

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS - UFAL
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS - CECA
Programa de Pós-Graduação em Agronomia

Giordano Bruno Medeiros Gonzaga

**AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO INICIAL DA CANA-DE-AÇÚCAR, VARIEDADE RB
867515, SOB O EFEITO DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS**

RIO LARGO - AL

Março / 2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS - UFAL

CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS - CECA

Programa de Pós-Graduação em Agronomia

Giordano Bruno Medeiros Gonzaga

**AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO INICIAL DA CANA-DE-AÇÚCAR, VARIEDADE RB
867515, SOB O EFEITO DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS**

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Agronomia do Centro de
Ciências Agrárias da Universidade Federal de
Alagoas, como requisito para obtenção do
título de Mestre em AGRONOMIA, área de
concentração em Produção Vegetal.
Orientador: Prof. Dr. Laurício Endres**

RIO LARGO - AL

Março / 2012

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecária Responsável: Fabiana Camargo dos Santos

G642a Gonzaga, Giordano Bruno Medeiros.
 Avaliação do crescimento inicial da cana-de-açúcar, variedade RB 867515,
 sob o efeito de bactérias endofíticas / Giordano Bruno Medeiros Gonzaga. –
 2012.
 53 f. : il., tab.

 Orientador: Laurício Endres.
 Dissertação (Mestrado em Agronomia : Produção vegetal) – Universidade
 Federal de Alagoas. Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo, 2012.

 Bibliografia: f. 44-51.
 Anexos: f. 52-53|

 1. Saccharum spp. 2. Bactérias endofíticas. 3. Estresse hídrico. I. Título.

CDU: 633.61

Ao meu pai, em especial, por sempre ter acreditado e apostado em todas as etapas da minha vida.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela oportunidade de concluir meu curso superior na Universidade Federal de Alagoas;

Ao meu pai, pelo esforço de me manter a fim de que eu pudesse realizar meu sonho;

A minhas irmãs Nina Gonzaga e Hilda Gonzaga pelo companheirismo e força no dia a dia.

As minhas avós Hilda Gonzaga e Eulina Medeiros (in memoriam), pela força nas horas mais precisas e sempre terem acreditado em mim.

Ao Professor Dr. Laurício Endres, pela grande contribuição em minha formação acadêmica;

Aos meus amigos de graduação: Joelmir José, Euménes Tavares, Rafael Oliveira pela cumplicidade e paciência;

A Universidade Federal de Alagoas por participar dos anos mais decisivos da minha vida.

LISTA DE FIGURA

Figura 1. Rebolos previamente selecionados com aproximadamente 5 cm.....	24
Figura 2. Plantio de cinco rebolos por parcela	25
Figura 3. Diâmetro do colmo de cana-de-açúcar sob efeito de bactérias endofíticas em casa-de-vegetação aos 105 DAP. Rio Largo, AL. 2011	30
Figura 4. Altura de cana-de-açúcar sob efeito de bactérias endofíticas em casa-de-vegetação aos 105 DAP. Rio Largo, AL. 2011	31
Figura 5. Número de folhas verdes de cana-de-açúcar sob efeito de bactérias endofíticas em casa-de-vegetação aos 105 DAP. Rio Largo, AL. 2011	32
Figura 6. Área foliar mensurada de cana-de-açúcar sob efeito de bactérias endofíticas em casa-de-vegetação aos 114 DAP. Rio Largo, AL. 2011.....	33
Figura 7. Porcentagem de massa seca de raiz, folha e colmos de cana-de-açúcar sob efeito de bactérias endofíticas cultivadas em casa-de-vegetação aos 114 DAP. Rio Largo, AL. 2011..	35
Figura 8. Razão de área foliar de cana-de-açúcar sob efeito de bactérias endofíticas cultivadas em casa-de-vegetação aos 114 DAP. Rio Largo, AL. 2011.....	36
Figura 9. Área foliar específica de cana-de-açúcar sob efeito de bactérias endofíticas cultivadas em casa-de-vegetação aos 114 DAP. Rio Largo, AL. 2011.....	37
Figura 10. Comportamento do teor de clorofila medido com o clorofilômetro (SPAD- 502), de bactérias inoculadas em cana-de-açúcar, na região de Rio Largo - AL..	38
Figura 11. Potencial hídrico foliar (ψ_w) da antemanhã (A) e ao meio-dia (B) de cana-de-açúcar cultivados em casa-de-vegetação aos 114 dias após o plantio em vasos.	40
Figura 12. Rendimento quântico máximo do PSII (Fv/Fm) 4h (A) e 11h (B) de cana-de-açúcar cultivados em casa-de-vegetação aos 114 dias após o plantio em vasos.	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características químicas do solo utilizado no experimento.....	22
Tabela 2. Características da variedade RB 867515	23
Tabela 3. Espécies e estirpes de bactérias endofíticas isoladas em cana-de-açúcar cv. RB 867515.	23
Tabela 4. Resumo da análise de variância para diâmetro do colmo, altura e número de folhas verdes de cana-de-açúcar sob efeito de bactérias endofíticas aos 105 DAP. Rio Largo, AL. 2011.	29
Tabela 5. Diâmetro do colmo, altura e número de folhas verdes de cana- de - açúcar sob efeito de bactérias endofíticas aos 105 DAP. Rio Largo, AL. 2011.....	30
Tabela 6. Resumo da análise de variância do massa seca da raiz e parte aérea de cana-de-açúcar sob efeito de bactérias endofíticas até os 114 DAP. Rio Largo, AL. 2011.....	34
Tabela 7. Teste de tukey para avaliações de massa seca das raízes e da parte aérea de cana-de-açúcar sob efeito de bactérias endofíticas até os 114 DAP. Rio Largo, AL. 2011	34

RESUMO

Avaliação do crescimento inicial da cana-de-açúcar, variedade RB 867515, sob o efeito de bactérias endofíticas.

A presente pesquisa teve como objetivo avaliar os efeitos de diferentes espécies de bactérias endofíticas sobre a tolerância ao déficit hídrico de cana-de-açúcar em sua fase inicial de crescimento. Para tanto, instalou-se um experimento, em casa de vegetação no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas, localizado no município de Rio Largo - AL (9° 28' S, 35° 49' W, a 127 m de altitude), em delineamento inteiramente ao acaso em arranjo fatorial, 4 x 2 (tipos de bactérias endofíticas e níveis de déficit hídrico respectivamente), com oito repetições. Os níveis do primeiro fator foram compostos por: plantas não inoculadas; plantas inoculadas com inoculante completo (mistura das *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Burkholderia tropica*, *Herbaspirillum seropedicae*, *Herbaspirillum rubrisubalbicans* e *Azospirillum amazonense*); plantas inoculadas com a *G. diazotrophicus*; plantas inoculadas com a *B. tropica*. Os níveis do segundo fator foram: plantas mantidas em solo com umidade a próxima da capacidade de campo (sem estresse); plantas submetidas ao déficit hídrico pela suspensão da rega. As variáveis morfológicas e fisiológicas analisadas foram: altura, diâmetro do colmo, número de folhas verdes, área foliar, análise da massa seca, potencial hídrico foliar (ψ_{wf}), eficiência quântica potencial e efetiva e estimativa do teor de clorofila. A aplicação de bactéria não afetou o diâmetro do colmo, altura de plantas e área foliar estimada. Quando avaliado o crescimento médio das plantas, verificou-se que plantas tratadas sem bactérias (controle) e com o inoculado *B. tropica* apresentavam maior massa de parte aérea, enquanto que a aplicação da bactéria *G. diazotrophicus* e o tratamento controle apresentaram maior massa de raiz. O estresse hídrico afetou significativamente a eficiência quântica potencial (Fv/Fm), nas plantas irrigadas (controle) os valores Fv/Fm estavam acima de 0,79 diferindo estatisticamente do estresse hídrico (seca) e reidratação, em que os valores estavam abaixo de 0,79. Aparentemente os danos apresentados no fotossistema II ao meio-dia foram recuperados durante o período noturno, mostrando valores de Fv/Fm mais elevados na antemanhã. A presença de bactérias não afetou significativamente as características biométricas das plantas de cana-de-açúcar crescidas em vasos aos 114 DAP. A Razão da Área Foliar (RAF) utilizou a AF mensurada, sendo maior nos tratamentos controle e inoculante completo. Nestes, a planta desenvolveu mais folhas e foi menos eficiente na fixação de carbono, refletido no aumento de massa seca.

Palavras-chave: *Saccharum* spp. Bactérias endofíticas. Estresse hídrico.

ABSTRACT

Evaluation of sugarcane initial, RB 867515 variety, growth under effect of endophytic bacteria

This present research aimed to evaluate the effects of different endophytic bacteria species regarding the tolerance of sugarcane water stress in the initial growth phase. With that purpose, an experiment was installed, in the greenhouse at the Centro de Ciências Agrárias of Universidade Federal de Alagoas, located in the city of Rio Largo, in the state of Alagoas (9° 28' S, 35° 49' W, altitude 127 m), completely randomized on a factorial arrangement 4x2 (endophytic bacteria and levels of water stress in this order), with 8 replications. The levels of the first factor were composed of: non-inoculated plants; inoculated plants with complete inoculant (mix of *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Burkholderia tropica*, *Herbaspirillum seropedicae*, *Herbaspirillum rubrisubalbicans* e *Azospirillum amazonense*); inoculated plants with *G. diazotrophicus*; inoculated plants with *B. tropica*. The levels of the second factor were: plants kept on the soil with moisture next to field capacity (without stress); plants under water deficit due to irrigation suspension. The morphological and physiological variables analyzed were plant height, stalk diameter, number of green leaves, leaf area, dry mass analyze, leaf water potential (ψ_{wf}), potential and effective quantic efficiency and chlorophyll content. The bacteria application didn't interfere in stalk diameter, plants height and estimated leaf area. When the plants average growth was evaluated, it was verified that plants treated without bacteria (control) and with inoculum *B. tropica* presented showed greater aerial part mass, whereas the bacteria application *G. diazotrophicus* and the control treatment presented greater root mass. The water stress has significantly affected the potential quantic efficiency (Fv/Fm) on the irrigated plants (control) which the Fv/Fm values were above 0,79 statistically differing of water stress (draught) and rehydration, wherein the values were below 0,79. Apparently, the damages presented on the photosystem II at midday were recovered during nighttime, showing higher Fv/Fm values at predawn. The presence of bacteria hasn't significantly affected the biometric characteristics of sugarcane plants grown in vases at 114 days after planting (DAP). The leaf area ratio (LAR) utilized the measured leaf area, being greater on control and complete inoculant treatments. On these, the plant developed more leaves and was less efficient on carbon fixation, which reflected on dry mass increase.

Keywords: *Saccharum* spp. Endophytic bacteria. Water stress

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
A cana-de-açúcar	14
Fixação biológica do nitrogênio	15
Bactérias diazotróficas	16
Relações hídricas em cana-de-açúcar	17
Ecofisiologia da cana-de-açúcar	19
Crescimento vegetal e estresse hídrico	20
2 MATERIAL E MÉTODOS	22
Local do experimento	22
Tratamentos e delineamento experimental	22
Adubação e calagem	23
Isolamento do inóculo	23
Preparo do Inóculo e Inoculação	24
Umidade do solo	25
AVALIAÇÕES BIOMÉTRICAS E DE BIOMASSA	25
Área foliar estimada e mensurada	25
Altura, diâmetro do colmo e número de folhas verdes	26
Análise da massa seca	26
ANÁLISES FISIOLÓGICAS	27
Potencial hídrico foliar (ψ_{wf})	27
Eficiência quântica potencial e efetiva	27
Estimativa do conteúdo de clorofila	27
Coleta de dados meteorológicos	28
Análise Estatística	28
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	29

AVALIAÇÕES BIOMÉTRICAS E DE BIOMASSA	29
Altura, diâmetro, número de folhas verdes e área foliar	29
Massa seca da raiz e da parte aérea	33
AVALIAÇÕES FISIOLÓGICAS.....	37
Estimativa do conteúdo de clorofila via índice SPAD.....	37
Potencial hídrico (ψ_w).....	38
Rendimento quântico do PSII (Fv/Fm)	40
5 CONCLUSÕES	43
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
anexo.....	52

1 INTRODUÇÃO

As perspectivas para o setor sucroalcooleiro no Brasil são as mais otimistas. Desde a implantação do Proálcool, em 1975, nunca se registrou um horizonte tão promissor como o que se vislumbra para os próximos anos. O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de açúcar, detém 40% do comércio internacional e deve ampliar essa participação com a reforma do regime açucareiro na União Européia, determinada pela OMC - Organização Mundial do Comércio. O novo regime prevê a retirada dos subsídios para a produção de açúcar (ORTOLAN, 2006).

Com o Proálcool, o país diminuiu a importação de petróleo no equivalente a 200.000 barris por dia e, em termos socioeconômicos representou a criação de cerca de um milhão de empregos e a economia de mais de US\$ 1 bilhão por ano (PRADO, 1997).

Segundo Instituto de Economia Aplicada (IEA, 2010), o Brasil é o líder na produção canavieira no mundo, seguido de Índia, China e Tailândia. Na safra 2010/2011, o país possuiu uma área estimada de 8.167,5 milhões de hectares, com produção esperada de 651.514,3 milhões de toneladas. Dentre os fatores de produção da cana-de-açúcar, a adubação, que representa até 30% do custo de produção, se destaca devido à grande produção e remoção de massa verde por área plantada necessitando a reposição de nutrientes por meio de fertilizantes.

A disponibilidade de nitrogênio em forma contínua a médio e longo prazos é possível por meio da associação de plantas com microrganismos procariontes, representados por uma grande variedade de bactérias, de vida livre ou simbioticamente (endofíticas), capazes de fixar o N atmosférico (N_2) à NH_3 , e posteriormente na forma utilizada pelos vegetais (FARIA, 2002).

A associação de alguns cereais com bactérias diazotróficas endofíticas pode levar a uma série de benefícios para a planta, sendo que o mais estudado é a obtenção de nitrogênio pela fixação biológica de nitrogênio (FBN). Além da capacidade de FBN, essas bactérias podem ser consideradas promotoras de crescimento vegetal (BPCV) visto que ao colonizar as raízes e outros tecidos internos das plantas estimulam o crescimento destas através de diferentes mecanismos tais como produção de hormônios de crescimento como auxinas e giberelinas entre outros (REIS et al., 2000), além de serem capazes de atuar como solubilizadoras de fosfatos, agentes de controle biológico ou mesmo este grupo pode acelerar processos biológicos como a mineralização (SOMERS e VANDERLEYDEN, 2004).

Para a maximização da contribuição das bactérias endofíticas, algumas estratégias são importantes para o sucesso na utilização e na aplicação da tecnologia de inoculação. Estas envolvem fatores ligados à eficiência da simbiose e à implantação de práticas conservacionistas nos cultivos. Além da escolha da planta que apresente capacidade de formar uma associação eficiente, são necessários alguns cuidados prévios, que vão desde a obtenção de informações sobre a dinâmica destes microrganismos em seu habitat, ao isolamento e seleção de bactérias eficientes para a produção de inoculantes específicos (SANTOS, 2009).

Outro fator de grande importância é a disponibilidade de água, sendo ela a principal variável climática causadora de variabilidade da produtividade da cana-de-açúcar (TERAMOTO, 2003). A disponibilidade de água no solo governa a produção vegetal, sua redução ou excesso afeta de maneira decisiva o desenvolvimento das plantas (REICHARDT, 1996), pois alteram a absorção dos nutrientes e da própria água (HUMBRET, 1968).

Conforme relatado por Scardua e Rosenfeld (1987), o consumo de água pela cultura também varia com o estágio fenológico, com as condições meteorológicas e com a disponibilidade hídrica no solo. De acordo com Nable et al. (1999), em comparação à cultura do sorgo, a transpiração da cultura da cana-de-açúcar é extremamente sensível à baixa umidade do solo.

A distribuição irregular de água pode proporcionar efeitos prejudiciais às plantas, se coincidirem com os períodos críticos de necessidade de água, afetando em maior ou menor grau a produção final (LOPES, 1984). A cultura da cana-de-açúcar sofrendo um estresse hídrico na sua fase de desenvolvimento vegetativo apresenta a formação de internódios menores, além de um baixo rendimento. Estudos realizados com algumas bactérias diazotróficas benéficas também indicam que elas podem conferir maior tolerância à seca em cereais (SARIG et al., 1988; BASHAN et al., 1999).

Dessa forma, a presente pesquisa tem como objetivo avaliar os efeitos de diferentes espécies de bactérias endofíticas na tolerância déficit hídrico em cana-de-açúcar em sua fase inicial de crescimento.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A cana-de-açúcar

A maioria dos relatos indica a Nova Guiné, a Índia e a China como as regiões de origem da cana-de-açúcar. Matsuoka et al.(1999b) classifica a cana como uma planta alógama, da família Poaceae pertencente ao gênero *Saccharum*, representada atualmente por seis espécies: *S. officinarum* L.; *S. robustum* Brandes e Jeswietex Grassl; *S. barberi* Jeswiet; *S. sinense* Roxb; *S. spontaneum* L.; e *S. edule* Hassk. Segundo dados do IBGE, 2009, o Brasil ainda apresenta um potencial produtivo da cultura muito baixo, registrando uma média de 79,0 t/ha, mesmo apresentando um clima favorável a plantas deste metabolismo,

A cana-de-açúcar (*Saccharum*), tem uma característica peculiar de estocar sacarose nos colmos, é uma planta tropical pertencente à família das gramíneas ou poáceas juntamente com os gêneros *Zea* e *Sorghum*.

Esta planta tem a capacidade de se desenvolver em forma de touceira, sendo a parte aérea formada por colmos, folhas, inflorescências, e a subterrânea formada por raízes e rizoma. A inflorescência da cana-de-açúcar é uma panícula aberta, chamada de bandeira ou flecha (MOZAMBANI et al.,2006).

Segundo Segato (2006), a cana-de-açúcar está entre as espécies de maior rendimento fotossintético da família Poaceae, sendo classificada como possuidora de metabolismo C4, apresentando elevada eficiência no resgate e utilização do gás carbônico atmosférico, além de alta adaptabilidade às condições de alta luminosidade e temperaturas elevadas. A maior eficiência fotossintética é resultado da abundância de cloroplastos dispostos em duas camadas na folha. Quantitativamente, isso propicia a esta espécie uma taxa de crescimento e aproveitamento da água duas a três vezes superiores em relação as C3 (CASAGRANDE, 1996). Entretanto, esta alta atividade fotossintética não se correlaciona diretamente com a elevada produtividade de biomassa. A grande capacidade da cana-de-açúcar, para a produção de matéria orgânica, reside na alta taxa de fotossíntese por unidade de superfície de terreno, que é influenciado pelo Índice de Área Foliar (IAF). Além disso, o longo ciclo de crescimento da planta resulta em elevadas produções de matéria seca.

A cana-de-açúcar, em função do longo período de cultivo, é influenciada pelas variações climáticas durante todo o ano. Para atingir alta produção de sacarose, a planta precisa de condições adequadas que permitam o máximo crescimento na fase vegetativa, seguidas de restrição hídrica ou térmica para favorecer o acúmulo de sacarose na época da

colheita. Alfonsi (1987) comenta que no Brasil, em função da sua extensão territorial, existem as mais variadas condições climáticas, sendo possivelmente, o único país com duas épocas de colheita anuais: de setembro a abril no Norte e Nordeste e de maio a dezembro no Centro-Sul, correspondendo às épocas secas nessas regiões.

Rodrigues (1995), ressalta que a fotossíntese varia com a idade das folhas, sendo que, as folhas mais velhas e as muito jovens realizam fotossíntese em níveis semelhantes aos das plantas C3, enquanto, folhas recém expandidas atingem valores de fixação de C4. O ciclo evolutivo da cultura pode ser de 12 (cana de ano) ou 18 meses (cana de ano e meio) em cana-planta. Após o primeiro corte o ciclo passa a ser de 12 meses (ALFONSI et al., 1987), e a partir do corte passa a ser denominada de cana-soca. Os fatores ambientais que afetam de maneira significativa a produção da cana-de-açúcar são temperatura, luz, disponibilidade de água e nutriente (ALFONSI et al., 1987).

O processo produtivo canavieiro visa três objetivos básicos: alta produção de colmos por unidade de área; riqueza em açúcar dos colmos industrializáveis; e longevidade do canavial (maior número de socarias) (TOLEDO FILHO 1988).

Dentre as partes morfológicas da cana-de-açúcar de interesse comercial, destaca-se o colmo, que possui sacarose industrializável. Diversos fatores influenciam a composição química dos colmos como: variedade da cultura; idade fisiológica, condições climáticas durante o desenvolvimento e maturação, propriedades físicas, químicas e microbiológicas do solo, tipo de cultivo entre outros (PARANHOS, 1987 & MARQUES et al, 2001).

Stupiello (1987) comenta que dentre as principais características a serem atendidas nas variedades citam-se as agrônômicas especiais de produtividade, rusticidade, resistência às pragas e doenças além de características industriais como alto teor de sacarose e médio teor de fibras.

Fixação biológica do nitrogênio

A importância do nitrogênio para as plantas é indiscutível, sendo, portanto, essencial na constituição dos ácidos nucleicos, aminoácidos, proteínas, expansão da parte aérea e sistema radicular das plantas e ganho da matéria seca. Ele é o elemento mais abundante no ar atmosférico e ocupa quase 80% da atmosfera. Na forma de N₂ que representa 99,96%, o mesmo é indisponível aos eucariontes, logo não pode ser aproveitado pelas plantas. Apenas 0,04% encontra-se disponível na forma orgânica ou inorgânica (ROSWALL, 1979).

Rees et al. (2005), relatam que a fixação de nitrogênio representa uma das facetas do ciclo do nitrogênio que envolve a interconversão global do nitrogênio entre diferentes estados

de oxidação. Após o ciclo metabólico através da biosfera, este mesmo nitrogênio retorna ao reservatório atmosférico através do processo de dinitrificação. Este ciclo necessita de um contínuo reabastecimento de nitrogênio ‘fixado’ ou convertido nas formas solúveis a partir principalmente dos microrganismos fixadores.

O N_2 atmosférico é pouco reativo, somente algumas espécies de microrganismos procarióticos possuem o complexo enzimático, chamado nitrogenase, necessário para transformá-lo em amônia, que é subsequente assimilada em aminoácidos e proteínas. Este processo é chamado fixação biológica de N_2 (FBN) (NEVES e RUMJANEK, 1998), a qual se constitui na principal via de entrada, suprimento e incremento de nitrogênio nos sistemas vivos. A participação da FBN no ciclo biogeoquímico do nitrogênio é, sobretudo importante visto em que a atividade das bactérias diazotróficas representa cerca de 60% do nitrogênio anualmente fixado na Terra (KIM & REES, 1994).

Entre as bactérias associadas à cana-de-açúcar destacam-se as espécies *Gluconacetobacter diazotrophicus* (CAVALCANTE & DÖBEREINER, 1988), *Azoarcus* spp. (REINHOLD-HUREK et al., 1993), *Herbaspirillum seropedicae* (BALDANI et al., 1986), *Herbaspirillum rubrisubalbicans* (GILLIS et al., 1991; BALDANI et al., 1996) e *Burkholderia* spp. (YABUUCHI et al., 1992; BALDANI et al., 1997b).

Bactérias diazotróficas

O termo diazotrófico tem origem em N_2 : di-azo; trófico: relativo à nutrição; logo, refere-se ao organismo se nutre de nitrogênio gasoso ou que o utiliza para o seu crescimento. Fazem isto retirando o N_2 , gás inerte no ambiente atmosférico, e o transforma em forma solúvel e reativa, normalmente inorgânica, que farão parte das moléculas orgânicas do ser vivo.

Burris (1991) comenta que vários procariontes têm capacidade para fixar nitrogênio, sendo que, a bactéria diazotrófica usa o N_2 obrigatoriamente ou facultativamente, dependendo da disponibilidade de outras fontes de nitrogênio que sejam capazes de utilizar.

Moreira & Siqueira (2002) relatam que as bactérias diazotróficas podem ser de vida livre ou associativa, esta última subdivisão tem sido denominada endófito, pois as bactérias colonizam os tecidos de plantas, intercelular ou intracelularmente, sem causar dano aparente à planta hospedeira. A simbiose ocorre quando planta e microrganismo estabelecem uma interação positiva, na qual a planta fornece nutrientes para o crescimento das bactérias e estas por sua vez fornecem nitrogênio para a planta. A simbiose pode ser detectada pela

colonização das bactérias, na epiderme e córtex da raiz, ou sistemicamente, colonizando toda a planta.

Em decorrência da associação entre endofíticos e espécies vegetais, estes microrganismos co-evoluíram com os seus hospedeiros apresentando uma íntima interação mutualística, através da qual os endofíticos recebem nutrientes e proteção do hospedeiro e a planta apresenta vantagens decorrentes dessa interação (ARAÚJO et al., 2000).

As bactérias endofíticas podem conferir ao seu hospedeiro, características benéficas como maior resistência a condições de estresse, suprimento de nitrogênio, produção de reguladores de crescimento vegetal e outros componentes de interesse biotecnológicos (como enzimas e drogas de interesse farmacêutico). As implicações práticas do estudo de endófitos se concentram, principalmente, no seu potencial para atuar na promoção de crescimento vegetal e no controle biológico de insetos-pragas ou de outros microrganismos (STURZ & MATHESON, 1996; CHANWAY, 1998; JAMES, 2000; AZEVEDO et al., 2000A,B; LODIEWYCKX et al., 2002).

Bloemberg & Lugtenberg (2001) relatam que diversos fatores bióticos e abióticos podem influenciar o mecanismo de promoção de crescimento vegetal por bactérias. Fatores como a densidade do inóculo, temperatura de cultivo e genótipo do hospedeiro estão diretamente envolvidos no processo de promoção de crescimento vegetal e que estes fatores influenciaram os efeitos benéficos de bactérias endofíticas e epifíticas sobre plantas *in vitro* (PILLAY & NOWAK, 1997).

Verma et. al., (2001) dizem que bactérias que apresentam mais de uma característica para a promoção de crescimento vegetal, como por exemplo: fixar nitrogênio e solubilizar fosfato ou produzir auxina e sideróforos, entre outras, são almejadas e rastreadas para uma possível aplicação no campo, objetivando o aumento da produção agrícola.

Estudos com cana-de-açúcar demonstram que endofíticos como *Acetobacter diazotrophicus* e outras bactérias geram um aumento de produção sem elevar custos, pois reduzem o emprego de insumos como adubos nitrogenados (DÖBEREINER, 1992), demonstrando que estes organismos são essenciais para a boa fixação de N₂ e o uso de N-fixado, e conseqüentemente, para a nutrição das plantas e economia de insumos.

Relações hídricas em cana-de-açúcar

Santos (2005) relata que o consumo de água da cultura da cana-de-açúcar varia em função do ciclo (cana planta ou soca), do estágio de desenvolvimento (ciclo fenológico), das condições climáticas, da água disponível no solo, da variedade e dentre outros fatores.

O estresse hídrico em plantas inicia-se a partir de uma complexa via de respostas, começando com a percepção do déficit hídrico, o qual desencadeia uma sequência de eventos de ordem molecular, finalizando com várias respostas fisiológicas, metabólicas e de desenvolvimento. Uma das maiores causas de resposta ao estresse hídrico a nível molecular pode ser a mudança no potencial osmótico, através da membrana plasmática (BRAY, 1997).

Artlip & Wisniewski (2001) relatam que a resistência ao estresse hídrico se manifesta geralmente de quatro formas distintas: a) limitação do crescimento como forma de economia de água; b) adaptações morfológicas; c) adaptações fisiológicas; e d) alterações metabólicas. No entanto, a capacidade da planta responder e sobreviver ao estresse hídrico celular depende dos mecanismos internos que integram as respostas celulares. Tais respostas podem ocorrer em algumas horas, minutos ou até mesmo em segundos (BRAY, 1997).

Durante a transpiração vegetal, que é uma forma eficiente de dissipar o calor proveniente do sol, os gradientes energéticos ou potenciais são desenvolvidos ao longo de toda a planta. Isso se faz necessário para que ocorra o fluxo de água desde as raízes, passando pelo xilema e chegando às células do parênquima das folhas. O status energético da água na planta é expresso como potencial hídrico (Ψ_w), definido como o trabalho mecânico requerido para transferir uma unidade de água, no estado padrão, de um local com $\Psi_w = 0$ para uma situação onde o Ψ_w tem valor menor e definido (TAIZ & ZEIGER, 2009), sendo o potencial hídrico da antemanhã (medido antes do amanhecer) bastante informativo, pois corresponde aproximadamente ao potencial hídrico do solo (LARCHER, 2004).

De acordo com Ometto (1980), dependendo das condições climáticas, a quantidade de água exigida pela cultura durante o ciclo varia entre 1500 mm a 2500 mm. A cana-de-açúcar apresenta elevado consumo de água, necessitando, em média de 250 partes de água para formar uma parte de matéria seca durante todo período de crescimento (LARCHER, 2000). Assim a ocorrência de estresse hídrico durante o desenvolvimento da cultura afetará de modo à restringir processos fisiológicos, tais como: divisão e alongamento celular, diminuindo o acúmulo de massa seca, a taxa de crescimento da cultura e o índice de área foliar. O grau de injúria causado pelo déficit hídrico depende do estágio fenológico da planta e do tempo de duração do estresse (INMAN-BAMBER 2004).

De acordo com Angelocci (2002), a importância fisiológica da água, então, decorre das funções desempenhadas por estar na planta, sendo as mais importantes: principal constituinte dos vegetais; principal meio de transporte de gás, minerais e solutos nos vegetais; reagente em processos metabólicos vegetais, como a fotossíntese; manutenção da turgescência, importante no crescimento das plantas, além da regulação da abertura

estomática, e; regulação térmica dos tecidos, mantendo a temperatura nos vegetais dentro dos limites apropriados ao metabolismo.

Ecofisiologia da cana-de-açúcar

De acordo com Magalhães (1987), a cana-de-açúcar é uma gramínea perene que perfilha abundantemente na sua fase inicial de desenvolvimento. Quando se estabelece como uma cultura, a competição intra-específica por luz (auto-sombreamento) induz inibição no perfilhamento e uma aceleração do crescimento do colmo principal. Este crescimento longitudinal continua até a ocorrência de temperaturas baixas, ou ainda, devido ao florescimento, que no caso de cana-de-açúcar é uma ocorrência indesejável.

A cana-de-açúcar atravessa dois períodos distintos com relação ao teor de sacarose, no decorrer do ciclo de crescimento e desenvolvimento: o primeiro é assinalado por um intenso crescimento vegetativo acompanhado por uma gradual formação de sacarose, enquanto, no segundo, ocorre um predominante acúmulo de sacarose, motivado pela escassez dos principais fatores de desenvolvimento vegetativo, como temperatura e água disponíveis (MAGALHÃES, 1987 ; LUCHESI, 1995).

De acordo com os valores acumulados, a taxa de crescimento da cultura pode ser dividida em três fases (GAVA et al., 2001). Na primeira fase, a planta tende a ter um pequeno acúmulo de massa seca, 6% da massa total, na segunda fase, ocorre elevadas taxas de crescimento, sendo acumulados cerca de 81% da massa seca total, observada entre os meses de dezembro a março, e a terceira fase, corresponde ao período de maturação, onde houve acúmulo 13% da massa seca total.

Entre os fatores ambientais destaca-se a temperatura, o de maior significância para o desempenho da cana. Temperaturas altas, geralmente, são bem toleradas pela cultura, desde que haja irrigação, ou umidade no solo. Porém, nas temperaturas baixas (menores que 21° C) a cultura sofre diminuição na taxa de alongamento dos colmos e acúmulo de sacarose (MAGALHÃES, 1987).

Gemente et al. (1986) definem os fatores climáticos como determinantes principais das restrições impostas pelo ambiente físico, constituído pela interação dos componentes clima, solo e planta, que influenciam respectivamente, a época de colheita, o número programado de cortes e a eleição de variedades.

O florescimento é uma característica genética da cana-de-açúcar existindo variedades floríferas e não floríferas. Trata-se de um fenômeno indesejável em áreas comerciais, uma vez que nos processos de formação e emissão da inflorescência ocorre elevado consumo de

sacarose e redução do volume de caldo, resultando no aumento do teor de fibras. Muitos fatores contribuem para o florescimento da cana, mas o fotoperíodo é considerado o fator crítico que determina o momento da indução (ARALDI et al., 2010).

Informações referentes ao comportamento da cana-de-açúcar em termos de maturação (acúmulo de sacarose) podem definir o manejo de variedades e até a época ideal de colheita. De acordo com a Copersucar (1983), a colheita da cana tem como diretriz a retirada do campo de cultivo de colmos com o maior conteúdo possível de sacarose, em maturação fisiológica completa ou bastante avançada. Segundo Gheller (1999), fatores como: umidade do solo, temperatura, luminosidade e nutrientes minerais, influenciam na capacidade de acumulação de açúcares nos colmos, em condições naturais.

Crescimento vegetal e estresse hídrico

Taiz & Zeiger (2009) definem o termo estresse hídrico como um fator externo, que exerce uma influência desvantajosa sobre a planta. Este conceito está intimamente relacionado ao de tolerância ao estresse, que é a aptidão da planta para enfrentar um ambiente desfavorável. Larcher (2000) comenta que o estresse causa desvio significativo das condições ótimas para a vida, e induz a mudanças de respostas em todos os níveis funcionais do organismo, os quais são reversíveis a princípio, mas que podem se tornar permanentes.

A diminuição do teor de água no solo afeta acentuadamente alguns processos morfofisiológicos, enquanto outros são relativamente insensíveis (KELLING, 1995). A resistência ao estresse hídrico se manifesta geralmente de quatro formas: limitação no crescimento, adaptações morfológicas, adaptações fisiológicas e alterações metabólicas.

As plantas sob condições adversas alteram seu crescimento e padrões de alocação de massa seca. A habilidade do vegetal em se desenvolver em ambiente com restrição hídrica no solo pode ser determinada através da eficiência com que a planta ajusta o seu comportamento bioquímico e fisiológico, visando a maximizar a aquisição de carbono (LARCHER, 2000; TAIZ & ZEIGER 2009).

A avaliação das alterações do crescimento tem grande aceitação na investigação das respostas fisiológicas de cultivos agrícolas em condições de estresse hídrico (BORRELL et al., 2000a,b; RAMESH, 2000; BARBOSA, 2005). Alguns autores consideram este tipo de avaliação como um método padrão para mensurar a produtividade biológica de uma cultura, permitindo o estudo de diferentes genótipos em distintos ambientes de produção (RAMESH, 2000; OLIVEIRA et al., 2005).

Durães et al., (2004^a) relatam que o crescimento foliar permite à planta aumentar sua capacidade fotossintética, enquanto o crescimento da raiz permite às plantas adicionais explorações do solo por água e nutrientes. Assim, estes órgãos estão em competição entre si pela demanda de assimilados fotossintéticos. Em condições de estresse hídrico severo há um decréscimo na expansão foliar e, conseqüentemente, na emergência de folhas novas em cultivares mais sensíveis ao estresse (BORRELL et al., 2000a), bem como na massa seca das folhas, decrescendo, consideravelmente, de acordo com a severidade da seca (BORRELL et al., 2000b).

Inman-Bamber (2004) observou que a restrição hídrica severa afeta negativamente o desenvolvimento foliar, comprometendo o dossel pela desaceleração da produção de novos brotos e folhas e pela aceleração da senescência da parte aérea da cana. Este comportamento está de acordo com Machado et al. (2009), que também constataram uma acentuada senescência foliar e restrição ao surgimento de novas folhas em período de seca na cana-de-açúcar.

De acordo com Bezuidenhout et al., (2003) o estresse hídrico pode causar redução na emissão de novos perfilhos, pois a falta de água cessa a divisão e o alongamento celular impedindo a diferenciação e o crescimento dos tecidos que darão origem as novas estruturas dos perfilhos. Durante o perfilhamento a cana exige uma grande quantidade de água para que ocorra o seu pleno estágio de desenvolvimento vegetativo. Silva et al., (2007) comentam que as relações hídricas têm importante participação na alongamento dos perfilhos e no crescimento final dos colmos da cana-de-açúcar.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Local do experimento

O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas, localizado no município de Rio Largo, AL (09° 28' S, 35° 49' W e 127 m de altitude), em solo com características químicas apresentadas na Tabela 1. A análise de solo foi feita pela Central Analítica Ltda de Maceió - AL, pelo método de extração da Embrapa (1997).

Tabela 1. Características químicas do solo utilizado no experimento

Prof.	pH	Na	P	K	Ca+Mg	Ca	Mg	Al	H+Al	SB	CTC	V
cm		-----mg/Kg-----			----- cmolc/dm ³ -----							%
0 - 20	5,4	19	14	130	3,6	2,2	1,4	0,20	4,3	4,02	4,22	48,3

Fonte: Central Analítica Ltda

Tratamentos e delineamento experimental

O experimento foi disposto em delineamento inteiramente ao acaso com arranjo fatorial, 4 x 2 (4 tratamentos com e sem bactérias endofíticas e 2 níveis de déficit hídrico respectivamente), com oito repetições, totalizando 64 parcelas. O primeiro fator foi composto por: plantas não inoculadas; plantas inoculadas com inoculante completo (mistura das *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Burkholderia tropica*, *Herbaspirillum seropedicae*, *Herbaspirillum rubrisubalbicans* e *Azospirillum amazonense*); plantas inoculadas com a *Gluconacetobacter diazotrophicus*; plantas inoculadas com a *Burkholderia tropica*. O segundo fator foi composto por: plantas mantidas em solo com umidade próximo da capacidade de campo (sem estresse); plantas submetidas ao déficit hídrico pela suspensão da rega. A parcela constituiu-se de um balde de plástico de 20L contendo 18 kg de solo (Tabela 1). Todos os baldes foram perfurados para facilitar a drenagem do excesso de água. Em cada balde foram semeados cinco toletes de uma gema, havendo desbaste aos 15 dias após o plantio deixando-se as três plantas mais vigorosa. A variedade utilizada foi a RB867515 (Tabela 2).

As parcelas foram consistiram em três plantas por vaso de 20L, sendo que foram semeados 5 realizado o desbaste aos 15 dias após o plantio, deixando as três plantas mais vigorosas. No fundo de cada vaso também foi perfurado um orifício circular para permitir a drenagem do excesso de água proveniente da irrigação percolada através do solo.

Tabela 2. Características da variedade RB 867515

Característica da planta	RB 867515
Brotação	Muito boa
Perfilhamento	Médio
Porte	Alto
Produção Agrícola	Alta
Brotação da soca	Boa
Florescimento	Eventual
Maduração	Média
Teor de açúcar	Alto
Carvão	Resistente
Ferrugem	Resistente
Solo	Sem restrições

Fonte: Universidade Federal de São Carlos (2006).

Adubação e calagem

A adubação foi realizada na fundação utilizando 500 Kg ha⁻¹ do formulado 15-15-18. A calagem foi realizada utilizando 1,2 t ha⁻¹ de calcário dolomítico (PRNT de 85%).

Isolamento do inóculo

Foram utilizadas cinco estirpes de bactérias diazotróficas endofíticas (Tabela 3), previamente testadas e selecionadas em cana-de-açúcar (Oliveira et al. 2003).

Tabela 3. Espécies e estirpes de bactérias endofíticas isoladas em cana-de-açúcar cv. RB 867515.

Espécies	Estirpe
<i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i>	BR 11281
<i>Herbaspirillum seropedicae</i>	BR 11335
<i>Herbaspirillum rubrisubalbicans</i>	BR 11504
<i>Azospirillum amazonense</i>	BR 11145
<i>Burkholderia tropica</i>	BR 11366

Fonte: Embrapa Agrobiologia.

Preparo do Inóculo e Inoculação

O inoculante foi obtido por meio de crescimento de cinco estirpes de maneira individualizada, em meio de cultivo. Cada estirpe foi, então, misturada em turfa esteril e distribuídas em sacos plásticos de 250 gramas. Uma dose do produto contém 1250 gramas, equivalentes a cinco pacotes de turfa com inoculante microbiano. Todos os pacotes foram misturados na proporção de 1 dose para 200 litros de água por ocasião do plantio da cana planta.

Foram utilizados toletes de cana-de-açúcar da variedade RB 867515 com uma gema de aproximadamente 5cm previamente selecionada de. Em seguida, os toletes foram armazenados em caixa com capacidade para 24 kg, onde permaneceram por 24 horas à temperatura ambiente. Após este período, os toletes foram imersos por 40 minutos em meio contendo as bactérias, em seguida, ficaram em repouso por 30 minutos e posteriormente transferidas para vasos plásticos de 20 L de solo, conforme ilustra as Figuras 1 e 2.

Figura 1. Rebolos previamente selecionados com aproximadamente 5 cm.



Fonte: GONZAGA, 2010

Figura 2. Plantio de cinco rebolos por parcela



Fonte: GONZAGA, 2010

Umidade do solo

Os vasos foram irrigados diariamente para ser mantido o solo na capacidade de campo. Após 110 dias, os vasos, foram divididas em dois grupos, a saber: (i) Tratamento Irrigado, plantas mantidas permanentemente irrigadas e (ii) Tratamento com déficit hídrico, plantas submetidas à suspensão completa da irrigação. O déficit hídrico ocorreu de forma progressiva em função do esgotamento da água do solo. Ao final do quarto dia de suspensão da irrigação, foi feita a reidratação das plantas.

Durante o período de estresse, foram realizadas três leituras da umidade do solo por vaso a cada dia, numa profundidade de cinco centímetros, utilizando-se um sensor de umidade modelo SM200, acoplado a um medidor de umidade modelo HH2 ambos do fabricante (DELTA-T Devices, Cambridge - England).

AVALIAÇÕES BIOMÉTRICAS E DE BIOMASSA

Área foliar estimada e mensurada

A avaliação da área foliar (AF) foi realizada a cada 15 dias. A AF estimada foi determinada por meio da contagem do número de folhas verdes (folha totalmente expandida com o mínimo de 20% de área verde, contada a partir da folha +1) e pelas medições nas folhas +3, sendo obtidos o comprimento e a largura da folha na porção mediana, segundo metodologia descrita por Hermann & Câmara (1999): $AF = C \times L \times 0,75 \times (N + 2)$, em que C é o

comprimento da folha +3, L é a largura da folha +3, 0,75 é o fator de correção para área foliar da cultura, e N é o número de folhas abertas com pelo menos 20% de área verde.

O número médio de folhas verdes por planta, em cada unidade experimental, foi determinado considerando-se as folhas com pelo menos 20% de área foliar verde.

Ao final do experimento, as folhas foram coletadas e a área do limbo de cada folha foi determinada por meio de um medidor de área foliar LA-3100 e a área foliar total da planta foi calculada como o somatório de todas as áreas determinadas individualmente. Este critério foi definido como AF mensurada.

Altura, diâmetro do colmo e número de folhas verdes

As variáveis de crescimento relacionadas à morfologia da parte aérea determinadas foram: (1) altura das plantas: medindo-se com auxílio de uma régua graduada do colo da planta até a inserção da folha +1. (2) diâmetro do colmos: utilizou-se um paquímetro feitas medidas na base dos colmos; (3) o número de folhas: determinados pela contagem a cada 15 dias do número de folhas e existentes na planta durante o período experimental.

Análise da massa seca

Aos 114 dias após o plantio (DAP), as plantas foram retiradas dos vasos separadas em parte aérea e sistema radicular. O sistema radicular foi cuidadosamente lavado em água corrente, utilizando-se uma peneira de malha fina para evitar perdas de raízes mais finas. O sistema radicular, as folhas e os colmos foram separados e as partes da planta acondicionadas em sacos de papel e secas em estufa de circulação de ar (72°C até massa constante) para a obtenção de suas massas secas. A partir dos dados de massa seca foram calculados:

Razão da massa seca do colmo(%) = massa seca do colmo/massa seca total X 100

Razão da massa seca das folhas(%) = massa seca da folha/ massa seca total X 100

Razão da massa seca das raízes (%) = massa seca da raiz/ massa seca total X 100

Usando-se os dados de área foliar e de massa seca foram calculados:

Razão da área foliar (RAF) = Área foliar / massa seca total

Área foliar específica (AFE) = Área foliar / massa seca da folha

ANÁLISES FISIOLÓGICAS

As análises fisiológicas foram realizadas em dois momentos: 1- comparando tratamentos estressados e sem estresse hídrico e 2- comparando tratamentos sem estresse e as plantas reidratadas.

Potencial hídrico foliar (ψ_{wf})

O ψ_{wf} foi determinado em dois horários: 1- entre 4:30 e 5:30 da manhã (antemanhã), período em que as plantas estavam com o potencial hídrico de base, isto é, encontraram-se na máxima condição hídrica possível para aquele solo; e 2- 12 horas (meio-dia), horário em que elas sofrem maior estresse devido ao pico de radiação solar e temperatura, sendo realizado por meio de uma bomba de pressão do tipo Scholander (Soil Moisture, Equipment Corporation, Santa Bárbara, USA), conforme descrito por Pinheiro et al.(2007). Como amostras, folhas maduras e completamente expandidas foram selecionados do primeiro par de folhas a partir do ápice, destacados com auxílio de uma lâmina de barbear, armazenados em sacos de polietileno umedecidos e transportados sob gelo até o laboratório para as análises, em um tempo máximo de 60 minutos, sendo coletada uma amostra por parcela.

Eficiência quântica potencial e efetiva

Para medidas de fluorescência da clorofila *a*, utilizou-se um fluorômetro portátil de luz modulada (Opti-Sciences, modelo OS1-FL, Hudson, USA), pelo qual se obteve a fluorescência inicial (F_0), a fluorescência máxima (F_m), a fluorescência variável (F_v) e o rendimento quântico máximo do FSII (F_v/F_m), obtidos após a adaptação da folha +1 ao escuro por aproximadamente 20 min com a utilização de presilhas plásticas. As medições ocorreram nos horários entre 4 - 5 h (antemanhã) e 11 - 12 h (meio-dia), para quantificação do grau de fotoinibição do fotossistema II (PSII) provocado pelo estresse hídrico. O rendimento quântico efetivo do PSII (Yield) foi determinado às 10:00 horas da manhã sob luz ambiente. Foram realizadas duas leituras do terço médio foliar da folha +1 de todas as plantas.

Estimativa do conteúdo de clorofila

A medida indireta da clorofila (leitura SPAD) foi realizada pelo método não destrutivo, utilizando-se umClorofilômetro, modelo SPAD-502 (Minolta Corporation, Ramsey, Japan), sendo as médias obtidas de cinco leituras por folha, e as leituras foram realizadas na folha +2. O SPAD possui diodos que emitem luz a 650 (vermelho) e 940 nm (infravermelho). A luz em 650 nm situa-se próxima dos dois comprimentos primários de onda

associados à atividade da clorofila (645 e 663 nm). O comprimento de onda de 940 nm serve como referência interna para compensar as diferenças na espessura ou no conteúdo de água da folha ou devidas a outros fatores (WASKOM et al., 1996). A luz que passa através da amostra da folha atinge um receptor (fotodiodo de silicone) que converte a luz transmitida em sinais elétricos analógicos. Esses sinais são convertidos em sinais digitais por meio do conversor A/D (MINOLTA, 1989) e são usados por um microprocessador para calcular os valores SPAD ("Soil Plant Analysis Development"), que são mostrados num visor.

Coleta de dados meteorológicos

As temperaturas máximas, médias e mínimas, radiação fotossinteticamente ativa (PAR) e o déficit de pressão de vapor (DPV), foram registrados diariamente por uma estação meteorológica automática (WeatherStation) modelo WS - GP1 AT (DELTA-T Devices, Cambridge - England), instalada no interior da casa-de-vegetação.

Análise Estatística

Os resultados obtidos foram analisados, estatisticamente, pelo programa SISVAR, realizando análise de variância seguida da comparação das médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

AVALIAÇÕES BIOMÉTRICAS E DE BIOMASSA

Altura, diâmetro, número de folhas verdes e área foliar

A aplicação de bactéria não afetou o diâmetro do colmo, altura de plantas e área foliar na cana-de-açúcar cv RB867515 (Tabela 4). Resultados semelhantes foram encontrados por Lima et al. (2011) que, trabalhando com bactérias diazotróficas endofíticas em isolados de cana-de-açúcar, não encontrou diferenças significativas para diâmetro do colmo. Essa falta de resposta no diâmetro do colmo em relação aos tratamentos talvez seja devido ao curto tempo do experimento que se estendeu por 114 dias como observado por Oliveira (2004), relatou que estudos com três variedades de cana-de-açúcar, não houveram diferenças significativas no diâmetro até os 135 DAP (dias após o plantio), sendo encontradas diferenças apenas a partir dos 279 DAP.

Tabela 4. Resumo da análise de variância para diâmetro do colmo, altura e número de folhas verdes de cana-de-açúcar sob efeito de bactérias endofíticas aos 105 DAP. Rio Largo, AL. 2011.

Fonte de variação	GL	Valores de F			
		Φ colmo (cm)	Altura (cm)	Nº Folhas	AF
Bactérias	3	1,82 ^{ns}	0,48 ^{ns}	3,12 *	1,77 ^{ns}
CV (%)		8,01	9,6	4,55	9,19

G.L.: graus de liberdade; ns: não significativo; *: significativo ($P > 0,05$); C.V.: coeficiente de variação.

Fonte: GONZAGA, 2011

A diferença entre o maior diâmetro do colmo (inoculante completo) e o menor (*G. diazotrophicus*) diâmetro foi de apenas 0,11 cm (Tabela 5). Landell & Silva (1995) observaram que em relação às variáveis de crescimento, o diâmetro do colmo é a que apresenta a menor variação, e que depende das características da variedade, do número de perfilhos, do espaçamento utilizado, da área foliar e das condições ambientais.

Tabela 5. Diâmetro do colmo, altura e número de folhas verdes de cana-de-açúcar sob efeito de bactérias endofíticas aos 105 DAP. Rio Largo, AL. 2011.

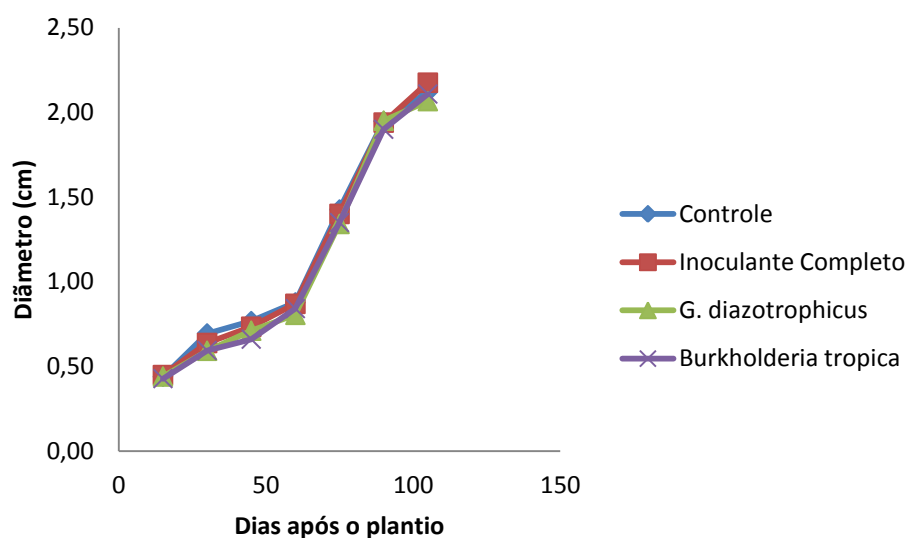
TRATAMENTO	Análise de Crescimento			
	Φ colmo (cm)	Altura (cm)	Nº Folhas por planta	AF estimada (cm ²)
CONTROLE	2,121 a	49,92 a	9,44 a	2839,76 a
INOCULANTE COMPLETO	2,184 a	52,58 a	9,34 ab	2542,18 a
<i>G. diazotrophicus</i>	2,075 a	50,44 a	8,76 b	2519,71 a
<i>Burkholderia tropica</i>	2,110 a	51,20 a	9,06 ab	2563,52 a

*As médias de cada coluna seguidas pela mesma letra não diferiram estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey (5% de significância).

Fonte:GONZAGA,2010

O crescimento do diâmetro do colmo foi mais intenso entre 60 e 90 DAP para todos os tratamentos. As plantas do tratamento inoculadas com o inoculante completo, ainda apresentaram crescimento até a última avaliação onde alcançou maior diâmetro, porém não significativo, conforme observado como visto na Figura 3.

Figura 3. Diâmetro do colmo de cana-de-açúcar sob efeito de bactérias endofíticas em casa-de-vegetação aos 105 DAP. Rio Largo, AL. 2011

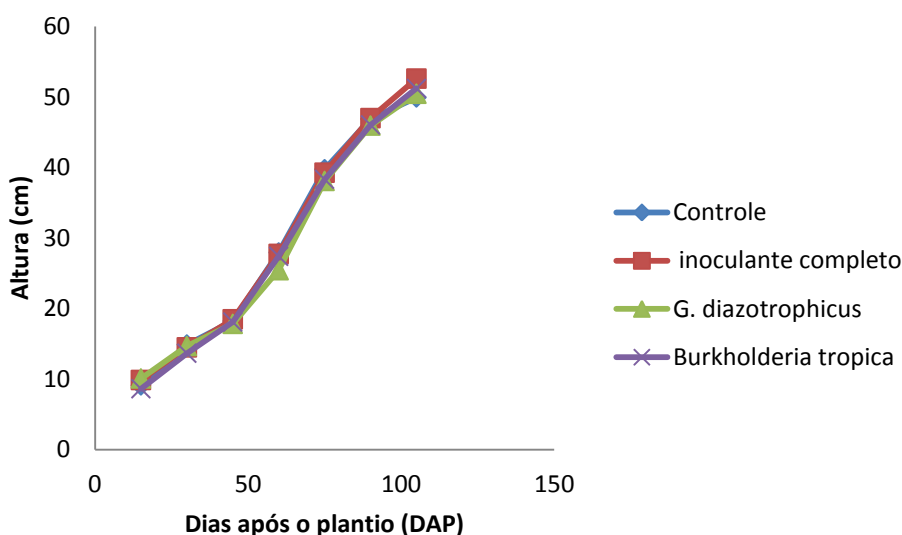


Fonte:GONZAGA,2010

O crescimento em altura da cana-de-açúcar também não foi afetado pela aplicação de bactérias endofíticas (Tabela 5). Mesmo assim Rodrigues (1995) comenta que o crescimento em altura continua até a ocorrência de alguma limitação no suprimento de água, com isso, avaliações biométricas, como por exemplo, altura, são importantes em pesquisas com disponibilidade hídrica.

De acordo com Alvarez & Castro (1999) e Almeida et al. (2008), citado por Leal (2011), as curvas de crescimento de plantas para altura de plantas tendem apresentar característica sigmoidal. Nesta pesquisa as curvas do crescimento de altura mostraram-se semelhantes com uma fase inicial mais lenta até os 45 dias após o plantio – DAP e um rápido aumento dos 60 aos 105 DAP (Figura 4). As alturas de plantas variaram na ultima avaliação de crescimento aos 105 (DAP) de 52,58 cm para o inoculante completo para 49,92 cm para o controle, não havendo diferença significativa entre eles. Lima et al. (2011), não encontraram diferenças significativas para altura da planta em estudo realizado com bactérias diazotróficas endofíticas em isolados de cana-de-açúcar.

Figura 4. Altura de cana-de-açúcar sob efeito de bactérias endofíticas em casa-de-vegetação aos 105 DAP. Rio Largo, AL. 2011

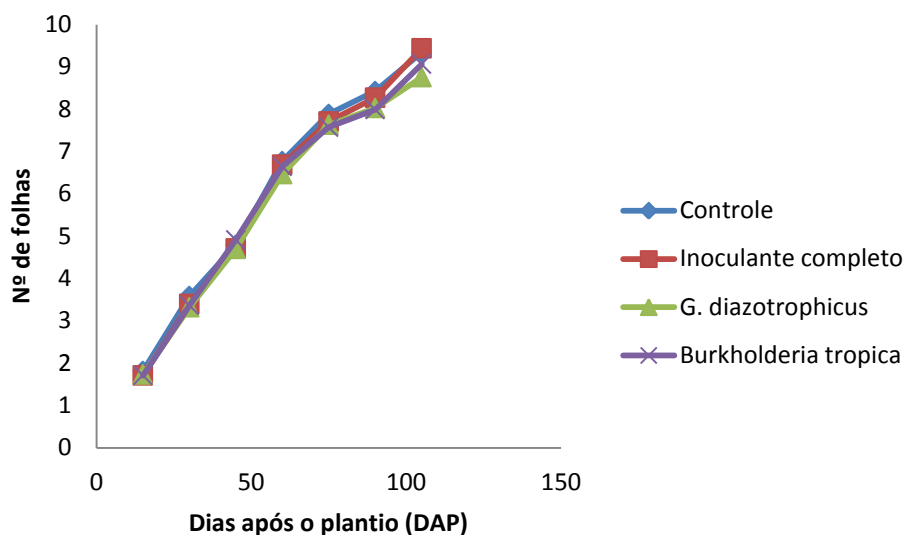


Fonte: GONZAGA, 2010

O número de folhas verdes (Tabela 5 e Figura 5) apresentou aumento pela presença da bactéria *Gluconacetobacter diazotrophicus*, enquanto esse não diferiu estatisticamente do

inoculante completo e *Burkholderia tropica*, obtendo o controle o maior numero de folhas por planta. (Tabela 5).

Figura 5. Número de folhas verdes de cana-de-açúcar sob efeito de bactérias endofíticas em casa-de-vegetação aos 105 DAP. Rio Largo, AL. 2011



Fonte: GONZAGA, 2010

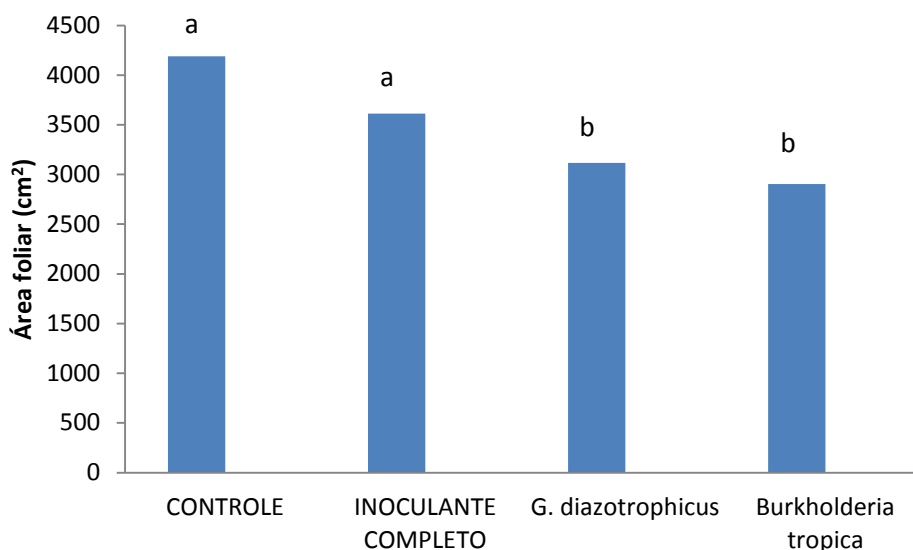
A aplicação de bactérias em cana-de-açúcar não mostrou efeito significativo sobre a área foliar estimada (Tabela 4). Em tomateiro, por outro lado, a presença da bactéria *Micrococccu ssp*, proporcionou aumento na área foliar (Barretti et al. 2008).

A folha é responsável pela absorção da radiação que impulsiona o processo fotossintético, e quanto maior a sua área maior será a interceptação de radiação. Na avaliação de área foliar estimada (Tabela 5), não foi observado diferença significativa entre os diferentes tratamentos com bactérias e o controle, embora este tenha apresentado um acréscimo de 11,72% em relação ao inoculante *G. diazotrophicus*. Lucchesi (1987), citado por Sugawara (1999), comentaram que o aumento da área foliar propicia um aumento na capacidade da planta de aproveitar a energia solar para a realização da fotossíntese e, desta forma, este critério pode ser utilizado para avaliar a produtividade. A aplicação de bactérias afetou a área foliar medida ao final do experimento, o tratamento controle foi igual estatisticamente ao inoculante completo e diferiram das bactérias *B. tropica* e *G. diazotrophicus* (Figura 6).

Oliveira (2004) observou que o crescimento da área foliar pode ser influenciado por características intrínsecas de cada variedade, como largura e comprimento das folhas, bem

como pela senescência foliar, e que cada variedade apresenta comportamento diferente ao longo do ciclo vegetativo.

Figura 6. Área foliar mensurada de cana-de-açúcar sob efeito de bactérias endofíticas em casa-de-vegetação aos 114 DAP. Rio Largo, AL. 2011. *Barras seguidas de mesma letra, não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



Fonte: GONZAGA, 2010

Massa seca da raiz e da parte aérea

Quando avaliado o crescimento médio das plantas, verificou-se que plantas tratadas sem de bactérias (controle) e com o inoculado *Burkholderia tropica* apresentavam a maior massa de parte aérea (Tabela 6). A aplicação da bactéria *Gluconacetobacter diazotrophicus* e o tratamento controle apresentaram maior massa de raiz em relação ao massa da raiz (Tabela 7).

Oliveira et al. (2002), citado por Canuto et. al (2003), encontraram resultados diferentes, ao inocularem diferentes espécies de bactérias diazotróficas, isoladas e em mistura, quando utilizavam plantas micropropagadas de cana-de-açúcar, os autores observaram que *Herbaspirillum* spp, *A. amazonense* e a combinação de cinco espécies de bactérias (inoculante completo) levaram a um aumento significativo no acúmulo de massa fresca de colmos das plantas.

Tabela 6. Resumo da análise de variância do massa seca da raiz e parte aérea de cana-de-açúcar sob efeito de bactérias endofíticas até os 114 DAP. Rio Largo, AL. 2011

Fonte de variação	GL	Valores de F		
		M. S. Raiz	M. S. Parte Aérea	M. S. Total
Bactérias	3	8,35*	19,69 *	24,02*
CV (%)		11,44	8,95	5,79

G.L.: graus de liberdade; ns: não significativo; *: significativo ($P > 0,05$); C.V.: coeficiente de variação.

Fonte: GONZAGA, 2010

Marques Júnior et. al (2008) observaram que os toletes de cana apresentam, naturalmente, uma microbiota nativa. A elevada densidade de inóculo de bactérias endofíticas aplicada, além dos microrganismos nativos, leva a uma competição por carboidratos e outras biomacromoléculas. Este fato pode representar um dreno adicional consumindo a reserva dos microtoletes. Assim, o decréscimo no acúmulo de matéria seca na parte aérea dos tratamentos que receberam a bactéria em toletes pode ser justificado, pelo menos em parte, pelo dreno de fotoassimilados promovidos pela competição com a flora natural dos toletes na colonização.

Tabela 7. Teste de tukey para avaliações de massa seca das raízes e da parte aérea de cana-de-açúcar sob efeito de bactérias endofíticas até os 114 DAP. Rio Largo, AL. 2011

TRATAMENTO	Massa Seca (g)		
	Raiz	Parte Aérea	Total
CONTROLE	93,12 a	159,12 a	252,50 a
INOCULANTE COMPLETO	78,12 b	120,00 b	198,12 c
<i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i>	91,25 a	128,12 b	219,37 b
<i>Burkholderia tropica</i>	73,12 b	156,12 a	229,25 b

*As médias de cada coluna seguidas pela mesma letra não diferiram estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey (5% de significância).

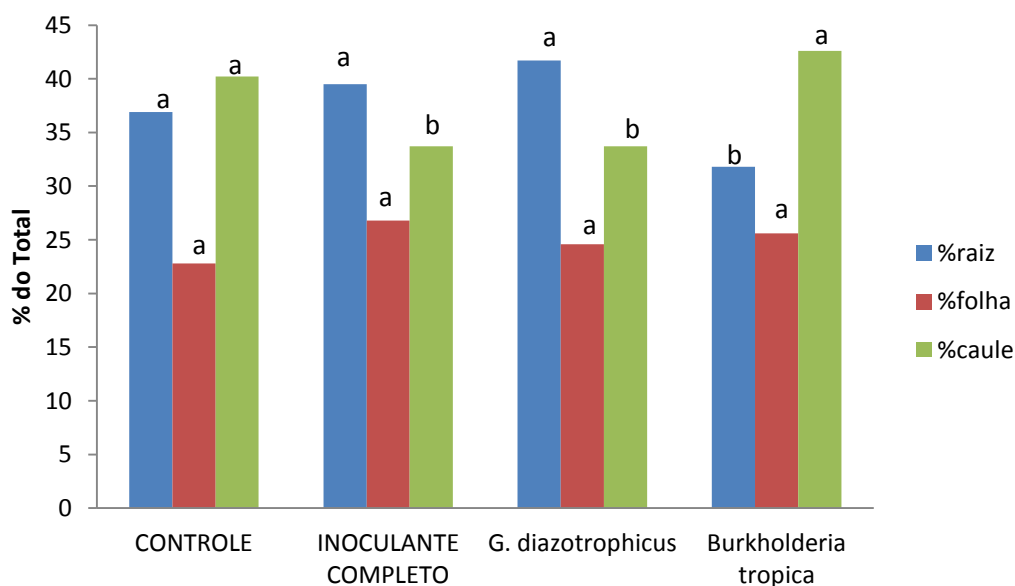
Fonte: GONZAGA, 2010

A maior ação das bactérias endofíticas no sistema radicular, provavelmente está relacionada à produção de auxinas pelos isolados. Shiet al. (2009), citado por Paz (2009),

encontraram uma correlação positiva entre produção de AIA e o tamanho e massa fresco de raízes, com concentrações ótimas para crescimento radicular de beterraba açucareira entre 31,23 e 39,12 µg/mL de AIA, em meio de cultura.

A aplicação de bactérias afetou a massa da parte aérea (Tabela 7 e Figura 7), tendo os tratamentos controle e *B. tropica* diferido estatisticamente do inoculado completo e *G. diazotrophicus*. Nas raízes a bactéria *G. diazotrophicus* apresentou acréscimo de aproximadamente 24% de massa seco em relação ao inoculado com *B. tropica*. As bactérias não afetaram o massa seca de folhas, embora as plantas tratadas com inoculante completo tinham aproximadamente 15% mais massa seca de folha em relação ao controle. A aplicação de bactérias afetou a proporção de colmos das plantas, sendo 40% e 42% maior no tratamento controle e a bactéria *B. tropica* em relação ao inoculante completo e a bactéria *G. diazotrophicus*, respectivamente, que apresentaram valores de 33%.

Figura 7. Porcentagem de massa seca de raiz, folha e colmos de cana-de-açúcar sob efeito de bactérias endofíticas cultivadas em casa-de-vegetação aos 114 DAP. Rio Largo, AL. 2011. *Barras seguidas de mesma letra, não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



Fonte: GONZAGA, 2010

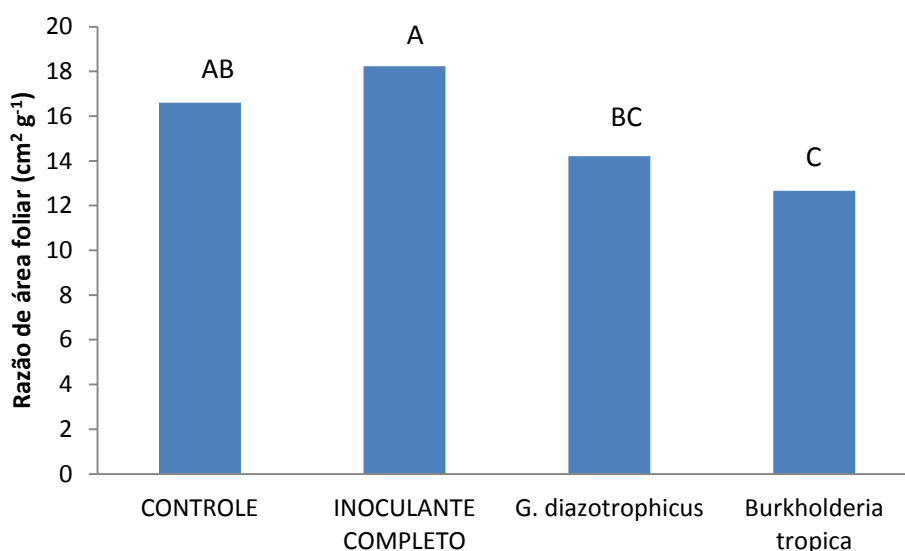
Thakuria et al. (1998) relataram que é difícil indicar os mecanismos necessários a maior habilidade da bactéria em promover o crescimento da planta. Discutem, porém, que um mecanismo de promoção de crescimento pode ser aumentado, em condições de campo, na presença de uma comunidade microbiana complexa.

A razão de área foliar foi maior nos tratamentos com o inoculante completo e o controle, diferindo estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade pelo teste tukey, apresentando o inoculante completo acréscimo de 30,5% em relação à presença da bactéria *Burkholderia tropica* (Figura 8).

As maiores RAF, encontrada no controle e no inoculante completo evidenciam menor eficiência na conversão de biomassa, enquanto que, *G. diazotrophicus* e *Burkholderia tropica* possuem maior eficiência na fixação de carbono.

De acordo com Rodrigues (1982), a razão de área foliar (RAF) é uma medida relativa do aparelho assimilador, ou seja, ela representa a dimensão relativa do aparelho fotossintético, sendo bastante apropriada a avaliação dos efeitos genotípicos, climáticos e de comunidades vegetais. Este índice fisiológico expressa, também, a área foliar útil para a fotossíntese, sendo em componente morfofisiológico da análise de crescimento (BENINCASA, 1988).

Figura 8. Razão de área foliar de cana-de-açúcar sob efeito de bactérias endofíticas cultivadas em casa-de-vegetação aos 114 DAP. Rio Largo, AL. 2011. Barras seguidas de mesma letra, não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

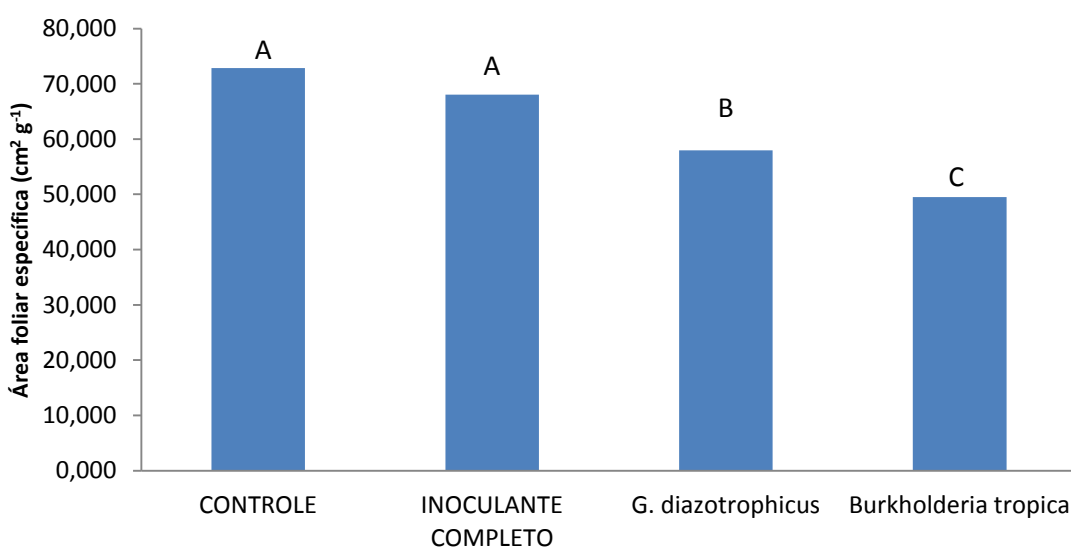


Fonte: GONZAGA, 2010

A área foliar específica apresentou maior valor para o controle e o inoculante completo, diferindo estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade pelo teste tukey, das bactérias *G. diazotrophicus* e *B. tropica* (Figura 9).

De acordo com Radford (1967), a área foliar específica (AFE) representa as diferenças no espessamento foliar, ou seja, permite verificar se as plantas estão acumulando fotoassimilados em suas folhas ou translocando-os para outros órgãos.

Figura 9. Área foliar específica de cana-de-açúcar sob efeito de bactérias endofíticas cultivadas em casa-de-vegetação aos 114 DAP. Rio Largo, AL. 2011. Barras seguidas de mesma letra, não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



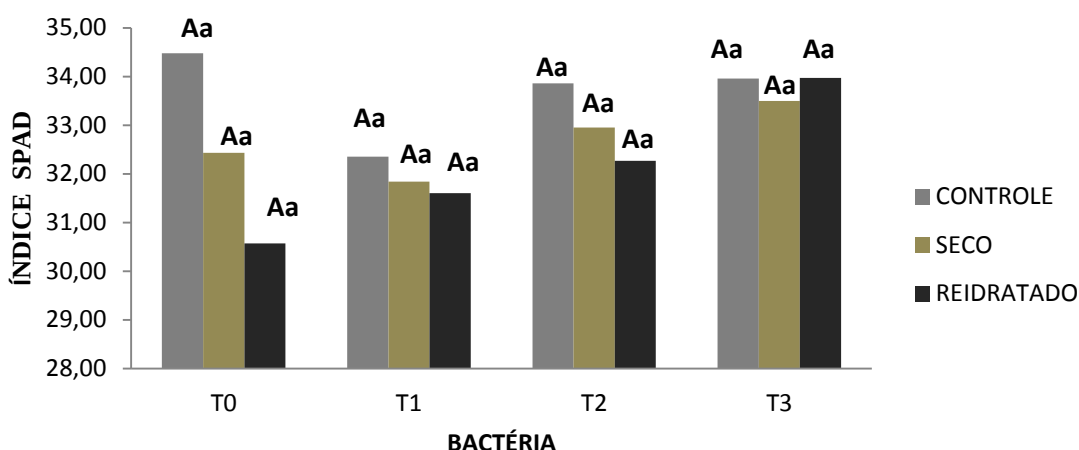
Fonte: GONZAGA, 2010

AVALIAÇÕES FISIOLÓGICAS

Estimativa do conteúdo de clorofila via índice SPAD

A inoculação com bactérias diazotróficas não apresentou efeito significativo sobre o índice SPAD, não apresentando efeito significativo entre os fatores (bactérias) e de suas interações ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey (Figura 10). A degradação da clorofila é uma das consequências da deficiência hídrica, que resulta na perda da cor verde das folhas (LONG et al., 1994). O uso dessa técnica também é de fácil obtenção e vem se mostrando confiável para diferenciar entre plantas tolerantes e susceptíveis à deficiência hídrica (O'NEILL et al., 2006).

Figura 10. Comportamento do teor de clorofila medido com o clorofilômetro (SPAD- 502), de bactérias inoculadas em cana-de-açúcar, na região de Rio Largo - AL. Médias seguidas de letras iguais, tanto para umidade dentro de bactérias (letras minúsculas), como para bactérias (letras maiúsculas), não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey. T0- controle, T1- inoculante completo, T2- *G. diazotrophicus*, T3- *Burkholderia tropica*.



Fonte: GONZAGA, 2010

O'Neil et al. (2006) relataram que a redução nas leituras do SPAD-502 dependem principalmente das características genéticas da planta. Em seus trabalhos com dois híbridos de milho tolerante ao estresse hídrico, observaram redução média de apenas 2,1% na leitura SPAD-502, e quando os híbridos eram suscetíveis essa redução aumentou para 7,8%, quando a umidade do solo foi reduzida em 50% da evapotranspiração da cultura.

Potencial hídrico (ψ_w)

O Ψ_w foliar reflete as condições da dinâmica do processo de transporte no sistema solo-planta-atmosfera, constituindo-se no principal componente responsável pelo fluxo de água na planta.

As bactérias afetaram o potencial hídrico da folha na ante - manhã apresentando diferença significativa apenas para *B. tropica*, em relação a ausência de irrigação (seco), em que ficou evidenciado maior valores neste tratamento (-0,9 MPa), comparado aos outros tratamentos (-1,0, -1,2, -1,4). Já em relação ao fator umidade dentro das bactérias não houve diferença significativa no período da manhã, isso mostra, que os valores de ausência de irrigação são próximos dos valores de reidratação e controle (Figura 11A). Inman-bamber & Smith (2005) relatam que o potencial hídrico do xilema da folha geralmente diminui

conforme a transpiração aumenta com o passar da manhã, e então pela tarde com o declínio da transpiração e da radiação solar o potencial tende a aumentar novamente.

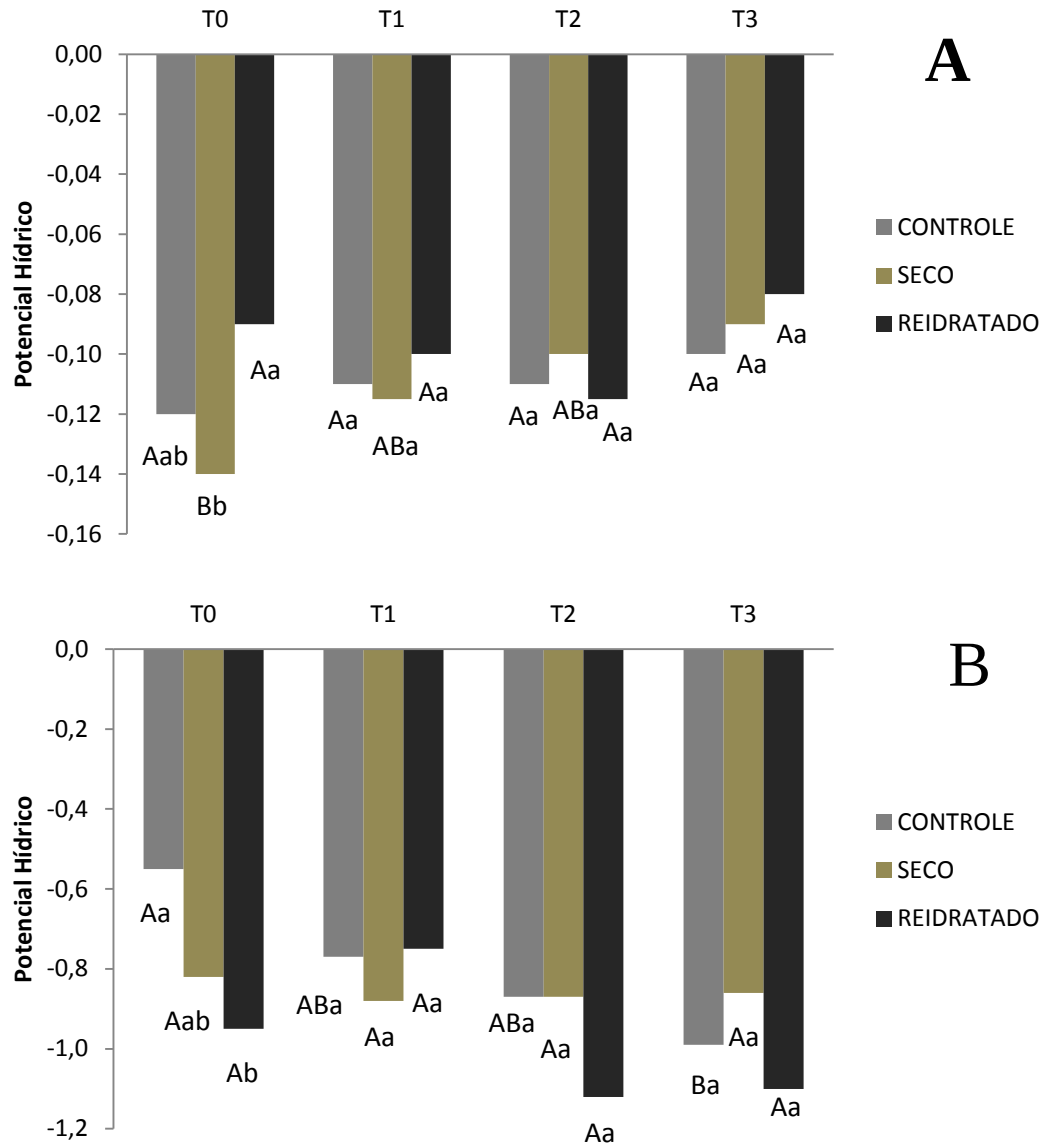
Após quatro dias de restrição hídrica, foram observados valores muito baixos nas leituras do potencial hídrico foliar, atribui-se a tal fato, o elevado nível de desidratação apresentado pelas folhas das plantas em virtude da seca, somado ao efeito das altas temperaturas registradas dentro da casa-de-vegetação durante o experimento. Após a reidratação, houve pequena recuperação do potencial hídrico, o qual diferiu significativamente apenas no tratamento controle.

De acordo com Barbieri (1982), a cana-de-açúcar requer boa quantidade de umidade no solo durante o período de crescimento, uma vez que a água tem papel fundamental na turgescência, translocação e na pressão de crescimento e de turgor. Os efeitos do estresse hídrico nas plantas incluem, entre outros fatores, as reduções nas taxas de transpiração e de assimilação de CO₂, a redução do tamanho das células, a redução do potencial hídrico da planta, a taxa de crescimento e a abertura estomática (HSIAO, 1973).

Para o comportamento do ψ_w das plantas ao meio-dia (Figura 11B), foram observadas diferenças significativas, em relação às bactérias, no tratamento controle (ausência de bactérias), mostra que plantas irrigadas (controle) apresentavam valores mais altos (-4,8 Mpa) em relação aos tratamentos inoculante completo, *Gluconacetobacter diazotrophicus* e *Burkholderia tropica* (-7,8, -8,2, -9,8 Mpa) respectivamente. Já em relação à umidade apenas as plantas do tratamento controle não apresentaram recuperação ao estresse, enquanto que os outros tratamentos os valores da reidratação sempre ficou igual estatisticamente ao seco e ao controle, ou seja, as plantas conseguiram recuperar do dano sofrido pela ausência hídrica.

Possivelmente, os tratamentos que possuíam bactérias, permitiram as plantas sobreviverem por um período de tempo maior sob estresse, mantendo com os seus protoplasmas hidratados, como discutido por Silva et al. (2007), e também observado por Robertson et al. (1999), onde ocorreu redução do potencial osmótico e, por conseguinte, um incremento na absorção de água ao meio dia, em condições semelhantes. Estas reduções severas no ψ_w podem ser atribuídas à menor regulação do controle de abertura estomática ocasionando maiores perda de água das folhas por transpiração, bem como à menor capacidade de absorção e houve e transpiração de água ou a ambas.

Figura 11. Potencial hídrico foliar w da antemanhã (A) e ao meio-dia (B) de cana-de-açúcar cultivados em casa-de-vegetação aos 114 dias após o plantio em vasos. Médias seguidas de letras iguais, tanto para níveis de umidade dentro de bactérias (letras minúsculas), como para bactérias (letras maiúsculas), não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey. T0- controle, T1- inoculante completo, T2- *G. diazotrophicus*, T3- *Burkholderia tropica*.



Fonte: GONZAGA, 2010

Rendimento quântico do PSII (Fv/Fm)

O estresse hídrico afetou significativamente a eficiência quântica potencial (Fv/Fm), ficando claro, que na ausência de estresse hídrico (controle) os valores Fv/Fm estavam acima de 0,79 diferindo estatisticamente do estresse hídrico (seca) e reidratação, em que os valores estavam abaixo de 0,79 (Figura 12A), com exceção da bactéria *G. diazotrophicus*, em que,

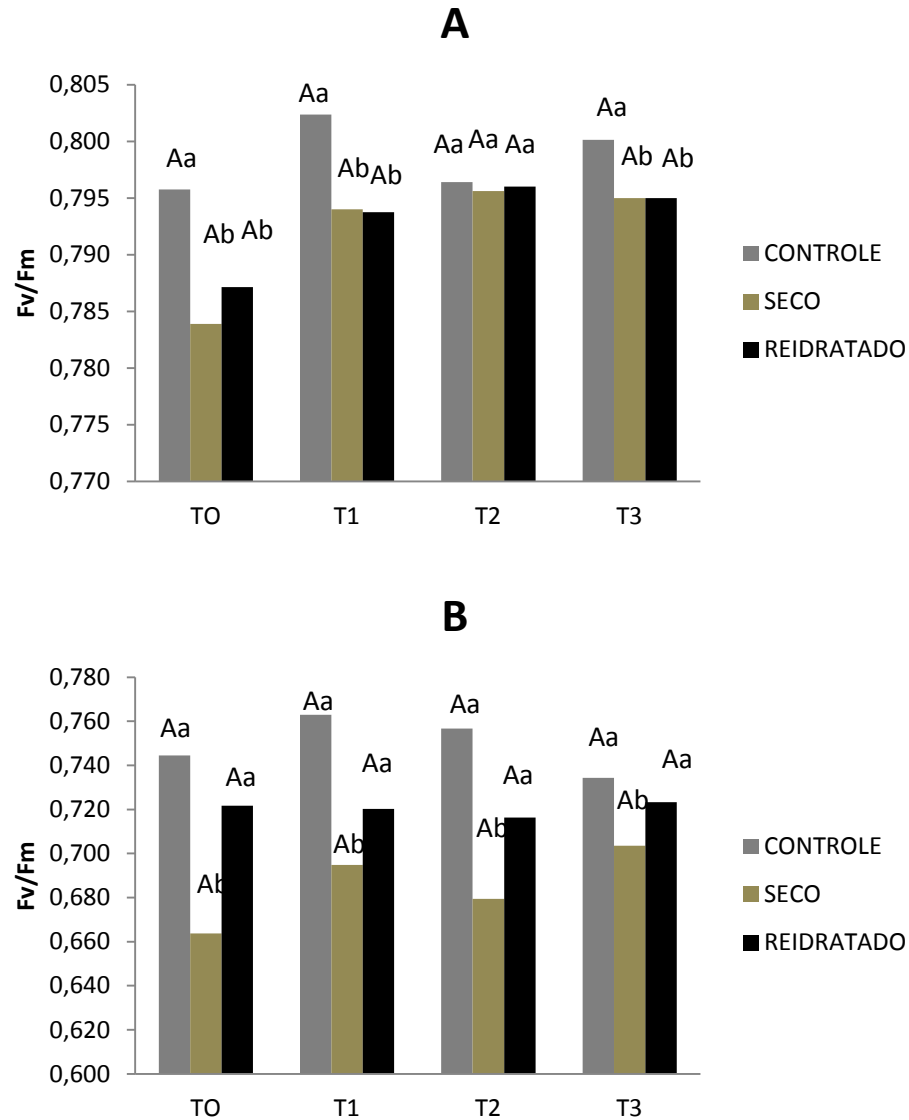
praticamente não houveram mudanças significativa. Aparentemente os danos apresentados ao meio-dia foram recuperados durante o período noturno, mostrando valores de F_v/F_m mais elevados na antemanhã.

De acordo com Silva et al. (2007), plantas que estão com aparelho fotossintético intacto, apresentam valores médios da relação F_v/F_m variando de 0,75 a 0,85, enquanto que, reduções desses valores refletem danos fotooxidativos causados por fotoinibição no centro de reação do FSII. Os valores observados nas bactérias se encontram dentro do intervalo citado anteriormente, sendo iguais também aos valores apresentados por Silva et al. (2007), que encontraram valores de 0,80 em genótipos de cana-de-açúcar sob condições de irrigação.

A fluorescência da clorofila *a* neste caso, máxima eficiência fotoquímica do fotossistema II, F_v/F_m foi afetada negativamente pela deficiência hídrica, entretanto houve recuperação em todos os tratamentos, evidenciado por terem os valores do controle serem iguais estatisticamente ao reidratação. (Figura 12B).

De acordo com Silva et al. (2007), a habilidade de manter altos valores de F_v/F_m sob condições de estresse promovido por deficiência hídrica indica que a planta mantém alta eficiência do uso da radiação pela fotoquímica e assimilação de carbono. Ainda, Colom & Vazzana (2003) relataram correlação positiva entre tolerância à seca e altos valores de F_v/F_m assim como entre susceptibilidade à seca e baixos valores de F_v/F_m .

Figura 12. Rendimento quântico máximo do PSII (Fv/Fm) 4h (A) e 11h (B) de cana-de-açúcar cultivados em casa-de-vegetação aos 114 dias após o plantio em vasos. Médias seguidas de letras iguais, tanto para níveis de umidade dentro de bactérias (letras minúsculas), como para bactérias (letras maiúsculas), não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey. T0- controle, T1- inoculante completo, T2- *G. diazotrophicus*, T3- *Burkholderia tropica*.



Fonte: GONZAGA, 2010

4 CONCLUSÕES

A presença de bactérias não afetou significativamente as características biométricas das plantas de cana-de-açúcar crescidas em vasos aos 114 DAP.

A RAF utilizou a AF mensurada, sendo maior nos tratamentos controle e inoculante completo. Nestes, a planta desenvolveu mais folhas e foi menos eficiente na fixação de carbono, refletido no aumento de massa seca.

.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFONSI, R. R. et al. Condições climáticas para a cana-de-açúcar. In: PARANHOS, S.B. (Coord.). **Cana-de-açúcar: cultivo e utilização**. Campinas: Fundação Cargill, v. 1, p. 42-55. 1987.
- ALMEIDA, A. C. dos S.; SOUZA, J. L.; TEODORO, I.; BARBOSA, G. V. S.; MOURA FILHO, G.; FERREIRA JÚNIOR, R. A. Desenvolvimento vegetativo e produção de variedades de cana-de-açúcar em relação a disponibilidade hídrica e unidades térmicas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n.5, p 1441-1448, 2008.
- ALVAREZ, A. A.; CASTRO, P. R. C. Crescimento da parte aérea de cana crua e queimada. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 56, n. 4, p. 1069 – 1079, 1999.
- ANGELOCCI, L. R. **Água na planta e trocas gasosas/energéticas com a atmosfera: introdução ao tratamento biofísico**. Piracicaba: ESALQ/USP, 284p, 2002.
- ARALDI, R; SILVA, F. M. L; ONO, E. O; RODRIGUES J. D. Florescimento em cana-de-açúcar. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.3, p.694-702, 2010.
- ARTLIP, T. S.; WISNIEWSKI, M. E. Induction of proteins in response to biotic and abiotic stresses. In: PESSARAKLI, M. (Ed.) **Handbook of plant and crop physiology**. New York: Marcel Dekker, p.657-679. 2002.
- AZEVEDO, J.L.; MACCHERONI JUNIOR, W.; PEREIRA, J.O.; ARAÚJO, W.L. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. *Electronic Journal of Biotechnology*, v.3, 2000. Disponível em: <<http://ejbiotechnology.info/content/vol3/issue1/index.html>>. Acesso em: set. 2011.
- BALDANI, J.I.; CARUSO, L.; BALDANI, V.L.D.; GOI, R.S; DÖBEREINER, J. Recent advances in BNF with non-legumes plants. **Soil Biology Biochemistry**, Oxford, v.29, p.922-928, 1997.
- BALDANI, J.I.; BALDANI, V.L.D.; SELDIN, L.; DÖBEREINER, J. Characterization of *Herbaspirillum seropedicae* gen. nov., sp. nov., a root associated nitrogen-fixing. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Baltimore, v.36, p.86-93, 1986.
- BARBIERI, V.; VILLA NOVA, N. A. **Climatologia e a cana-de-açúcar**. Araras: PLANALSUCAR, Coordenadoria Regional Sul, 36 p. 1982.
- BARRETTI, P.B.; SOUZA, R.M.; POZZA, E.A. Bactérias endofíticas como agentes promotores do crescimento de plantas de tomateiro e de inibição in vitro de *Ralstonia solanacearum*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n.5, p 1441-1448, 2008.
- BASHAN, Y.; ROJAS A.; PUENTE, M.E.. Improved establishment and development of three cactus species inoculated with *Azospirillum brasilense* transplanted into disturbed urban desert soil. **Canadian Journal of Microbiology**, La Paz v. 45, p 441-451, 1999.

BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas: noções básicas**. Jaboticabal: Funep, 42p. 1988.

BEZUIDENHOUT, C. N.; O'LEARY, G. J.; SINGELS, A.; BAJIC, V. B.. A process-based model to stimulate changes in tiller density and light interception of sugarcane. **Crops and Agricultural Systems**, v.76, p.589-599, 2003.

BLOEMBERG, G.V.; LUGTENBERG, B.J.J. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. **Current Opinion in Plant Biology**, Oxford, v.4, p.343-350, 2001.

BORRELL, A. K.; HAMMER, G. L.; HENZELL, R. G. Does maintaining green leaf area in sorghum improve yield under drought? I. Leaf Growth and Senescence. **Crop Science**, Madison, v. 40, p. 1026-1037, 2000a.

BORRELL, A. K.; HAMMER, G. L.; HENZELL, R. G. Does maintaining green leaf area in sorghum improve yield under drought? II. Dry Matter Production and Yield. **Crop Science**, Madison, v. 40, p. 1037-1048, 2000b.

BRAY, E. A. Plant responses to water deficit. **Trends in Plant Science**, Canberra v. 2, p. 48-54, 1997.

BURRIS, R. **Cana-de-açúcar (*Saccharum* spp), baseados em parâmetros do solo e clima**. 2003. 86p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2003.

CANUTO, E.L.; SALLES, J.F.; OLIVEIRA, A.L.M.; PERIN, L.; REIS, V.M.; BALDANI, J.I.. Respostas de plantas micropropagadas de cana-de-açúcar à inoculação de bactérias diazotróficas endofíticas. **Agronomia**, v. 37, p. 67 - 72, 2003.

CASAGRANDE, A. A. **Crescimento da cana-de-açúcar**. STAB. Piracicaba, v. 14, n. 5, 1996.

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

CESNISK, R.; MIOCQUE, J. **Melhoramento da cana-de-açúcar**. Brasília, DF. EMBRAPA Informação Tecnológica. 2004, 307p.

CHANWAY, C. P. **Bacterial endophytes: ecological and practical implications**. Sydowia, v.50, p.149-170, 1998.

COLOM, M. R.; VAZZANA, C. Photosynthesis and PSII functionality of drought-resistant and drought sensitive weeping lovegrass plants. **Environmental and Experimental Botany**, Paris, v. 49, n. 2, p. 135-144, 2003.

COOPERATIVA CENTRAL DOS PRODUTORES DE AÇÚCAR E ÁLCOOL DO ESTADO DE SÃO PAULO. Variedades SP: recomendações e manejo. In: REUNIÃO TÉCNICA COPERSUCAR: **Variedades de cana-de-açúcar e suas implicações na lavoura canavieira**. São Paulo: Copersucar, p.44-56. 1983.

DÖBEREINER, J. Recent changes in the concept of plant-bacteria interact: endophytic N₂ fixing bacteria. **Ciência e Cultura**, v. 44, p. 310-313, 1992.

DURÃES, F. O. M.; SANTOS, M. X. dos; GAMA, E. E. G.; MAGALHÃES, P. C.; ALBUQUERQUE, P. E. P.; GUIMARÃES, C. T. **Fenotipagem para tolerância a seca: protocolos e características específicas visando o melhoramento genético de cereais**. Sete Lagoas: MAPA/Embrapa Milho e Sorgo, 16 p. 2004.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de solos. **Manual de métodos de análise de solo**. 2 ed. Rio de Janeiro, 1997. 212 p.

FARIA, S. M. **Obtenção de estirpes de rizóbio eficientes na fixação de nitrogênio para espécies florestais**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia. 2002.

GAVA, G. J. C.; TRIVELIN, P.C.O.; OLIVEIRA, M. W.; PENATTI, C. P. Crescimento e acúmulo de nitrogênio em cana-de-açúcar em solo coberto com palhada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n.2, 2001.

GEMENTE, A.C.; PINAZZA, A.H.; BRUGNARO, C.; GUIMARÃES, E.; OLIVEIRA NETO, G. R. de; KRUGLIANSKAS, I; SBRAGIA, R. **Gerência agrícola em destilarias de álcool**. 2. ed. Piracicaba: IAA/PLANALSUCAR, p. 29-83. 1986.

GENTY, B.; BRIANTAIS, J. M.; BAKER, N. R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron-transport and quenching of chlorophyll fluorescence. **Biochimica Et Biophysica Acta**, Colchester v.990, n.1, p.87-92, 1989.

GHELLER, A. C. A. Fatores que afetam o desempenho de maturadores e reguladores e crescimento em cana-de-açúcar. In: SEMANA DA CANA-DEAÇÚCAR DE PIRACICABA, 4., Piracicaba, 1999. **Anais...** Piracicaba: *Saccharum*. p. 16-19, 1999.

GILLIS, M.; KARSTERS, K., HOSTE, B.; JANSSENS, D.; KROPPRENTSTEDT, R.M.; STEPHAN, M.P.; TEIXEIRA, K.R.S.; DÖBEREINER, J.; DE LEY, J. *Acetobacter diazotrophicus* ssp. nitrogen-fixing bacterium associated with sugarcane. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Baltimore, v.39, n.3, p.361-364, 1989.

HERMANN, E. R.; CÂMARA, G. M. S. **Um método simples para estimar a área foliar de cana-de-açúcar**. Piracicaba. STAB, v. 17, p 32-34, 1999.

HSIAO, T. C. Plant response to water stress. **Plant Physiology**, Minneapolis, n. 24, p. 519-570, 1973.

HUMBRET, H. P. **The growing of sugar cane**. New York: Elsevier, 1968. 779p.

IBGE. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Rio de Janeiro, v.21, n.12, 2009.

IEA- Instituto de Economia Aplicada. Prognóstico Agrícola. 2010. Disponível em: <ftp://ftp.sp.gov.br/ftpiea/prognóstico/cana-0106.pdf>. Acesso em 20 de set. 2011.

INMAN-BAMBER, N. G. Sugarcane water stress criteria for irrigation and drying off. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 89, p. 107-122, 2004.

INMAN-BAMBER, N. G.; SMITH, D. M. Water relations in sugarcane and response to water deficits. **Field Crops Research**, v. 92, p. 185-202, 2005.

KELLING, C. R. S. **Efeito da disponibilidade de água no solo sobre os componentes do balanço hídrico e o rendimento do feijoeiro**. 1995. 91 f. Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 1995.

KHAN, M. R. Characterization and screening of bacteria from rhizosphere of rice grown in acidic soils of Assam. **Current Science**, Calcutta, v.86, p.978-985, 2004.

KIM, J.; REES, D. C. Nitrogenase and biological nitrogen fixation. **Biochemistry**, New York, v. 33, p. 389-397, 1994.

LAISK, A.; LORETO, F. Determining photosynthetic parameters from leaf CO₂ exchange and chlorophyll fluorescence. Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/ oxygenase specificity factor, dark respiration in the light. **Plant Physiology**, v.110, p.903-912, 1996.

LANDELL, M. G. A.; SILVA, M. A. **Manual do experimentador: melhoramento da cana-de-açúcar**. In: **Metodologia de Experimentação: ensaios de competição em cana-de-açúcar**. Pindorama: Instituto Agrônomo, 1995. Não paginado.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos, SP: RiMa, p 531, 2004.

LEAL, L. T. **Respostas de genótipos de cana-de-açúcar à inoculação de bactérias diazotróficas no Rio Grande do Sul**. 2011. p 50. Dissertação (Mestrado em agronomia). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria. 2011.

LIMA, R. C. et al. Caracterização Fenotípica de Bactérias Diazotróficas Endofíticas Isoladas de Cana-de-açúcar. *Revista Facultad Nacional de Agronomia*, v. 64, p. 5803 – 5813, 2011.

LODEWYCKX, C.; VANGRONVELD, J.; PORTEOUS, F.; MOORE, E. R. B.; TAGHAVI, S.; MEZGEAY, M.; VAN DER LELIE, D. Endophytic bacteria and their potential applications. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Rotan, v.21, p.583- 606, 2002.

LONG, S.P.; HUMPHRIES, S.; FALKOWSKI, P. G. Photoinhibition of photosynthesis in nature. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, New York, v. 45, p. 633-662, 1994.

LOPES, A. S. **Solos sob cerrado: características, propriedades e manejo**. 2 ed. Piracicaba: POTAFOS, p. 162, 1984.

LUCCHESI, A. A. Fatores da produção vegetal. In: CASTRO, P. R. C.; FERREIRA, S. O.; YAMADA, T. **Ecofisiologia da produção agrícola**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato. p.1-11, 1987.

MACHADO, R. S. **Respostas fisiológicas de genótipos de cana-de-açúcar ao déficit hídrico imposto na fase inicial de desenvolvimento**. 2009. 64 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical)-Instituto Agronômico de Campinas, Campinas. 2009.

MAGALHÃES, A. C. N. Ecofisiologia da cana-de-açúcar: aspectos do metabolismo do carbono da planta. In: Castro, P. R. C.; Ferreira, S. O.; Yamada, T. (Coord.) **Ecofisiologia da Produção**. Piracicaba: Associação Brasileira para pesquisa do Potássio e do Fósforo. p. 113-118, 1987.

MARQUES JÚNIOR, R. B.; CANELLAS, L. P.; SILVA, L. G. da; OLIVARES, F. L. Promoção de enraizamento de microtoletes de cana-de-açúcar pelo uso conjunto de substâncias húmicas e bactérias diazotróficas endofíticas. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Viçosa, v.32 n.3. 2008.

MARQUES, M. O.; MARQUES, T. A.; TASSO JÚNIOR, L. C. **Tecnologia do açúcar. Produção e industrialização da cana-de-açúcar**. Jaboticabal-SP: Funep, 2001.

MATSUOKA, S.; GARCIA, A. A. F.; ARIZONO, H. Melhoramento da cana-de-açúcar. In: BORÉM, A. (Org.). **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa, MG: Ed. UFV, p.204-251, 1999a.

MINOLTA CAMERA Co., Ltda. **Manual for chlorophyll meter SPAD 502**. Osaka, Minolta, Radiometric Instruments divisions. 1989. 22p.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. Fixação biológica de nitrogênio atmosférico. In: _____ **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA. p. 399-471, 2002

MOZAMBANI, A.E.; PINTO, A.S.; SEGATO, S.V.; MATTIUS, C. F. M.. História e morfologia da cana-de-açúcar. In: SEGATO, S. V. et al. **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: Cadernos Planalsucar. p.11-18, 2006.

NABLE, R. O.; ROBERTSON, M. J.; BERTHELSEN, S. Response of shoot growth and transpiration to soil drying in sugarcane. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 207, p. 59-65, 1999.

NEVES, M.C.P.; RUMJANEK, N.G. Ecologia das bactérias diazotróficas nos solos tropicais. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. **Ecologia microbiana**. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, p.15-60.1998.

O'NEIL, P. M.; SHANAHAN, J. F.; SCHEPERS, J. S. Use of chlorophyll fluorescence assessments to differentiate corn hybrid response to variable water conditions. **Crop Science**, Shelton, v. 46, p. 681-687, 2006.

OLIVEIRA, A. L. M.; URQUIAGA, S.; DOBEREINER, J.; BALDANI, J.I. The effect of inoculating endophytic N₂ -fixing bacteria on micropropagated sugarcane plants. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.242, p. 205-215, 2002.

OLIVEIRA, A.L.M. de; CANUTO, E.D. de; REIS, V.M.; BALDANI, J.I. Response of micropropagated sugarcane varieties to inoculation with endophytic diazotrophic bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.34, p.59-61, 2003.

OLIVEIRA, R. A. **Análise do crescimento da cana-de-açúcar na região noroeste do Paraná**. 2004. 65 p. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2004.

OMETTO, J. C. **Parâmetros meteorológicos e a cultura da cana-de-açúcar**. Piracicaba: ESALQ, p.19, 1980.

ORTOLANI, M.C. de A. Perspectivas para o setor sucroalcooleiro. In: SEGATO, S. V.; PINTO, A. de S.; JENDIROBA, E. ; NOBREGA, J.C.M. de. (Ed.) **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: CP2, p.406-415, 2006.

PARANHOS, S. B. **Cana-de-açúcar: cultivo e utilização**. Fundação Cargil, Campinas – SP, v. 1, 1987, 431p.

PAZ, I. C. P. **Bactérias endofíticas de eucalipto e potencial uso no controle de doenças e promoção de crescimento de mudas em viveiros florestais**. 2009. 62 p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2009.

PILLAY, V.K.; NOWAK, J. Inoculum density, temperature, and genotype effects on in vitro growth promotion and epiphytic and endophytic colonization of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) seedlings inoculated with a pseudomonad bacterium. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.43, p.354- 361, 1997.

PINHEIRO, H.A.; SILVA, J.V.; ENDRES, L.; FERREIRA, V.M.; CÂMARA, C.A.; CABRAL, F.F.; OLIVEIRA, J.F.; CARVALHO, L.W.T.; SANTOS, J.M.; SANTOS FILHO, B.G. Leaf gas exchange, chloroplastic pigments and dry matter accumulation in castor bean (*Ricinus communis* L.) seedlings subjected to salt stress conditions. **Industrial Crops and Products**, v. 27, 385-392, 2007.

PRADO, J. R. DE A. Proálcool procura seu caminho para sobreviver. **A Granja**, Porto Alegre, v. 53, p. 12-17, 1997.

RADFORD, P. J. Growth analysis formulase – their use and abuse, **Crop Science**, v.7, n.3, p. 171-175, 1967.

RAMESH, P. Effect of different levels of drought during the formative phase on growth parameters and its relationship with dry matter accumulation in sugarcane. **Journal Agronomy & Crop Science**, Berlim v. 85, p. 83-89, 2000.

REES, D.C.; TECZAN, F. A. Structural basis of biological nitrogen fixation. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. **A Mathematical Physical and Engineering Sciences**, London, v. 363, p. 971-984, 2005.

REICHARDT, K. **Dinâmica da matéria e da energia em ecossistemas**. Piracicaba: USP/ESALQ, 1996. 513p.

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 tall grass (*Leptochloa fusca* (L.) Kunth), and description of two species,

Azoarcusindigen ssp. nov. and Azoarcuscommuni ssp. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Baltimore, v.43, n.3, p.574- 584, 1993.

REIS, V. M.; BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D.; DÖBEREINER, J. Biological dinitrogen fixation in gramineae and palm trees. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v. 19, p. 227-247, 2000.

ROBERTSON, M.J.; INMAN-BAMBER, N.G.; MUCHOW, R.C.; WOOD, A.W. Physiology and productivity of sugarcane with early and mid-season water déficit. *Field Crops Research*, Queensland, v. 64, p. 211-227, 1999.

RODRIGUES, J. D. **Fisiologia da cana-de-açúcar**. Botucatu: UNESP, p. 100,1995.

RODRIGUES, J. D. **Análise de crescimento de plantas de soja (*Glycinemax*. L. Merri) Submetidas à carências nutricionais**. 165p. 1982. (Dissertação de Mestrado)- Faculdade de Ciencias Agronomicas, Rio Claro,1982.

ROSWALL, T. Nitrogen loses from terrestrial ecosystems: global, regional and local considerations. In: International Meet. **Global Impacts of Applied Microbiology**.v.5, p 17 – 26, 1979.

SANTOS, M. A. L. **Irrigação suplementar em cana-de-açúcar (*Saccharum*spp): Um modelo de análise de decisão para o Estado de Alagoas**. 2005. 101 p. Tese(Doutorado em Irrigação e Drenagem) – Escola Superior de Agricultura “Luiz deQueiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

SANTOS, M.C.M. **Ocorrência de bactérias diazotróficas em gramíneas forrageiras na microrregião de patos – PB**. 2009.53f. (Dissertação de Mestrado). Universidade federal de campina grande, programa de pós-graduação em zootecnia, Patos,Paraiba, 2009.

SARIG, S.; BLUM, A.; OKON, Y. Improvement of the water status and yield of fieldgrown grain sorghum (*Sorghum bicolor*) by inoculation of *Azospirillumbrasilense*.**The Journal of Agricultural Science**, Rehovot,v. 110, p.271-277, 1988.

SCARDUA, R.; ROSENFELD, U. Irrigação da cana-de-açúcar. In: _____. Cana-de-açúcar: cultivo e utilização. Campinas: Fundação Cargill, p. 373-431, 1987.

SEGATO, S. V. **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba, 2006.

SHI, Y.; LOU, K.; LI, C. Promotion of plant growth by phytohormones-producing endophytic microbes of sugar beet. **Biology and Fertility of Soil**, Firenze, v.45, n.6, p.645-653, 2009.

SILVA, M. A.; JIFON, J. L.; SILVA, J. A. G.; SHARMA, V. Use of physiological parameters as fast tools to screen for drought tolerance in sugarcane. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v.19, p.193-201, 2007.

SOMERS, E.; VANDERLEYDEN, J. Rhizosphere bacterial signalling: a love parade beneath oufeet. **Critical Reviews in Microbiology**, v.30, p. 205-240, 2004.

STUPIELLO, J. P. A cana-de-açúcar como matéria-prima. In: PARANHOS, S.B. Cana-de-açúcar: **Cultivo e utilização**. v.2. Campinas: Fundação Cargill, 1987.

STURZ, A.V.; MATHESON, B.G. Populations of endophytic bacteria which influence host-resistance to *Erwinia*-induced bacterial soft rot in potato tubers. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.184, p.265-271, 1996.

SUGAWARA, L, M. et al. Avaliação de três métodos de estimativa de índice de área foliar aplicados à cana-de-açúcar. Simpósio Brasileira de Sensoriamento Remoto. p 499- 506, 2009.

TAIZ, L; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal** 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2009, 848 p.

TERAMOTO, E. R. **Avaliação e aplicação de modelos de estimativa de produção de cana-de-açúcar (*Saccharum*spp), baseados em parâmetros do solo e clima**. 2003, 86p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba. 2003.

THAKURIA, D. **Probabilidade de suprimento da demanda hídrica ideal da cultura de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) através da precipitação pluvial na zona canavieira do estado de Alagoas**. 1988. 72 p. Tese (Doutorado em agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1988.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS. **Características da variedade RB 867515**. Araras: CCA/UFSCar, 2006.

VERMA, S. C.; LADHA, J. K.; TRIPATHI, A. K. Evaluation of plant growth promoting and colonization ability of endophytic diazotrophs from deep water rice. **Journal of Biotechnology**, Varanasi, v. 91, p.127-141, 2001.

WASKOM, R.M., WESTFALL, D.G., SPELLMAN, D.E. Monitoring nitrogen status of corn with a portable chlorophyll meter. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.27, n.3, p.545-560, 1996.

YABUUCHI, E.; YANO, H.; OYAIZU, Y.; HASHIMOTO, T.; ZAKI, E.; YAMAMOTO, H. Proposal of *Burkholderia* gen. nov. and transfer of seven species of the genus *Pseudomonas* homology group II to the new genus, with the type species *Burkholderia cepacia* (Palleroni and Holmes, 1981) comb. nov. **Microbiology and Immunology**, Tokyo, v.36, p.1251-1275, 1992.

* Referências elaboradas segundo as orientações da ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas, NBR 6023, ago. 2002.

ANEXO

ANEXO 01- Temperatura (A), umidade relativa (B), radiação solar (C) e DPV (D) da casa-de-vegetação do CECA no dia das medidas de potencial hídrico e rendimento quântico máximo (Fv/Fm) do PSII, aos 114 DAP.

