVA, S. L. F.; VIÉGAS, R. A.; SILVEIRA, J. A. G. Salt stress induced damages on the photosynthesis of physic nut young plants. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 68, n. 1, p. 62-68, 2011.

SILVA, E. C. A.; SOUZA, R. P.; SANTOS, N. V.; SANTOS, C. A.; NASCIMENTO, H. H. C.; NOGUEIRA, R. J. M. C. Trocas gasosas em *Moringa oleifera* submetidas ao estresse salino de curta duração, São Luis, MA, 2012. IN: 64ª Reunião Anual da SBPC, Ciência, cultura e saberes tradicionais para enfrentar a pobreza, São Luis, Maranhão. **Anais...** Universidade Federal de Maranhão - UFMA, 2012.

SOARES, A. A. **Cultura do arroz**/ Antônio Alves Soares. 3. ed. rev. Lavras: UFLA, p. 119, 2012.

SOKOLOVA, M. G.; AKIMOVA, G. P.; VAISHLYA, O. B. Effect of phytohormones synthesized by rhizosphere bacteria on plants. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v.47, p.274-278, 2011.

SOREN, K. R., ALI, K., TYAGI, V., & TYAGI, A. Recent advances in molecular breeding of drought tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). **Indian J Biotechnol**, v. 9, p. 233-251, 2010.

SOUSA JÚNIOR, I. F. **A influência da urbanização no clima da cidade de Campina Grande-PB**. Campina Grande, PB, 2006. 94f. Dissertação (Mestrado em Meteorologia), Curso de Pós-Graduação em Meteorologia, Universidade Federal de Campina Grande/UFPG.

SOUZA, F.F.; DE ALCÂNTARA, D.G.G. **A produção de arroz vermelho no vale do piancó e as ações de políticas públicas para o setor - Um Estudo de Caso sobre o Município de Santana dos Garrotes-PB**. 2012.

SOUZA, A. R.; DE SOUZA, S. A.; DE OLIVEIRA, M. V. V.; FERRAZ, T. M.; FIGUEIREDO, F. A. M. M. A.; DA SILVA, N. D.; RANGEL, C. R. S.; PANISSET, F. L.; OLIVARES, E.; CAMPOSTRINI DE SOUZA FILHO, G. A. Endophytic colonization of *Arabidopsis thaliana* by *Gluconacetobacter diazotrophicus* and its effect on plant growth promotion, plant physiology, and activation of plant defense. **Plant and Soil**, p. 1-14, 2015.

STAJNER, D., KEVRESAN, S.; GASIC, O.; MIMICA-DUKIC, N.; ZONGLI, H. Nitrogen and Azotobacter chroococcum enhance oxidative stress tolerance in sugar beet. **Biol Plantarum** v. 39, n. 3, p. 441–445, 1997.

STEENHOUDT, O.; VANDERLEYDEN, J. *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: Genetic, biochemical and ecological aspects. **FEMS (Fed. Eur. Microbiol. Soc.) Microbiol. Rev.** 24:487-506, 2000.

STEPHAN, M.P.; OLIVEIRA, M. Physiology and dinitrogen fixation of *Acetobacter diazotrophicus*. **FEMS Microbiology Letters**, v.77, n.1, p.67-72, 1991.

STONE, L.F.; LIBARDI, P.L.; REICHARDT, K. Produtividade do arroz e absorção de nitrogênio afetados pelo veranico e pela adição de vermiculita ao solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 1, p. 117-125, 1986.

STRECK, N. A.; MICHELON, S.; KRUSE, N. D.; BOSCO, L. C.; LAGO, I.; MARCOLIN, E.; SAMBORANHA, F. K. Comparação de parâmetros de crescimento e de desenvolvimento de dois biótipos de arroz vermelho com genótipos de arroz irrigado. **Bragantia**, Campinas, v. 67, n. 2, p. 349-360, 2008.

SWEENEY, M.T.; THOMSON, M.J.; PFEIL, B.E.; McCOUCH, S. Caught red handed: Rc encodes a basic helix-loop-helix protein conditioning red pericarp in rice. **The Plant Cell**, v. 18, p. 283-294, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 918 p. 2013.

TARDIEU, F.; PARENT, B.; SIMONNEAU, T. Control of leaf growth by abscisic acid: hydraulic or non-hydraulic processes? **Plant, Cell & Environment**, v. 33, p. 636–647, 2010.

TEIXEIRA, J. R.; FERREIRA, A. S.; SANTOS, M. A. Isolamento de bactérias diazotróficas do solo e de raízes de *Gossypium hirsutum*, *Saccharum officinarum* e *Zea mays* cultivados em solos do Cerrado. **Horizonte Científico**, v. 1, p. 1-20, 2008.



TEJERA, N. A.; ORTEGA, E.; GONZALEZ-LOPEZ, J.; LLUCH, C. Effect of some abiotic factors on the biological activity of *Gluconacetobacter diazotrophicus*. **Journal of Applied Microbiology**, Cuba, v. 95, n. 3, p. 528-535, 2003.

TERRA, T. G. R.; BORÉM, A.; LEAL, T. C. A.; RANGEL, P. H. N. Tolerância de linhagens de arroz de terras altas à seca. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 43, n. 2, p. 201-208, 2013.

TESTER, M.; BACIC, A. Abiotic stress tolerance in grasses. From model plants to crop plants. **Plant Physiology**, v. 137, n. 3, p. 791-793, 2005.

TRAN, L.S.; NAKASHIMA, K.; SHINOZAKI, K., AND YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Plant gene networks in osmotic stress response: from gene store gulatory networks. **Methods Enzymol.** v. 428, p. 109–128, 2007.

TRAN, L.S., SHINOZAKI, K., AND YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Role of cytokinin responsive two-component system in ABA and osmotic stress signaling. **Plant Signal.Behav**, v. 5, p. 148–150, 2010.

TSAVKELOVA, E. A.; KLIMOVA, S.Y.U.; CHEDYNTSEVA, T.A.; NETRUSOV, A.I.; Microbial Producers of Plant Growth Stimulators and Their Practical Use: A Review. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 42, p. 117–126, 2006.

UGA, Y.; SUGIMOTO, K.; OGAWA, S.; RANE, J.; ISHITANI, M.; HARA, N.; KITOMI, Y.; INUKAI, Y.; ONO, K.; KANNO, N.; INOUE, H.; TAKEHISA, H.; MOTOYAMA, R.; NAGAMURA, Y.; WU, J.Z.; MATSUMOTO, T.; TAKAI, T.; OKUNO, K.; YANO, M. Control of root system architecture by *Deeper rooting 1* increases rice yield under drought conditions. **Nature Genetics**, v. 45, p. 1097-1102, 2013.

UNDERWOOD, W.; MELOTTO, M.; HE, S.Y. Role of stomata in bacterial invasion. **Cellular Microbiology**, v. 9, p. 1621-1629, 2007.

VAN KOOTEN, O.; SNEL, J. F. H. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. **Photosynthesis Research**, The Netherlands, v.25, n. 3, p.147–150, 1990.

VAUGHAN, D. A. **The wild relatives of rice: a genetic resources handbook**. International Rice Research Institute: Manilla, p. 137, 1994.

VESSEY, J. K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant and Soil**, v. 255, p. 571- 586, 2003.

VIANA, TARCIANA DE OLIVEIRA. "**Isolamento e inoculação de bactérias diazotróficas em arroz (*Oryza sativa* L.) cultivado em Vitória da Conquista-BA.**" Vitória da Conquista: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Tese de Doutorado, 2012.

VIDEIRA, S. S.; OLIVEIRA, D. M.; MORAIS, R. F.; BORGES, W. L.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. Genetic diversity and plant growth promoting traits of diazotrophic bacteria isolated from two *Pennisetum purpureum* Schum. genotypes grown in the field. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 356, n. 1-2, p. 51-66, 2012.

WALTER A, SILK, W.K., SCHURR, U. Environmental effects on spatial and temporal patterns of leaf and root growth. **Annu Rev Plant Biol**, v. 60, p. 279–304, 2009.

WANG, E. T.; MARTINEZ-ROMERO, E. *Sesbania herbacea* – *Rhizobium huautlense* nodulation in flooded soils and comparative characterization of *S. herbacea* nodulating rhizobia in different environments. **Microbial Ecology**, New York, v. 41, n. 1, p. 25–32, 2000.

WASHIO, O. Morphological studies on the upland – cultivated rice. In: Matsuo T & Hoshikawa K (Eds). *Science of the Rice Plant: Morphology*. Tokyo, **Food and Agriculture Policy Research Center**, v. 1, p. 564-567, 1993.

WERNER T., KÖLLMER I., BARTRINA I., HOLST K., SCHMÜLLING T. New insights into the biology of cytokinin degradation. **Plant Biol** (Stuttg), v. 8, p. 371–381, 2006.

WILKINSON, S., KUDOYAROVA, G. R., VESELOV, D. S., ARKHIPOVA, T. N., & DAVIES, W. J. Plant hormone interactions: innovative targets for crop breeding and management. **Journal of experimental botany**, v. 63, n. 9, p. 3499-3509, 2012.

YAMADA, Y.; HOSHINO, K.; ISHIKAWA, T. The phylogeny of acetic acid bacteria based on the partial sequences of 16s ribosomal RNA: The elevation of the subgenus *Gluconoacetobacter* to generic level. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v. 61, p. 1244-1251, 1997.

YAMADA, Y.; HOSHIRO, K.; ISHIKAWA, T. *Gluconacetobacter* nom. corrig. (*Gluconacetobacter* [sci]). In validation of publication of new names and new combinations previously effectively published outside the IJSB, List no. 64. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v.48, p.327-328, 1998.

YANG, J.; KLOPPER, J. W.; RYU, C. M. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. **Trends in plant science**, v. 14, n. 1, p. 1-4, 2009.

YAO, L.; WU, Z.; ZHENG, Y.; KALEEM, I.; LI, C. Growth promotion and protection against salt stress by *Pseudomonas putida* Rs-198 on cotton. **European Journal of Soil Biology**, Paris, v. 46, n. 1, p. 49-54, 2010.

ZAHIR, Z. A.; MUNIR, A.; ASGHAR, H. N.; ARSHAD, M.; SHAHAROONA, B. Effectiveness of rhizobacteria containing ACC-deaminase for growth promotion of peas (*Pisum sativum*) under drought conditions. **J Microbiol Biotech**, 2008.

ZDUNEK E., LIPS S.H. Transport and accumulation rates of abscisic acid and aldehyde oxidase activity in *Pisum sativum* L. in response to suboptimal growth conditions. **J. Exp. Bot.** 52: 1269–1276, 2001.

ZHANG H.; KIM M.S; KRISHNAMACHARI V.; PAYTON P.; SUN Y.; GRIMSON M.; FARAG M.A.; RYU C.M.; ALLEN R.; MELO I.S.; PARÉ P.W. Rhizobacterial volatile emissions regulate auxin homeostasis and cell expansion in Arabidopsis. **Planta**, v. 226, p. 839–851, 2007.

ZHANG H, KIM MS, SUN Y, DOWD SE, SHI H, PARÉ PW. Soil bacteria confer plant salt tolerance by tissue-specific regulation of the sodium transporter HKT1. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 21, n. 6, p. 737-744, 2008.