

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**DÉFICIT HÍDRICO EM MILHO:  
CARACTERIZAÇÃO FISIOLÓGICA E  
INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense***

**ANA CLÁUDIA PEDERSEN**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da UPF, para obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de Concentração em Produção Vegetal.

Passo Fundo, março de 2013

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**DÉFICIT HÍDRICO EM MILHO:  
CARACTERIZAÇÃO FISIOLÓGICA E  
INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense***

**ANA CLÁUDIA PEDERSEN**

**Orientador: Prof. Dr. Geraldo Luiz Chavarria Lamas Junior**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da UPF, para obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de Concentração em Produção Vegetal.

Passo Fundo, março de 2013



ppgAgro

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação.

"Déficit hídrico em milho: caracterização fisiológica  
e inoculação com *Azospirillum brasilense*"

Elaborada por

Ana Cláudia Pedersen

Como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em  
Agronomia – Área de Produção Vegetal

Aprovada em: 15/03/2013  
Pela Comissão Examinadora

Dr. Geraldo Luiz Chavarria Lamas Junior  
Presidente da Comissão Examinadora  
Orientador

Dra. Simone Meredith Scheffer Basso  
Coord. Prog. Pós-Graduação em Agronomia

Dr. Mauro Antônio Rizzardi  
FAMV/UPF

Dr. Hélio Carlos Rocha  
Diretor FAMV

Dra. Cleusa Adriane Menegassi Bianchi Kruger  
Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio  
Grande do Sul.

CIP – Catalogação na Publicação

---

P371d Pedersen, Ana Cláudia

Déficit hídrico em milho: caracterização fisiológica e inoculação com *Azospirillum brasiliense* / Ana Cláudia Pedersen. – 2013.

98 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de Passo Fundo, 2013.

Orientação: Prof. Dr. Geraldo Luiz Chavarria Lamas Junior.

1. Milho - Plantio. 2. Milho – Sementes. 3. Milho - Cultivo. 4. Fisiologia vegetal. 5. *Azospirillum brasiliense*. I. Lamas Junior, Geraldo Luiz Chavarria, orientador. II. Título.

CDU: 633.15

---

Catálogo: Bibliotecária Daniele Rosa Monteiro - CRB 10/2091

## BIOGRAFIA DO AUTOR

**ANA CLÁUDIA PEDERSEN** nasceu em Ibirubá, no ano de 1985. Em 2007 concluiu o curso de Ciências Biológicas – Bacharelado pela Universidade de Passo Fundo – UPF. Em 2011 ingressou no Programa de Pós-graduação em Agronomia da Universidade de Passo Fundo – RS, realizando estudos sobre o comportamento fisiológico em condições de déficit hídrico e inoculação com *Azospirillum brasilense* em milho para a obtenção do título de Mestre em Agronomia.

*"A ciência se torna fascinante quando você não fica só na teoria"*  
*Marcelo Gleiser*

*Dedico aos meus pais  
Mário e Olga*

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, que além de me darem a vida, me ensinaram a importância dos estudos, do trabalho e da família.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Dr. Ivanildo Marriel, pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, e ao Dr. Lucas Navarini pela disponibilização do material utilizado nesse trabalho.

Ao meu orientador.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia e seu corpo docente pelos ensinamentos, experiências e exemplos de profissionalismo.

À equipe do Laboratório de Fisiologia Vegetal (FAMV/UPF) pelo auxílio na condução e avaliação dos experimentos e pela amizade.

Aos colegas do Programa de Pós-Graduação pelas discussões, pelas dicas, a troca de experiência e o convívio que foram muito válidos.

A todos os amigos que sempre me apoiaram, para realização deste trabalho e na vida, aos velhos e novos, os terei sempre comigo.

Ao meu melhor amigo, Giovani Cervo, por sempre me apoiar na realização do meu trabalho, assim como, por estar sempre ao meu lado independente das situações.

Enfim, a todos aqueles que de uma forma ou outra contribuíram para realização deste trabalho.

**SUMÁRIO**

	<b>Página</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	ix
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	x
<b>LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS</b> .....	xiii
<b>RESUMO</b> .....	1
<b>ABSTRACT</b> .....	2
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	4
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	8
2.1 Déficit hídrico em milho .....	8
2.2 Alterações morfológicas e fisiológicas em resposta ao déficit hídrico .....	11
2.3 Bactérias promotoras de crescimento em plantas .....	16
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	22
3.1 Local.....	22
3.2 Tratamentos e delineamento experimental.....	22
3.3 Semeadura .....	23
3.4 Caracterização do ambiente.....	24
3.5 Determinação da capacidade de vaso.....	25
3.6 Avaliações do metabolismo primário.....	25
3.7 Avaliações do crescimento vegetativo .....	26
3.8 Análise estatística.....	27
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	28
<b>5 CONCLUSÕES</b> .....	66
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	67
<b>APÊNDICES</b> .....	87

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela</b>		<b>Página</b>
1	Capacidades de vaso média determinadas a partir da massa de água perdida ao longo dos dois experimento. Passo Fundo, 2012.....	28
2	Relação entre clorofila <i>a</i> e clorofila <i>b</i> ( <i>Clora:Clorb</i> ) das plantas do híbrido de milho Status (Experimento 1 e 2) em relação à capacidade de vaso. Passo Fundo, 2012.....	46
3	Diâmetro médio do colmo e comprimento médio da raiz mais longa (Experimento 1 e 2) de plantas do híbrido de milho Status, em relação à capacidade de vaso. Passo Fundo, 2012.....	55
4	Relação entre raiz e parte aérea (R:PA) (Experimento 1 e 2) de plantas de milho do híbrido Status em relação à capacidade de vaso. Passo Fundo, 2012.....	61
5	Área foliar unitária (AFU) e área foliar total (AFT) (Experimento 1 e 2) de plantas do híbrido de milho Status, média com e sem inoculação com <i>A. brasilense</i> , em relação à capacidade de vaso. Passo Fundo, 2012.....	64

## LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Condutância estomática média (Experimento 1) das folhas de plantas do híbrido de milho Status, com e sem inoculação com <i>A. brasilense</i> (CMS 7 e CMS 712), em função da hora do dia, submetidos a diferentes capacidades de vaso: (A) 100% cv; (B) 95% cv; (C) 90% cv; (D) 85% cv. Passo Fundo, 2012.....	32
2	Condutância estomática média (Experimento 2) das folhas de plantas do híbrido de milho Status, com e sem inoculação com <i>A. brasilense</i> (CMS 7 e CMS 712), em função da hora do dia (A) e da capacidade de vaso (B). Passo Fundo, 2012.....	33
3	Temperatura média da folha (Experimento 1) de plantas do híbrido de milho Status, com e sem inoculação com <i>A. brasilense</i> (CMS 7 e CMS 712), em função da hora do dia, submetidas a diferentes capacidades de vaso. Passo Fundo, 2012.....	38
4	Temperatura média da folha (Experimento 2) de plantas do híbrido de milho Status, com e sem inoculação com <i>A. brasilense</i> (CMS 7 e CMS 712), em função da hora do dia submetidas a diferentes capacidades de vaso. Passo Fundo, 2012.....	39
5	Relação entre temperatura da folha ( $T_f$ ) e temperatura do ambiente ( $T_a$ ) em relação à capacidade de vaso (Experimento 1 e 2). Passo Fundo, 2012.....	41

6	Índice médio de clorofila <i>a</i> , <i>b</i> e total (Experimento 1) de plantas do híbrido de milho Status, na média da hora do dia e com/sem inoculação com <i>A. brasilense</i> (CMS 7 e CMS 712), em função da capacidade de vaso. ICF: índice de clorofila Falker. Passo Fundo, 2012.....	44
7	Índice médio de clorofila <i>a</i> , <i>b</i> e total (Experimento 2) de plantas do híbrido de milho Status, na média da hora do dia e com/sem inoculação com <i>A. brasilense</i> (CMS 7 e CMS 712), em função da capacidade de vaso. ICF: índice de clorofila Falker. Passo Fundo, 2012.....	45
8	Fluorescência da clorofila média (Experimento 1) de plantas do híbrido de milho Status, com e sem inoculação com <i>A. brasilense</i> (CMS 7 e CMS 712), em função da capacidade de vaso (A) e hora do dia (B). Passo Fundo, 2012.....	48
9	Fluorescência da clorofila média (Experimento 2) de plantas do híbrido de milho Status, na média das capacidades de vaso e com/sem inoculação com <i>A. brasilense</i> (CMS 7 e CMS 712), em função da hora do dia. Passo Fundo, 2012.....	49
10	Rendimento quântico médio (Experimento 1) de plantas do híbrido de milho Status, com e sem inoculação com <i>A. brasilense</i> (CMS 7 e CMS 712), e radiação fotossinteticamente ativa (RFA) em função da hora do dia (A) e da capacidade de vaso (B). Passo Fundo, 2012.....	51
11	Rendimento quântico médio (Experimento 2) de plantas do híbrido de milho Status, na média das capacidades de vaso e com/sem inoculação com <i>A. brasilense</i> (CMS 7 e CMS 712), e radiação fotossinteticamente ativa (RFA) em função da hora do dia. Passo Fundo, 2012.....	52

12	Estatura média de plantas do híbrido de milho Status, na média da hora do dia e com/sem inoculação com <i>A. brasilense</i> (CMS 7 e CMS 712), em função da capacidade de vaso. (A) Experimento 1; (B) Experimento 2. Passo Fundo, 2012.....	56
13	Massa seca média (Experimento 1) das plantas do híbrido de milho Status, na média da hora do dia e com/sem inoculação com <i>A. brasilense</i> (CMS 7 e CMS 712), em função da capacidade de vaso: (A) raízes; (B) colmo; (C) folhas; (D) total. Passo Fundo, 2012.....	58
14	Massa seca média (Experimento 2) das plantas do híbrido de milho Status, na média da hora do dia e com/sem inoculação com <i>A. brasilense</i> (CMS 7 e CMS 712), em função da capacidade de vaso: (A) raízes; (B) colmo; (C) folhas; (D) total. Passo Fundo, 2012.....	59

**LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS**

ABA - ácido abscísico  
AFT - área foliar total  
AFU - área foliar unitária  
ATP - adenosina trifosfato  
Ca - cálcio  
Clora - clorofila *a*  
Clorb - clorofila *b*  
CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento  
CTC - capacidade de troca de cátions  
Cu - cobre  
cv - capacidade de vaso  
Embrapa - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Exp - experimento  
gs - condutância estomática  
ICF - índice de clorofila Falker  
K - potássio  
M.O. - matéria orgânica  
Mg - magnésio  
MS - matéria seca  
MSC - massa seca do colmo  
MSF - massa seca das folhas  
MSR - massa seca das raízes  
MST - massa seca total  
NADPH<sub>2</sub> - fosfato de nicotinamida adenina dinucleótido  
P - fósforo  
PA - parte aérea  
R - raiz  
RFA - radiação fotossinteticamente ativa  
T<sub>a</sub> - temperatura do ar (ambiente)  
T<sub>f</sub> - temperatura foliar  
T<sub>fmáx</sub> - temperatura foliar máxima  
UPF - Universidade de Passo Fundo  
Zn - zinco

## **DÉFICIT HÍDRICO EM MILHO: CARACTERIZAÇÃO FISIOLÓGICA E INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense***

**ANA CLÁUDIA PEDERSEN<sup>1</sup>**

**Resumo** - Os eventos que ocorrem no crescimento e desenvolvimento das plantas são vitais para se obter bons rendimentos de grãos, entretanto, requerem adequado suprimento de água. Em função desses aspectos, a disponibilidade hídrica é o fator que mais limita a obtenção de elevado rendimento. A cultura do milho encontra-se amplamente difundida no Brasil, e apresenta elevado consumo de água. Existem inúmeras bactérias, chamadas diazotróficas, além da fixação de nitrogênio, promovem o crescimento das raízes, permitindo que a planta explore maior volume de solo. Este trabalho foi conduzido com o objetivo de caracterizar aspectos fisiológicos das plantas de milho em condições de déficit hídrico e avaliar a inoculação com *Azospirillum brasilense* no milho em condições de restrição hídrica. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, utilizando sementes de milho, com e sem inoculação da bactéria, submetidos a quatro diferentes capacidades de vaso, entre 10 e 16 horas, em intervalos de duas horas, com cinco repetições perfazendo 160 vasos em blocos ao acaso. As avaliações fisiológicas, realizadas na quinta folha totalmente expandida, compreenderam condutância estomática, temperatura foliar, teores de clorofila e

---

<sup>1</sup>Bióloga, mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia FAMV/UPF, Área de Concentração em Produção vegetal.

fluorescência da clorofila. Para avaliar o crescimento vegetativo não se utilizou o tratamento horário, mensurando estatura, diâmetro do colmo, área foliar unitária e total, massa seca das raízes, colmo e folhas. A inoculação com *Azospirillum brasilense* (CMS 7 e CMS 712) não afeta o comportamento fisiológico e o crescimento vegetativo do híbrido de milho Status. O déficit hídrico altera o comportamento fisiológico das plantas de milho do híbrido Status.

**Palavras chave:** condutância estomática, fluorescência da clorofila, estresse hídrico, *Zea mays*.

**WATER DEFICIT IN CORN: PHYSIOLOGICAL  
CHARACTERIZATION AND INOCULATION WITH  
*Azospirillum brasilense***

**Abstract** - The events that occur in the growth and development of plants are vital to obtain great yield, however require an adequate supply of water. Because of these aspects, water is the most limiting factor to obtain high yield. The corn crop is widespread in Brazil, and has high water consumption. There are plenty bacteria, called diazotrophic, that besides the nitrogen fixation also promote root growth, allowing the plant to explore a larger volume of soil. This work was conducted in order to characterize the physiological aspects of the corn plants in water deficit conditions and evaluate the inoculation with *Azospirillum brasilense* in corn under conditions of water restriction. The experiment was conducted in a greenhouse

using seeds with and without inoculation with the bacteria, totaling 160 pots in randomized blocks. The pots were subjected to four different pot capacities and assessed between 10 and 16 hours, with intervals of two hours, with five replicates. The assessments, done in the fifth leaf, were stomatal conductance, leaf temperature, chlorophyll content and chlorophyll fluorescence. The vegetative growth evaluation did not use the treatment hours, measuring height, stem diameter, total and unit leaf area, dry mass of roots, stems and leaves. Inoculation with *Azospirillum brasilense* (CMS CMS 7 and 712) does not affect the vegetative growth and physiological behavior of the hybrid corn Status. Water deficit alters the physiological behavior of corn hybrid Status.

**Key words:** chlorophyll fluorescence, stomatal conductance, water stress, *Zea mays*.

## 1 INTRODUÇÃO

A planta absorve água do solo para atender às suas necessidades fisiológicas e também suprir a sua necessidade de nutrientes, que são transportados junto com a água (TAIZ & ZEIGER, 2004).

As plantas são frequentemente expostas a condições de estresse. O estresse hídrico pode surgir de duas formas, seja devido ao excesso ou à falta de água. O mais recorrente é a falta de água, seca, que tem profundo impacto sobre os sistemas ecológicos e agrícolas.

A ocorrência do déficit hídrico em plantas cultivadas afeta o crescimento e o desenvolvimento das culturas em todo o mundo, reduzem, significativamente, os rendimentos nas lavouras, dependendo da intensidade e da duração do estresse (SHAO et al., 2008; MAKBUL et al., 2011). No caso do milho, a disponibilidade hídrica nos períodos críticos, como florescimento, polinização e enchimento de grãos, é o fator limitador mais importante da produtividade no estado do Rio Grande do Sul.

A ampla gama de usos nas propriedades rurais ligada à tradição do cultivo do milho pelos agricultores faz desse cereal uma cultura amplamente difundida no Brasil. Entretanto, estresses abióticos, como a seca, reduzem significativamente seu rendimento.

O agricultor nada pode fazer a respeito da precipitação pluvial, mas pode adotar técnicas de manejo para minimizar o problema. Uma alternativa é explorar a água armazenada no solo, ação facilitada pelo incremento do sistema radicial (BASHAN & HOLGUIN, 1997).

Por promoverem o crescimento e incrementarem a produtividade das plantas existe o interesse crescente pelo uso de inoculantes contendo bactérias, em substituição aos fertilizantes químicos, devido à redução de custos e a conscientização em prol de uma agricultura menos poluente e sustentável.

Bactérias promotoras de crescimento associam-se com as raízes das plantas gerando diversos benefícios ao crescimento da planta hospedeira. Um fator de ampla importância é a biossíntese e o fornecimento de hormônios vegetais (TIEN et al., 1979), essenciais para a coordenação de diversos aspectos fisiológicos. Dentre estes hormônios, se destacam as auxinas, principais, mais abundantes e mais responsivas estimuladoras do crescimento em plantas (TAIZ & ZEIGER, 2004).

Bactérias do gênero *Azospirillum* correspondem a microrganismos de vida livre capazes de colonizar as raízes das plantas trazendo benefícios como o estímulo do crescimento das raízes. O maior desenvolvimento radicial através da inoculação com *Azospirillum* implica em diferentes efeitos: aumento da superfície de absorção das raízes, e conseqüentemente, aumento do volume de solo explorado; incrementos na absorção da água e minerais; e maior tolerância a estresses (DOBBELAERE et al., 2003). Fatores que resultam em uma planta mais vigorosa e produtiva.

Considerando o uso em expansão desses microrganismos na agricultura e a importância econômica do milho, surge a necessidade de melhores entendimentos sobre os efeitos da inoculação com *Azospirillum* no crescimento e na fisiologia do milho em condições de déficit hídrico.

As restrições causadas pela baixa disponibilidade de água do solo ou pela alta demanda evaporativa (radiação e velocidade do vento) acionam certos mecanismos fisiológicos. Esses mecanismos permitem que as plantas escapem ou toelrem estresses, modificando seu crescimento e desenvolvimento. Dentre os mecanismos que podem contribuir para a tolerância à seca aponta-se, entre outros, o sistema radicular extenso ou maior relação raiz/parte aérea, comportamento estomática e ajuste osmótico.

As respostas das plantas às condições de deficiência hídrica variam de acordo com a espécie, cultivar, tempo de exposição, entre outros fatores, mas não existe uma única variável fisiológica que indique a tolerância à seca (NASCIMENTO et al., 2011). O aconselhável é avaliar mais de uma variável para análise das respostas das plantas ao déficit hídrico (NOGUEIRA et al., 2001).

Estudos sobre o melhoramento do milho para a seca têm gerado genótipos tolerantes a esse estresse (MONNEVEUX et al., 2006). Da mesma forma, pouco é conhecido sobre os mecanismos fisiológicos para a tolerância à seca (BANZIGER et al., 2002). Nesse sentido, faz-se necessário a caracterização dos genótipos com relação aos mecanismos responsáveis pelo comportamento sob condição de estresse, o que contribui para o desenvolvimento de técnicas para a seleção de novos materiais com tolerância a seca (MAGALHÃES et al., 2009).

A avaliação da fotossíntese é uma prática importante para seleção de genótipos que apresentem altas produtividades mesmo com adversidades climáticas (KIM et al., 2006). Assim como parâmetros de trocas gasosas e fluorescência da clorofila podem auxiliar na

compreensão do comportamento fisiológico das plantas em condições de deficiência hídrica.

Assim, este trabalho foi conduzido com o objetivo de caracterizar aspectos fisiológicos das plantas de milho em condições de déficit hídrico e avaliar a inoculação com *Azospirillum brasilense* (CMS 7 e CMS 712) no metabolismo primário do milho em condições de restrição hídrica.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Déficit hídrico no milho

Durante seu ciclo de desenvolvimento o milho consome grande quantidade de água devido à sua alta produção de biomassa e por ser cultivado nos meses de primavera-verão (RODRIGUES et al., 2009; SANGOI et al., 2010a). Uma cariopse produz uma planta de 2 a 3 m de estatura a qual gera entre 500 e 1000 grãos. Essa elevada capacidade está ligada à dimensão do aparato fotossintético e a alta eficiência da espécie em converter energia luminosa em energia química, decorrente do seu mecanismo  $C_4$  (MAGALHÃES et al., 2002; SANGOI et al., 2010a).

O milho exhibe rendimentos de alta variabilidade, em consequência, principalmente, à ocorrência de déficits hídricos, pois essa cultura é conhecida pela sua sensibilidade a esse tipo de estresse (WELCKER et al., 2007). É cultivado em regiões cuja precipitação pluvial varia de 300 a 5.000 mm anuais, porém uma lavoura de milho consome em torno de 600 mm de água durante seu ciclo (MAGALHÃES & DURÃES, 2006). No entanto, na região Sul do Brasil, há frequentes períodos sem precipitação durante a estação de crescimento do milho. Com isto, a umidade do solo decresce e o suprimento de água à cultura fica comprometido (RODRIGUES et al., 2009).

A CONAB (2012) relata que as lavouras de milho tiveram bom desenvolvimento na grande maioria dos estados produtores no ano de 2011. A exceção foi de pequenas áreas situadas na metade sul

do Rio Grande do Sul, onde a falta de chuvas foi severa. Embora a área atingida fosse pouco representativa em relação ao total semeado no estado, os produtores atingidos tiveram prejuízos de grande monta.

Apesar de seu destaque na economia do Brasil, a produtividade média do milho no país na safra 2011/12 foi de 3002 kg ha<sup>-1</sup>, com produtividade prevista para a safra 2012/13 de 4550 kg ha<sup>-1</sup>, valores baixos comparados aos 5255 kg ha<sup>-1</sup> na safra 2010/11, (CONAB, 2012). Essas quedas na produtividade são reflexos das adversidades climáticas.

As plantas são frequentemente expostas a condições de estresse, tais como baixa e alta temperatura, salinidade, seca, encharcamento e toxicidade de metais pesados. O estresse hídrico pode surgir de duas condições, quer devido ao excesso ou a falta de água. O mais comumente encontrado é a falta água que tem um profundo impacto sobre o sistema agrícola, principalmente em regiões do Sul do Brasil. As reações da planta ao estresse hídrico dependem da intensidade e da duração do estresse (SHAO et al., 2008; MAKBUL et al., 2011).

A ocorrência de déficit hídrico em plantas cultivadas afeta o crescimento e o desenvolvimento das culturas em todo o mundo. Estresses abióticos, como a seca, reduzem, significativamente, rendimentos em lavouras. Dois dias de estresse hídrico no florescimento do milho diminuem o rendimento em mais de 20% e quatro a oito dias diminuem em mais de 50% (MAGALHÃES & DURÃES, 2006).

No Brasil, as causas que contribuem para obtenção de baixos rendimentos, destacam-se o uso de cultivares com baixo potencial, controle deficiente de pragas, doenças, plantas daninhas e deficiências na disponibilidade hídrica e nutricional (SANGOI et al., 2010b). A redução de rendimento no milho pode ocorrer mesmo em anos climaticamente favoráveis, se a restrição hídrica ocorrer no período crítico da cultura, da pré-floração ao início o enchimento do grão (BERGAMASCHI et al., 2004).

Na emergência e nos primeiros 30 a 40 dias do ciclo a necessidade de água é menor devido a menor área foliar, embora a umidade no solo seja importante para os processos de germinação da semente e emergência das plântulas. No final do ciclo da cultura do milho a quantidade de água que a planta exige é menor, pois a planta inicia a senescência até completar a formação e a secagem dos grãos (MAGALHÃES et al., 2002).

Portanto, as adversidades climáticas, como o déficit hídrico, é um problema para a produção de diversas culturas em todo o mundo, pois a a disponibilidade de água, via precipitação pluvial, não será alterada. Novas alternativas são necessárias para uma agricultura sustentável, como a seleção de genótipos tolerantes à seca e a utilização de bactérias promotoras de crescimento, como forma de mitigar os problemas de disponibilidade hídrica.

## **2.2 Alterações morfológicas e fisiológicas em resposta ao déficit hídrico**

Estresses ambientais desencadeiam ampla variedade de respostas das plantas, que vão desde a expressão do gene alterado, metabolismo celular, mudanças na taxa de crescimento e produtividade da planta. O déficit hídrico pode ser definido como uma situação em que os potenciais de água e turgor na planta são reduzidos o suficiente para fazer interface com as funções normais (SHAO et al., 2008).

As restrições causadas pela baixa disponibilidade de água no solo ou pela alta demanda evaporativa ativam certos mecanismos que permitem a sobrevivência das plantas mesmo nessas condições. Esses mecanismos podem ser de escape, evitação, redução da perda de água através do fechamento dos estômatos nos horários de maior demanda evaporativa, maior desenvolvimento radicial para explorar o solo em profundidade, entre outros (TURNER, 1979).

Há um conflito entre a conservação da água pela planta e a taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> para produção de carboidratos (TAIZ & ZEIGER, 2004). A necessidade de resolver este conflito faz com que a planta desenvolva mecanismos morfológicos e fisiológicos que a conduza a economizar água para o uso em períodos posteriores (SAHA et al., 2008).

As plantas, ao absorverem gás carbônico, perdem água através dos estômatos (TAIZ & ZEIGER, 2004). O fechamento dos estômatos está entre as primeiras respostas fisiológicas à seca, protegendo as plantas contra as perdas de água. Plantas que

conseguem rapidamente evitar a perda de água através da redução da condutância estomática e manutenção das taxas fotossintéticas toleram as situações de deficiência hídrica devido ao eficiente comportamento fisiológico (NASCIMENTO et al., 2011).

O enrolamento das folhas é entendido como um mecanismo para evitar a desidratação, pois reduz a área foliar eficaz, conseqüentemente, à transpiração também é reduzida. Esse mecanismo, não só impede a perda de água, mas também protege as folhas do fotodano (CORLETT et al., 1994).

Dentre os mecanismos que contribuem para a tolerância à seca e que são considerados em programas de melhoramento genético apontam-se: sistema radicial extenso e/ou mais denso ou maior relação raiz/parte aérea; pequeno tamanho de células; cutícula foliar com maior espessura e cerosidade; mudanças no ângulo foliar; comportamento estomático; acúmulo de metabólito intermediário; ajuste osmótico; resistência à desidratação das células (SHAO et al., 2008; MAKBUL et al., 2011).

O volume de solo explorado e o contato íntimo entre a superfície das raízes e o solo são essenciais para a absorção efetiva da água pelas raízes. O déficit hídrico estimula a expansão do sistema radicial, maximizando o contato nas zonas mais profundas e úmidas do solo, conseqüentemente, aumento na área superficial e na capacidade de absorção da água (SHAO et al., 2008).

A redução da altura da planta e área foliar sob estresse hídrico está associada com a redução do alongamento celular, uma vez que a água é necessária para a manutenção da turgência, permitindo

assim a continuidade dos processos de crescimento vegetal, expansão e divisão celular (PETRY, 1992).

Em milho a redução de 75 e 50% de água disponível no solo no estágio reprodutivo reduz 26 e 24% a área foliar das plantas, respectivamente (COSTA et al., 2008). Cessar a irrigação 10 dias antes e 15 dias após o florescimento de acordo com Ferreira et al. (2000), reduz a produção de palhada, espigas e grãos de milho.

As respostas fisiológicas das plantas à seca, e a irreversibilidade dessas respostas, variam de acordo com a severidade e a duração de imposição de estresse, o estágio fenológico e o material genético (SHAO et al., 2008). Quando as plantas são expostas a essa condição exibem respostas fisiológicas que, de modo indireto, resultam na conservação da água no solo, como se estivessem economizando para períodos posteriores (DURÃES, 2007).

O controle estomático, propriedade fisiológica por meio da qual as plantas limitam a perda de água, reduz as trocas gasosas como forma de resposta das plantas a diversos fatores, incluindo o déficit hídrico (PAIVA et al., 2005).

Decréscimo na condutância estomática em plantas de milho em condições de deficiência hídrica foi observado por Xu et al. (2009), indicando que em condições de estresse além da redução da abertura dos estômatos há também a redução na transpiração e na fotossíntese (GRZESIAK et al., 2007). Esse fechamento reduz o fluxo de CO<sub>2</sub> para as folhas, interfere o acúmulo de fotoassimilados, o que reduz a produtividade (NASCIMENTO et al., 2011).

Considerando que a faixa adequada de temperatura para o milho está entre 25 e 30°C, quando a temperatura do ambiente é

inferior a 25°C, a planta mantém sua temperatura superior à temperatura do ambiente; quando a temperatura do ambiente ultrapassa 30°C, a planta resfria através da transpiração (VIEIRA JÚNIOR et al., 2007). Contudo, sob condições de déficit hídrico a temperatura foliar é mais elevada que a temperatura do ar (NOGUEIRA et al., 1998), devido ao fechamento estomático. Essa relação pode ser empregada como indicador das condições hídricas das plantas como, por exemplo, para determinar o momento de irrigar (TAIZ & ZEIGER, 2004) ou na seleção de genótipos mais tolerantes a condições de déficit hídrico.

Juntamente com a fotossíntese, outros parâmetros de trocas gasosas, como a fluorescência da clorofila também auxiliam no entendimento fisiológico do processo em condições de seca. A eficiência do fotossistema II revela o nível de excitação da energia no sistema de pigmentos que dirige a fotossíntese (DURÃES et al., 2005).

O déficit hídrico é responsável pela perda de pigmentos nas folhas. Portanto, parâmetros como o teor de clorofila nas folhas pode ser utilizado para diagnosticar a integridade do aparato fotossintético de plantas submetidas à estresses (TORRES NETTO et al., 2005). De acordo com Lee (1988), estudos evidenciam que o teor de clorofila varia entre as espécies, entre genótipos e em diferentes estádios de desenvolvimento. Nessa situação, estudos que visam à seleção de variedades com tolerância aos estresses abióticos, o teor de clorofila é uma alternativa importante e viável para elevar a estabilidade de produção e a produtividade.

Alguns estudos indicam que espécies tolerantes à seca são capazes de manter altos conteúdos de clorofila, como por exemplo, em trigo (CHANDRASEKAR et al., 2000).

A redução na taxa de fotossíntese é a importante causa da limitação da produtividade da cultura (SHAO et al., 2008), devido a redução nos conteúdos de pigmentos fotossintéticos, a diminuição da área foliar, assim como o enrolamento das folhas e o fechamento dos estômatos, que limita a assimilação de CO<sub>2</sub> (BERGAMASCHI, 1992).

Plantas sob estresse apresentam redução no rendimento quântico do fotossistema e maior dissipação de calor quando comparadas com plantas controles (DIAS & BRUGGEMANN, 2010).

Há interesse crescente da comunidade científica por compreender os mecanismos fisiológicos de resposta das plantas aos diversos estresses abióticos (ASHRAF & FOOLAD, 2007), para sua utilização como indicadores da condição hídrica das plantas.

O uso de indicadores da condição hídrica da planta é importante para o monitoramento da água no solo para a realização da irrigação. A condutância estomática possui relação com a disponibilidade de água no solo (BIANCHI et al., 2007), também é considerado um indicador fisiológico que melhor se correlaciona com a fotossíntese (PEREIRA et al., 2003). Como consequência do fechamento estomático há o aumento da temperatura da superfície da folha, devido à redução na transpiração (LÓPEZ et al., 2011). Dessa forma, avaliações da condutância estomática e da temperatura da folha podem ser utilizadas no monitoramento para irrigação, assim como para seleção de genótipos tolerantes, destacando-se por serem técnicas não destrutivas de avaliação.

A caracterização do comportamento fisiológico das plantas em condições de deficiência hídrica se torna importante, principalmente no milho, pela diversidade de híbridos utilizados, uma vez que as respostas fisiológicas e morfológicas dependem também do genótipo.

Dessa forma, o conhecimento das relações entre deficiência hídrica, crescimento e desenvolvimento de plantas de milho, assume particular importância, uma vez que tais informações são importantes, por contribuírem para a compreensão do comportamento fisiológico dos vegetais frente ao déficit hídrico e suas respostas no rendimento das culturas.

### **2.3 Bactérias promotoras de crescimento em plantas**

Embora a natureza seja responsável pela maior parte da variação do efeito ambiental sobre o rendimento de grãos, o produtor pode optar por práticas adequadas. O agricultor nada pode fazer a respeito da precipitação pluvial, mas poderá adotar técnicas de manejo que minimizem o problema do déficit hídrico. Uma alternativa é explorar a água armazenada no solo através do incremento do sistema radicial.

As bactérias promotoras de crescimento de plantas correspondem a um grupo de microrganismos, que sob algumas condições, são benéficos às plantas encontradas livres no solo, na rizosfera, na superfície das raízes, filosfera e nos tecidos internos das plantas (DAVISON, 1988; KLOPPER et al., 1989; BASHAN & DE-BASHAN, 2005).

As bactérias associadas às plantas podem ser prejudiciais ou benéficas (HAYAT et al., 2010). Bactérias promotoras de crescimento em plantas promovem o crescimento das plantas de duas formas, direta ou indiretamente.

Afetam diretamente o metabolismo das plantas fornecendo substâncias que geralmente encontram-se em falta (BASHAN & DE-BASHAN, 2005), por exemplo, pela fixação de nitrogênio atmosférico, solubilização de minerais como fósforo e ferro, ou pela produção de reguladores de crescimento de plantas, como auxinas, giberelinas, citocininas e etileno (KLOEPPER, 1997).

Algumas bactérias auxiliam no crescimento de plantas de forma indireta, são conhecidas como biocontroles, impedem o efeito deletério de microrganismos patogênicos pela produção de substâncias que prejudicam ou inibem outros microrganismos (TILAK et al., 2005). Esses mecanismos contribuem no crescimento e desenvolvimento das plantas em condições padrões de cultivo. Porém, essas bactérias não aumentam a capacidade genética das plantas, pois nenhum material genético é transferido (BASHAN & DE-BASHAN, 2005).

Nesta associação não simbiótica, o papel da planta é o de proporcionar os constituintes dos exsudatos de suas raízes para estas bactérias, que utilizam estes como fonte de energia e em contrapartida fornece  $\text{NH}_3^+$  (SAHARAN & NEHRA, 2011) e fitormônios para a planta (SCHLOTTER & HARTMANN, 1998).

Os membros do gênero *Azospirillum* estão frequentemente associados com raízes e rizosfera de um grande número de culturas agronomicamente importantes. Devido à sua ocorrência frequente na

rizosfera são conhecidos como bactérias diazotróficas associativas. Além disso, *Azospirillum* coloniza a superfície radicial e induz mudanças morfológicas nas raízes da planta (BASHAN & HOLGUIN, 1997) que oferecem melhor acesso à água e aos nutrientes (OKON & KAPULNIK, 1986; BASHAN & HOLGUIN, 1997) que auxiliam na promoção do crescimento das plantas (DOBBELAERE et al., 2003).

Estes organismos entraram em foco com o trabalho de Dobereiner e colaboradores no Brasil (DOBEREINER et al., 1976). Além de sua capacidade de fixar nitrogênio (aproximadamente 1 - 10 kg N ha<sup>-1</sup>), o aumento do rendimento é atribuído principalmente ao desenvolvimento de raízes devido à produção de substâncias promotoras do crescimento e, conseqüentemente, das taxas de aumento da captação de minerais e água (FALLIK et al., 1994).

A colonização das raízes por *Azospirillum* ocorre principalmente na zona de alongação da raiz. Sendo a inoculação a principal responsável pelo aumento da densidade, comprimento de pelos radiciais, diâmetro, bem como as taxas de alongamento das raízes laterais (DOBBELAERE et al., 2003), aumentando assim a superfície de absorção das raízes (OKON & VANDERLEYDEN, 1997).

Maior desenvolvimento radicial através da inoculação com *Azospirillum* implica em diferentes efeitos. Bashan & Holguin (1997), Dobbelaere et al. (2003) relataram incrementos na absorção da água e minerais, maior tolerância a estresses como salinidade e seca.

Mudanças na morfologia e fisiologia das raízes devido a inoculação com *Azospirillum* foi observada em diferentes espécies

vegetais, incluindo o milho (VEDDER-WEISS et al., 1999). Casanovas et al. (2002) constata que plântulas de milho inoculadas com *Azospirillum* que cresceram por 15 dias com restrição hídrica apresentaram maior massas seca de raízes e maior área foliar.

O incremento do sistema radicial em plantas inoculadas pode proporcionar maior longevidade aos tecidos verdes, em consequência ocorre maior período de atividade fotossintética. Assim, maiores quantidades de fotoassimilados são direcionados para os grãos ou para a própria assimilação de N (DIDONET et al., 2000), resultando em uma planta mais vigorosa e produtiva.

Com o aumento da absorção de nutrientes e também de diversos micronutrientes causa o aumento da massa seca das folhas. Juntamente com a melhora na absorção de nutrientes, a inoculação melhora a condição hídrica em condições de estresse em plantas de sorgo, as quais sofreram menos com o estresse, reduzindo a temperatura da folha. Assim como, um volume maior do solo foi explorado, extraíndo água de camadas mais profundas do solo (BASHAN & de-BASHAN, 2010).

Em uma revisão de trabalhos sobre as respostas fisiológicas induzidas por *Azospirillum*, plantas inoculadas com *Azospirillum* apresentaram maior conteúdo de pigmentos fotoprotetivos auxiliares incluindo o teor de clorofila (BARASSI et al., 2006), maior taxa de fotossíntese e maior condutância estomática (SAIKIA et al., 2007). Também se observou maior teor de prolina, aminoácido que atua como osmorregulador, na parte aérea e nas raízes, melhoria no potencial hídrico, incremento no teor de água do apoplasto, maior elasticidade da parede celular, maior produção de

biomassa e maior altura de plantas (BARASSI et al., 2006). Resultados semelhantes, devido à inoculação com *Azospirillum*, foram observados por Hungria (2011).

De acordo com Bárbaro et al. (2008) o efeito da bactéria *Azospirillum* spp. no desenvolvimento do milho e em outras gramíneas, tem sido pesquisado, não somente quanto ao rendimento das culturas mas, também, com relação às causas fisiológicas que, possivelmente, aumentam esse rendimento. No trabalho de Muñoz-Garcia et al. (1991) a inoculação das sementes de milho com cepa específica de *Azospirillum brasiliense*, promoveu aumento na matéria seca de raízes, da ordem de 54 a 86% e de 23 a 64% na matéria seca da parte aérea.

De acordo com os antecedentes, é possível propor que essas bactérias contribuem na mitigação dos efeitos negativos do estresse hídrico (seca) em espécies vegetais de cultivo extensivo como o milho (BARASSI et al., 2000). Uma explicação comum aos efeitos da bactéria sobre o crescimento da planta é a redução dos efeitos dos estresses ambientais, proporcionando para a planta melhores condições para seu crescimento (BASHAN & de-BASHAN, 2010).

Relatam-se alguns efeitos mitigados sobre o crescimento associado à inoculação com *Azospirillum* em trigo e milho, como: maior expansão foliar, maior biomassa, melhor condutância estomática, conteúdo de clorofila e velocidade de fotossíntese e maior rendimento de grãos (CREUS et al., 2004).

Em uma análise abrangente do conhecimento sobre a fisiologia, metabolismo e biologia molecular da bactéria e seus possíveis modos de ação, é evidente que fitormônios, juntamente com

outros fitormônios, produzidos pela bactéria desempenham papel importante em vários aspectos do crescimento das plantas (BASHAN & de-BASHAN, 2010), os quais auxiliam a planta a enfrentar condições adversas ao seu crescimento.

Apesar dos intensos estudos relacionados com a fisiologia e biologia molecular dessas bactérias, o modo de ação delas não é muito claro (BASHAN et al., 2004). Há três fatos que estimulam as pesquisas sobre esses mecanismos: a maioria das estirpes de *Azospirillum* fixa nitrogênio, porém somente uma fração é transferida para a planta; muitas estirpes produzem hormônios *in vitro*, mas sua transferência é limitada; e as respostas da inoculação sobre o crescimento, em geral, são positivas, mas sem reflexos visíveis em termos de produtividade (DÍAZ-ZORNITA & FERNÁNDEZ-CANIGIA, 2009).

Segundo DIDONET (1993) é possível que os efeitos benéficos atribuídos à inoculação da planta com *Azospirillum* resultem da combinação de diferentes mecanismos que em conjunto desencadeiam vários fenômenos.

As múltiplas opções que proporcionam o crescimento das plantas pela inoculação com *Azospirillum* levaram a propor a “Teoria dos Múltiplos Mecanismos” com base na suposição de que a promoção do crescimento é resultado não de um único mecanismo, mas pela combinação de vários mecanismos (BASHAN & DE-BASHAN, 2010). Segundo os mesmos autores, essa promoção no crescimento, que opera de acordo com as condições ambientais e agrícolas em um determinado local, auxilia na mitigação de estresses.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Local

Dois experimentos foram conduzidos em casa de vegetação de vidro da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV) na Universidade de Passo Fundo (UPF), no município de Passo Fundo, no Planalto Médio do Rio Grande do Sul, situada na latitude 28° 15'S, longitude 52° 24'O e altitude de 687 m.

#### 3.2 Tratamentos e delineamento experimental

Os experimentos foram delineados em blocos ao acaso (Apêndice 2), em esquema fatorial (4x2x4), com cinco repetições, para avaliações da fisiologia da planta. Constituída dos tratamentos: capacidade de vaso (100, 95, 90 e 85%); hora do dia (10, 12, 14 e 16h); e inoculação com *Azospirillum brasilense* (com e sem).

Para as avaliações do crescimento vegetativo o delineamento experimental utilizado foi o mesmo, porém não foi considerado o tratamento horário de avaliação.

Os experimentos foram executados em dois momentos: o primeiro com avaliações no início do mês de fevereiro (Experimento 1) e o segundo, no início do mês de abril (Experimento 2). Em ambos os experimentos as avaliações foram realizadas quando as plantas estavam em estágio V6, seis folhas totalmente expandidas (RITCHIE & HANWAY, 1989).

### 3.3 Semeadura

Os vasos foram inicialmente preenchidos com terra peneirada e substrato (Plantmax Horta 2<sup>®</sup>) na proporção 1:1 (v:v). A análise química básica e a de micronutrientes mais enxofre, do solo utilizado em cada experimento, foram realizadas no Laboratório de Solos da FAMV/UPF (Apêndice 1).

O inoculante turfoso utilizado, teste pronto, foi preparado na Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas-MG, na concentração de 10<sup>8</sup> células por grama de substrato, de acordo com a concentração mínima que a legislação exige (Lei n. 6894 de 16 de dezembro de 1980, regulamentada pelo Decreto n. 86.955 de 18 de fevereiro de 1982). Utilizou-se uma mistura de duas estirpes bacterianas: CMS 7, isolada de trigo e CMS 712, isolada de milho.

Em 50 mL de água foram aplicados 5 g do inoculante turfoso em 500 g de sementes, e foram adicionados 2 g de açúcar para aumentar a adesão do inoculante nas sementes. A inoculação constituiu da aplicação dessa solução nas sementes, e após homogeneização, as sementes foram deixadas para secar em local fresco.

De um total de 160 vasos, com capacidade de 11 L, metade dos vasos receberam sementes inoculadas com *Azospirillum brasilense* e a outra metade recebeu sementes não inoculadas. Quatro sementes do híbrido de milho Status (Syngenta<sup>®</sup>) foram semeadas, com aproximadamente três centímetros de profundidade, em cada vaso.

Cinco dias após a emergência, realizou-se a adubação do solo com o fertilizante mineral Kristalon 06-12-36 (Yara<sup>®</sup>), solúvel em água, fornecedor de nutrientes para as plantas. Foram utilizados 250 g do fertilizante dissolvidos em 15 L de água, cabendo a cada vaso, 350 mL da solução. No dia seguinte, foi realizado o desbaste, baseado na semelhança de características morfológicas, sendo mantidas duas das quatro plântulas iniciais.

A adubação nitrogenada, na dose de 90 kg de nitrogênio por hectare, na forma de ureia, foi realizada quando as plantas apresentavam quatro folhas totalmente expandidas.

### **3.4 Caracterização do ambiente**

A temperatura média interna da casa de vegetação foi determinada utilizando os dados obtidos a partir da calibração do porômetro da marca Delta-T, modelo AP4 (Delta-T Devices<sup>®</sup>). A calibração do aparelho foi realizada nos quatro horários de avaliação durante o período experimental. A temperatura do solo também foi monitorada, utilizando termômetro de penetração modelo 90051-00 (T-Bar Head Thermometer<sup>®</sup>). Com fluorômetro marca Photon Systems Instruments, modelo FP 100, mensurou-se a radiação fotossinteticamente ativa (RFA).

Dados da temperatura média do ar nos dias de avaliação foram obtidos do site do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET).

### **3.5 Determinação das capacidades de vaso**

Os vasos foram saturados com água e deixados em repouso por 48 horas. Em seguida, todos os vasos foram pesados caracterizando o tratamento de 100% da capacidade de vaso, de acordo com River & Shipp (1971). Nos outros dias, apenas os vasos a serem avaliados foram novamente pesados e o nível de estresse hídrico foi determinado tomando-se por base o tratamento de 100% da capacidade de vaso. Caracterizando o tratamento em 100, 95, 90 e 85% de capacidade de vaso.

A partir da sementeira os vasos foram irrigados a cada dois dias, mantendo-os em 100% da capacidade de vaso. Todos os vasos foram mantidos nessas condições até o estágio V6, seis folhas totalmente expandidas (RITCHIE & HANWAY, 1989).

### **3.6 Avaliações do metabolismo primário**

Todas as avaliações fisiológicas ocorreram na quinta folha totalmente expandida, quando as plantas encontravam-se em estágio V6. As análises foram realizadas entre 10 e 16 horas, em intervalos de duas horas por quatro dias consecutivos, a partir da determinação da capacidade de vaso.

A condutância estomática e a temperatura foliar foram monitoradas utilizando porômetro da marca Delta-T, modelo AP4 (Delta-T Devices<sup>®</sup>) com quatro leituras por planta, na face abaxial na parte mediana da folha.

Os teores de clorofila *a*, *b* e total foram medidos com um clorofilômetro da Falker<sup>®</sup>, modelo ClorofiLog CFL 1030.

Utilizando fluorômetro marca Photon Systems Instruments, modelo FP 100, foram obtidos os dados de rendimento quântico ( $F_v'/F_m'$ ) e fluorescência instantânea da clorofila ( $F_t$ ) de plantas adaptadas à luz.

### 3.7 Avaliações do crescimento vegetativo

Para o crescimento vegetativo considerou-se somente os tratamentos: níveis de capacidade de vaso e inoculação com *Azospirillum brasilense*. Avaliações realizadas quando as plantas estavam em estágio V6.

O diâmetro do colmo foi medido a 15 cm do solo utilizando paquímetro digital da marca Digimess, modelo 101.179Q.

Obteve-se a altura da planta tomando a medida do solo até a curvatura da última folha totalmente expandida. Ao final de cada dia de avaliação, retirou-se a planta do vaso cortando-a rente ao solo.

A área foliar foi mensurada utilizando-se medidor de área foliar da marca LI-COR, modelo LI-3100C, obtendo-se dados de área foliar unitária e total por planta.

A limpeza das raízes foi realizada em bandejas preenchidas com água, onde o solo foi retirado cuidadosamente para evitar danos as raízes. Após a limpeza, analisou-se o comprimento da maior raiz de cada planta.

As folhas, o colmo e as raízes foram acondicionadas em sacos de papel, previamente identificados, e levados à estufa a 65°C por três dias para determinação da massa seca das mesmas.

### **3.8 Análise estatística**

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e análise de regressão linear simples e quadrática, em função dos níveis de deficiência hídrica e horário de avaliação. Análise de correlação de Pearson e valores máximos encontrados com base nas equações de regressão geradas. Utilizando o programa estatístico CoStat (COHORT SOFTWARE, 2003).

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A determinação das massas dos vasos (Tabela 1), em ambos os experimentos, reduziu em média 5% a cada dia. Essa redução caracterizou o tratamento capacidade de vaso em: 100% da capacidade de vaso (100% cv), 95% da capacidade de vaso (95% cv), 90% da capacidade de vaso (90% cv) e 85% da capacidade de vaso (85% cv).

Tabela 1 - Capacidades de vaso média determinadas a partir da massa de água perdida ao longo dos dois experimento. Passo Fundo, 2012

Dia de avaliação	Capacidade de vaso (%)
Primeiro	100
Segundo	95
Terceiro	90
Quarto	85

A inoculação com *A. brasilense*, estirpes CMS 7 e CMS 712, não influenciou nas respostas fisiológicas do híbrido de milho. Os parâmetros avaliados com relação ao crescimento vegetativo também não apresentaram significância em resposta à inoculação com a bactéria.

Há relatos indicando respostas das plantas à inoculação com *Azospirillum*. Porém, seus efeitos dependem da estirpe utilizada, da estrutura do solo, do genótipo da planta e das condições ambientais (SANTA et al., 2004).

Em geral, o gênero *Azospirillum* é capaz de estimular o crescimento em diversas culturas, especialmente em gramíneas (BASHAN & HOLGUIN, 1997). A inoculação com *A. brasilense* apresenta-se positiva em diversos trabalhos em condições de estresse hídrico, como por exemplo, em tomate (CREUS et al., 2005), em milho (CASANOVAS et al., 2002) e em feijão (GERMAN et al., 2000).

O efeito positivo do *Azospirillum* no crescimento das plantas ocorre devido a mudanças morfológicas e fisiológicas, principalmente, nas raízes das plantas inoculadas, que levam ao aumento da absorção de água e minerais (BALDANI et al., 1997).

O incremento do sistema radicial em plantas inoculadas pode proporcionar maior longevidade aos tecidos verdes, em consequência há maior período de atividade fotossintética, o que resulta em quantidades maiores de fotoassimilados para os grãos ou para a própria assimilação de N, em relação às plantas não inoculadas (DIDONET et al., 2000).

O aumento na absorção, principalmente de água, pode beneficiar o crescimento das plantas em condições de deficiência hídrica no solo. Em um experimento a campo, o estado hídrico de plantas de sorgo melhorou com a inoculação da bactéria, levando a maiores valores de potencial da água nas folhas, menor temperatura do dossel e maiores taxa de condutância estomática e de transpiração. O aumento na absorção foi confirmado pela extração de 15% da água no solo pelas plantas inoculadas, em camadas mais profundas (DOBBELAERE et al., 2003).

O aumento no conteúdo de clorofila e, conseqüentemente, na fotossíntese, é uma resposta à inoculação com bactérias promotoras do crescimento, incluindo *Azospirillum* (TSIMILLI-MICHAEL et al., 2000). Esse aumento também é observado em trigo inoculado que apresentou aumento na quantidade de clorofila e pigmentos fotoprotetores (BASHAN et al., 2006).

Bashan & Holguin (1997), Dobbelaere et al. (2001) e Bashan et al. (2004) relatam incrementos na absorção da água e minerais, maior tolerância a estresses como salinidade e seca, resultando em uma planta mais vigorosa e produtiva. A inoculação com *A. brasilense*, em grão de bico, auxilia no crescimento das raízes, reduzindo os efeitos negativos no crescimento das plantas causados pelo estresse salino (HAMAOUÏ et al., 2001).

Diferentes trabalhos foram citados por Dobbelaere et al. (2003) mostrando as modificações morfológicas nas raízes em resposta a inoculação com *Azospirillum*. Essas modificações incluem o número e a densidade de pelos radiciais, assim como seu comprimento. Em um experimento com milho e *A. brasilense*, em condições de campo, observou-se o aumento de 41% do número de raízes adventícias em plantas inoculadas, comparado com um aumento de 24% em plantas não inoculadas (DOBBELAERE et al., 2001).

O aumento da massa das plantas é comumente reportado como uma das respostas da inoculação com *Azospirillum*. De acordo com Muñoz-Garcia et al. (1991), a inoculação de sementes de milho com *A. brasilense*, aumenta a matéria seca das raízes de 54 a 86% e a matéria seca da parte aérea de 23 a 64%. Respostas positivas também

foram observadas em soja, onde a inoculação resultou em um aumento de 63% na massa seca das raízes (MOLLA et al., 2001).

A inoculação de bactérias em soja enfrenta um sério problema de compatibilidade com fungicidas e outros produtos usados no tratamento de sementes (HUNGRIA et al., 2007). A mesma autora afirma que esse também será um desafio na inoculação utilizando *Azospirillum*, a fim de verificar a compatibilidade entre os produtos químicos recomendados para as culturas do milho, trigo e outras gramíneas. Como por exemplo, estudos sobre a compatibilidade da bactéria com inseticidas empregados no tratamento de sementes de milho (HUNGRIA, 2011).

A redução na capacidade de vaso foi acompanhada de uma depleção na condutância estomática ( $gs$ ). Houve interação significativa, no primeiro experimento, entre os fatores capacidade de vaso e hora do dia (Figura 1).

De acordo com a equação a  $gs$  variou entre 105,68 e 235,5  $mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$  em condições de 100% cv, com resposta quadrática, mostrando valores mais elevados nas primeiras horas do dia e menores valores às 16 horas, com valor máximo de 295  $mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$  às 12 h (Figura 1).

Com 95% da capacidade de vaso a  $gs$  na primeira hora do dia avaliado (10h) foi 25% menor comparado ao momento de 100% cv. Com valor máximo, de acordo com a equação, de 216,8  $mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$  ao meio dia, resposta semelhante aos 100% cv (Figura 1).

Com apenas 90% cv foi suficiente para as plantas de milho apresentarem mecanismos de controle estomático. Resposta linear negativa foi verificada nessa condição, registrando-se  $gs$  média igual a

zero às 16 h. Momento que se observou o enrolamento das folhas das plantas de milho.

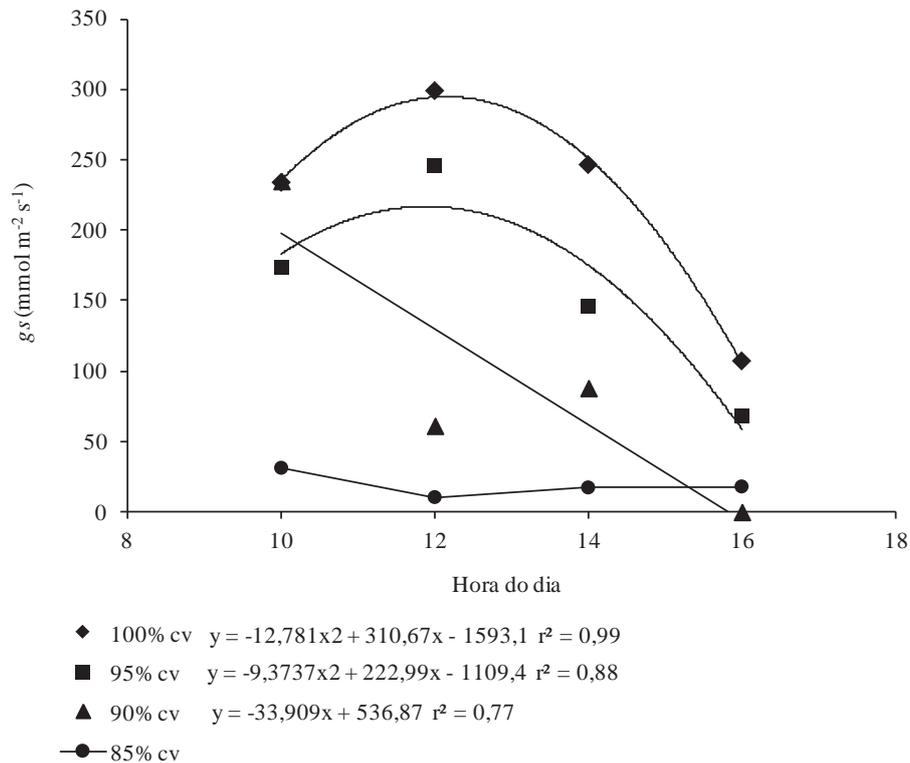


Figura 1 - Condutância estomática média (Experimento 1) das folhas de plantas do híbrido de milho Status, com e sem inoculação com *A. brasilense* (CMS 7 e CMS 712), em função da hora do dia, submetidos a diferentes capacidades de vaso: (A) 100% cv; (B) 95% cv; (C) 90% cv; (D) 85% cv. Passo Fundo, 2012.

Diferenças significativas não foram observadas no momento de 85% cv (Figura 1), quando foram registrados os menores valores de  $g_s$  entre 18 e 31  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , com a redução de 91% comparado com 100% cv. Valores semelhantes aos encontrados por

Magalhães et al. (2009), no qual plantas de milho reduziram a  $g_s$  cerca de 86% em condições de deficiência hídrica, alcançando valores de  $35 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ .

No Experimento 2, houve significância para os fatores capacidade de vaso e hora do dia, sem apresentar interação (Figura 2).

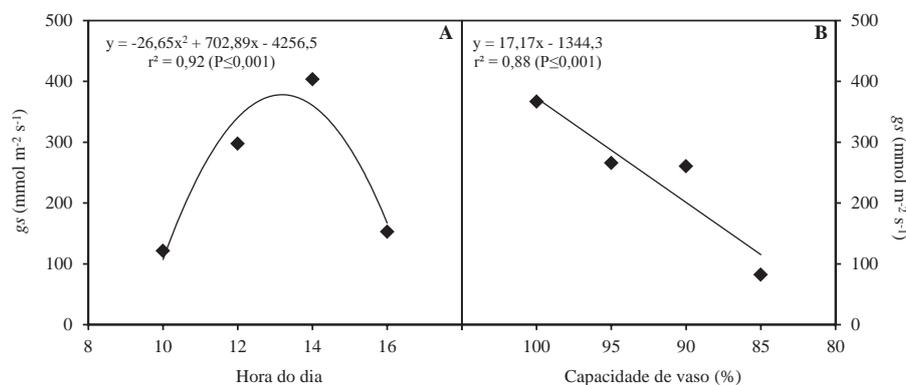


Figura 2 - Condutância estomática média (Experimento 2) das folhas de plantas do híbrido de milho Status, com e sem inoculação com *A. brasilense* (CMS 7 e CMS 712), em função da hora do dia (A) e da capacidade de vaso (B). Passo Fundo, 2012.

Quanto a hora do dia a  $g_s$  apresentou resposta quadrática com valor máximo de  $378,2 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  às 13h (Figura 2A), de acordo com a equação. Enquanto que para a capacidade de vaso a resposta foi linear negativa, onde a redução da capacidade de vaso reduziu a  $g_s$ . A redução de 1% na capacidade de vaso reduz, em média,  $17,17 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  nos valores da condutância estomática (Figura 2B).

A redução na capacidade de vaso não foi suficiente para que a planta apresentasse respostas a essas condições. As limitações

hídricas impostas às plantas nesses dias não foram suficientes para provocar variações na *gs*. Portanto, quando o déficit hídrico não é acentuado, as variações da condutância estomática obedecem à mesma tendência das plantas sem restrição hídrica (BERGONCI et al., 2000).

A absorção, o transporte e a consequente transpiração de água pelas plantas são consequências da demanda evaporativa da atmosfera (SANGOI et al., 2010a), determinada pela velocidade do vento e pela radiação solar. Baixa disponibilidade de água do solo ou a alta demanda evaporativa acionam certos mecanismos fisiológicos, como o comportamento estomático, que auxiliam as plantas a tolerar essas condições.

Sabe-se que a absorção de água pela planta depende tanto de fatores fisiológicos como de ambientais, principalmente radiação solar e déficit de vapor de pressão (JONES, 1992). A menor RFA, consequente menor demanda evaporativa, pode ter contribuído para as respostas de *gs*, no segundo experimento, pois baixos valores de RFA reduzem a demanda hídrica pela planta. Barradas et al. (2005) observaram redução na taxa de transpiração, devido ao fechamento dos estômatos, e essas respostas foram mais acentuadas nos momentos de maior demanda evaporativa.

A *gs* é afetada pelo estresse hídrico; mesmo quando este é apenas moderado, os estômatos tendem a se fechar logo nos estádios iniciais do estresse hídrico, o que leva à redução na disponibilidade de CO<sub>2</sub> e consequente diminuição da taxa de fotossíntese líquida (CORNIC, 2000; TAIZ & ZEIGER, 2004; ARAÚJO & DEMINICIS, 2009).

As primeiras respostas ao déficit hídrico auxiliam na sobrevivência da planta, para que a mesma mantenha suas funções mesmo sob condições de estresse. Algumas das respostas ocorrem nas folhas, tendo efeito negativo na assimilação de carbono e no crescimento (CHAVES et al., 2002). A redução na  $g_s$  não afetou o processo de assimilação de carbono em função da deficiência hídrica, não ocorrendo, portanto, a paralização do crescimento. O milho é capaz de tolerar um nível mais elevado de restrição hídrica e manter o crescimento das suas raízes e partes aéreas a níveis de estresse que são inibitórios para o crescimento de plantas  $C_3$  (NAYYAR, 2003). Plantas  $C_4$ , como o milho, apresentam melhor eficiência do uso da água e a capacidade de manter a atividade fotossintética em condições de baixo potencial hídrico (BRUCE et al., 2002).

Para manutenção da taxa de fotossíntese com a redução da abertura estomática faz-se necessário maior eficiência em consumir o carbono que se encontra internamente ao mesófilo foliar. A redução apenas parcial da abertura estomática limita mais fortemente a transpiração do que a entrada de  $CO_2$  (FIRMANO et al., 2009)

O fechamento estomático é uma das respostas mais comuns à deficiência hídrica, que traz como consequência a redução da disponibilidade de  $CO_2$  (SANTOS et al., 2009), porém é um importante mecanismo limitador da perda de água. As plantas enfrentam um conflito entre a conservação de água e a taxa de assimilação de  $CO_2$  para produção de carboidratos pela fotossíntese (TAIZ & ZEIGER, 2004). Os estômatos atuam como moduladores da perda de água, através da transpiração, respondendo à deficiência hídrica com alterações da abertura do poro (LARCHER, 2000).

Com o aumento do estresse, o fechamento dos estômatos ocorre de modo crescente ao longo do dia, iniciando ao meio dia (TENHUNEN et al., 1987). A  $g_s$  máxima ocorreu entre às 12 e 13 horas e mínima às 16 horas, nos dois experimentos, divergindo dos valores encontrados por Bergonci et al. (2000), em um trabalho a campo com milho, nos quais a condutância máxima ocorreu às 10 horas e mínima às 13 horas.

O declínio da fotossíntese não pode ser explicado como sendo inteiramente o resultado do aumento do déficit hídrico durante o dia. Pois, mesmo quando as folhas são mantidas em condições ótimas, declínio na condutância estomática e na assimilação líquida de carbono é observado durante o período da tarde (CHAVES et al., 2002). Além disso, as plantas usam o ritmo circadiano para restringir algumas atividades fisiológicas nas horas do dia mais favoráveis. Assim, a abertura rítmica dos estômatos previne a perda de água através da transpiração em momentos em que a fotossíntese não está ativa (CARRÉ, 1996).

Outro fator que pode ser responsável pela redução na  $g_s$  é a temperatura do ar, uma vez que é sabido que a temperatura também afeta a abertura estomática (BURROWS & MILTHORPE, 1976; JONES, 1992). Segundo Mansfield et al. (1990) fatores não hidráulicos também são capazes de regular o comportamento dos estômatos, pois as células-guarda apresentam sensibilidade aos fatores físicos e químicos do meio.

As raízes são as primeiras a sentirem o déficit hídrico no solo, que é detectado pelas células-guarda, antes das folhas apresentarem alguma modificação devido ao estresse, por meio de

sinais enviados à parte aérea da planta (MATTOS et al., 2005). Quando enfrentam períodos de deficiência hídrica há aumento na biossíntese de ABA, o qual é translocado das raízes para a parte aérea, pelo xilema, podendo causar o fechamento dos estômatos (GOMES et al., 2004).

A imposição da restrição hídrica determinou redução na  $g_s$  resultando no fechamento dos estômatos, o que leva ao aumento da temperatura da folha, pela redução da transpiração. Por outro lado, não se constatou correlação entre a  $g_s$  e a temperatura da folha nos dois experimentos. Há relação entre temperatura da folha e condutância estomática, pois com a redução da segunda, tem-se a consequente diminuição da transpiração e aumento da temperatura das folhas (OLIVEIRA et al., 2005), não observado no presente trabalho.

Para ambos os experimentos a temperatura da folha ( $T_f$ ) apresentou interação entre os fatores capacidade de vaso e hora do dia, com tendência quadrática para no Experimento 1 (Figura 3) e linear positiva no Experimento 2 (Figura 4).

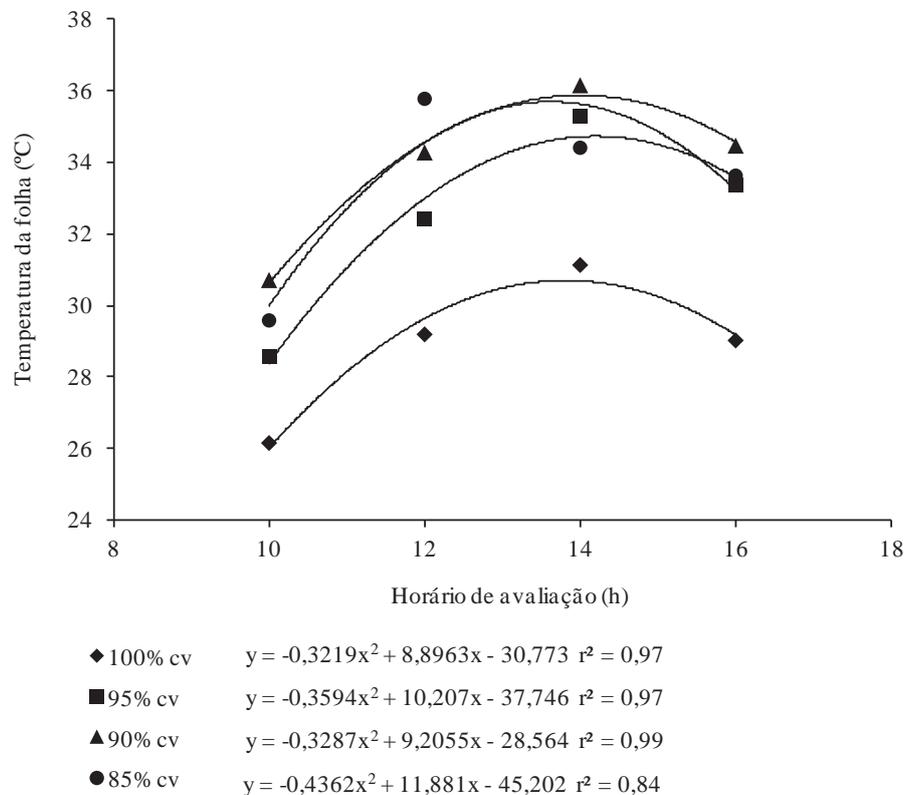


Figura 3 - Temperatura média da folha (Experimento 1) de plantas do híbrido de milho Status, com e sem inoculação com *A. brasilense* (CMS 7 e CMS 712), em função da hora do dia, submetidas a diferentes capacidades de vaso. Passo Fundo, 2012.

No Experimento 1 a temperatura máxima da folha ( $T_{f\text{máx}}$ ), de acordo com a regressão, ocorreu às 14 h para os quatro diferentes níveis de capacidade de vaso, com máxima de 31°C no momento de 100% cv (Figura 3). Com 95% cv a  $T_{f\text{máx}}$  alcançou 35°C, observando-se portanto, elevação de 13% na temperatura da folha, aumento similar ao da temperatura interna da casa de vegetação ocorrida nesse período do dia (Apêndice 13). Com 10% de redução na capacidade de

vaso, a  $T_{\text{fmax}}$  atingida foi de 36°C, 3% superior ao do momento anterior e 15% superior ao momento de 100% cv. No momento de 90% cv a temperatura média da casa manteve valores próximos aos observados no momento de 95% cv (Apêndice 13). Com apenas 85% cv a  $T_{\text{fmax}}$  manteve-se nos 36°C.

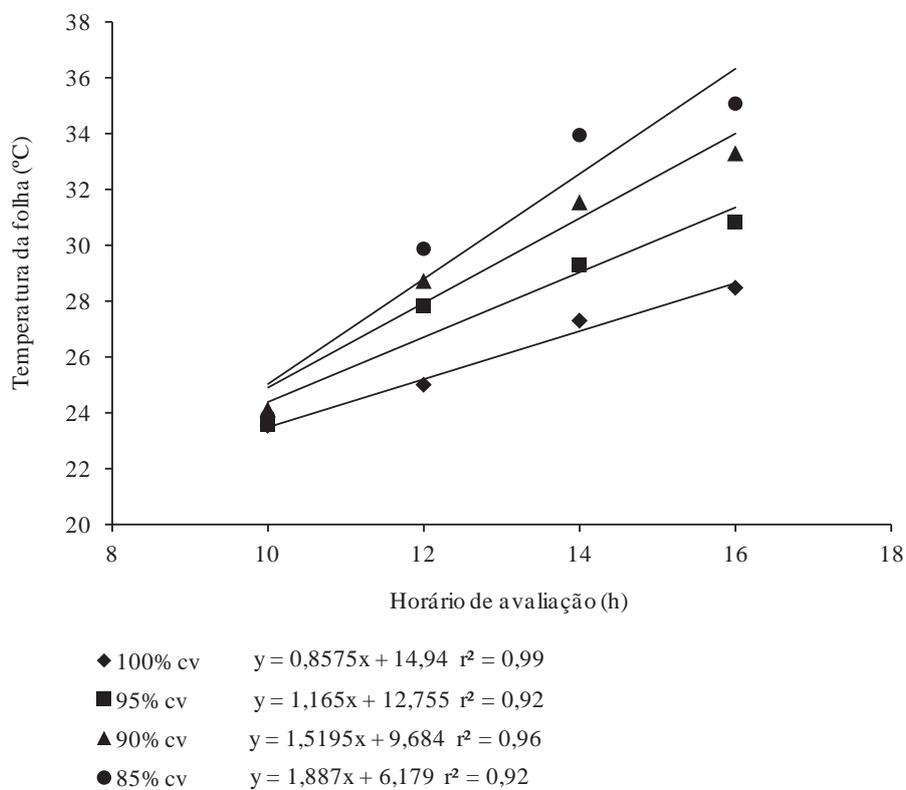


Figura 4 - Temperatura média da folha (Experimento 2) de plantas do híbrido de milho Status, com e sem inoculação com *A. brasilense* (CMS 7 e CMS 712), em função da hora do dia submetidas a diferentes capacidades de vaso. Passo Fundo, 2012.

No Experimento 2, a  $T_{f\text{máx}}$  foi registrados às 16 h, devido a resposta linear positiva observada nos quatro níveis de capacidade de vaso. Nas quatro diferentes capacidades de vaso, a  $T_f$  às 10 horas ficou em torno de 24°C, porém às 16 h, a redução de 5% e 10% da capacidade de vaso elevou em 8% a  $T_f$ . Com apenas 85% cv a  $T_{f\text{máx}}$  foi 23% superior ao encontrado aos 100% cv.

Mesmo a  $T_f$  apresentando aumento com a redução da capacidade de vaso, a  $T_f$ , no Experimento 1, somente foi superior que a temperatura ambiente ( $T_a$ ; Apêndice 13) na condição de 85% cv ao meio dia, com uma diferença de 3°C. Essa diferença também foi observada no mesmo período no Experimento 2, contudo a diferença foi de apenas 1,1°C. A  $T_f$  pode subir 4 a 5°C acima da  $T_a$ , sob luz plena próximo ao meio dia, quando o déficit hídrico provoca o fechamento estomático parcial e reduz o potencial de resfriamento (TAIZ & ZEIGER, 2004), elevando a  $T_f$ .

Por muitos anos, foi estabelecido que a temperatura na superfície da folha tem relação com o déficit hídrico, pois cerca de 95% da água absorvida pela planta é utilizada para manutenção do equilíbrio térmico pela transpiração (TAIZ & ZEIGER, 2004). Quando as plantas enfrentam escassez de água, a transpiração das folhas diminui, causada pela redução da  $g_s$  (LIU et al., 2011), que causa insuficiente resfriamento da folha elevando sua temperatura (LÓPEZ et al., 2009). A fotossíntese e a respiração são inibidas sob temperaturas altas, mas com o aumento da temperatura as taxas fotossintéticas caem antes das taxas respiratórias (TAIZ & ZEIGER, 2004).

O aumento da restrição hídrica aumentou a relação entre a  $T_f$  e a  $T_a$  (Figura 5). Entretanto, com 90 e 85% cv esse aumento não foi observado. Explicado pelo enrolamento das folhas que ocorreu no momento de 90% cv (Exp. 1), enquanto no Exp. 2, o enrolamento das folhas não foi observado, devido a menores valores da  $T_a$ .

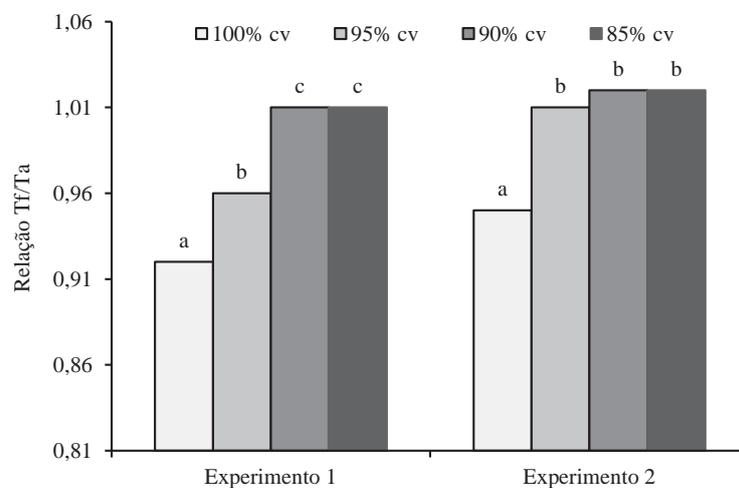


Figura 5 - Relação entre temperatura da folha ( $T_f$ ) e temperatura do ambiente ( $T_a$ ) em relação à capacidade de vaso (Experimento 1 e 2) Passo Fundo, 2012.

Carlesso (1993) demonstrou a influência do déficit hídrico no enrolamento da folha, onde esse mecanismo, durante a deficiência hídrica, pode minimizar a superfície foliar exposta ao sol como forma de proteção contra o calor.

Buscando reduzir a temperatura da folha para evitar maiores perdas de água pela transpiração, a planta responde ao déficit hídrico enrolando, enrugando, murchando suas folhas e com

movimentos heliotrópicos que alteram a interceptação da radiação solar (TAIZ & ZEIGER, 2004).

A relação entre  $T_f$  e a  $T_a$  é utilizada em diversas pesquisas como indicadora das condições hídricas das plantas (OLIVEIRA et al., 2005). Em condições de déficit hídrico, a temperatura foliar, geralmente se apresenta mais elevada do que a temperatura do ar, resultando no aumento na relação  $T_f/T_a$  (MENDES et al., 2007).

Considerando que as plantas apresentaram respostas ao déficit hídrico a partir da redução de 10% da capacidade de vaso, no Experimento 1 a  $T_f/T_a$  aumentou 10% e 7% no Experimento 2.

A capacidade de refrigeração das plantas é comprovada com a manutenção da temperatura da folha igual ou ligeiramente inferior à do ambiente, através da transpiração por meio da manutenção de elevada condutância estomática, com o intuito de manter a planta protegida de temperaturas muito elevadas (OLIVEIRA et al., 2005). Os mesmos autores reportam que em resposta à deficiência hídrica a elevação da temperatura da folha pode ser explicada pela redução na perda de calor latente via transpiração, que normalmente reduz nessas condições. Corroborando com Nascimento et al. (2011) que afirmam que a temperatura da folha em plantas com e sem estresse são distintas devido ao estado hídrico das plantas, ao comportamento dos estômatos e à perda de calor latente pela transpiração.

A transpiração é importante para o resfriamento da folha visto que, para evaporar na folha, a água retira sua energia térmica, reduzindo a temperatura foliar de 2 a 3°C (MILBURN, 1979).

Quando o déficit hídrico provoca o fechamento dos estômatos, a radiação interceptada pela folha também promove o aquecimento foliar, podendo atingir níveis prejudiciais ao metabolismo da planta (TAIZ & ZEIGER, 2004), como o aumento da atividade enzimática, levando a degradação da clorofila, por exemplo.

Os índices médios de clorofila da folha foram significativos para o fator capacidade de vaso (Figura 6). O déficit hídrico afetou negativamente os índices de clorofila *a*, *b* e total, Experimento 1, que reduziram linearmente, em média, 6, 15 e 8%, respectivamente. De acordo com as equações, a redução de 1% na capacidade de vaso reduz em média 0,18, 0,15 e 0,33 os índices de clorofila *a*, *b* e total, respectivamente (Figura 6).

No segundo experimento o déficit hídrico reduziu os índices de clorofila *a* em 10%, clorofila *b* em 16% e o índice de clorofila total reduziu 12%. E pelas equações, a redução de 1% da capacidade de vaso reduz em média 0,21 os índices de clorofila *a*, 0,14 a clorofila *b*, e 0,35 a clorofila total (Figura 7).

Nascimento (2009), trabalhando com feijão-caupi, encontrou uma redução média de 19% no ICF nas plantas que sofreram a imposição do estresse. No entanto, foi inferior ao trabalho de Cruz (2006), que encontrou redução superior a 30% no teor de clorofila em milho, cultivado em casa de vegetação com restrições hídricas.

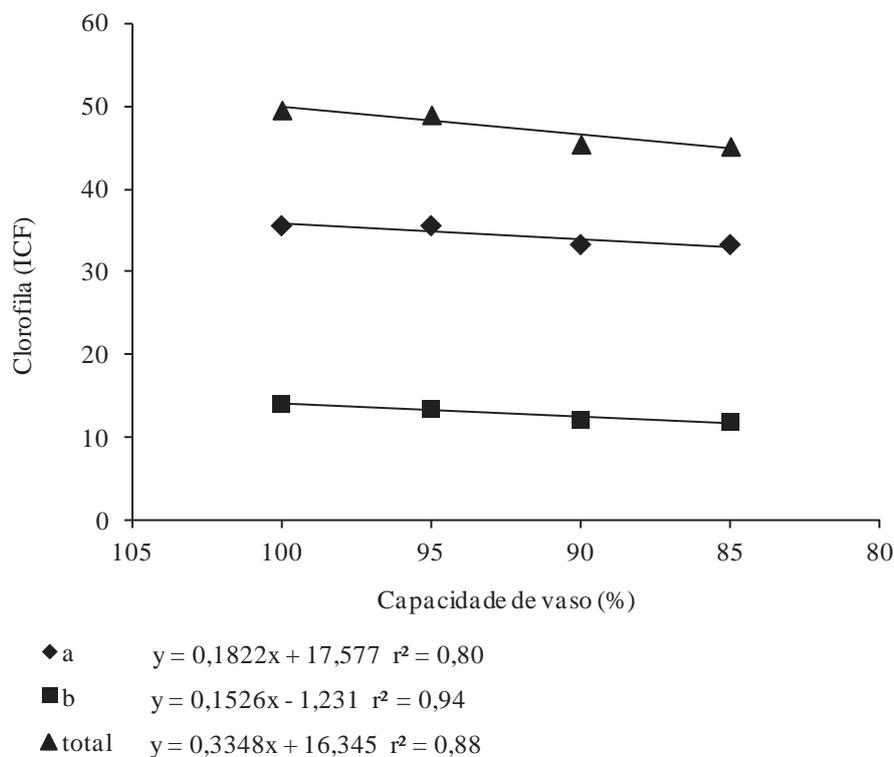


Figura 6 - Índice médio de clorofila *a*, *b* e total (Experimento 1) de plantas do híbrido de milho Status, na média da hora do dia e com/sem inoculação com *A. brasilense* (CMS 7 e CMS 712), em função da capacidade de vaso. ICF: índice de clorofila Falker. Passo Fundo, 2012.

Os experimentos apresentaram diferenças entre aos índices de clorofila, com 6,95, 2,84 e 9,79 ICF para clorofila *a*, *b* e total, respectivamente. Essa diferença entre os conteúdos de clorofila deve-se as diferenças ambientais que cada experimento passou. Mesmo com a mesma redução na capacidade de vaso durante os experimentos, a temperatura média da casa foi 14% superior no primeiro experimento (Apêndice 13), assim como a RFA no segundo experimento foi 40% inferior (Apêndice 15).

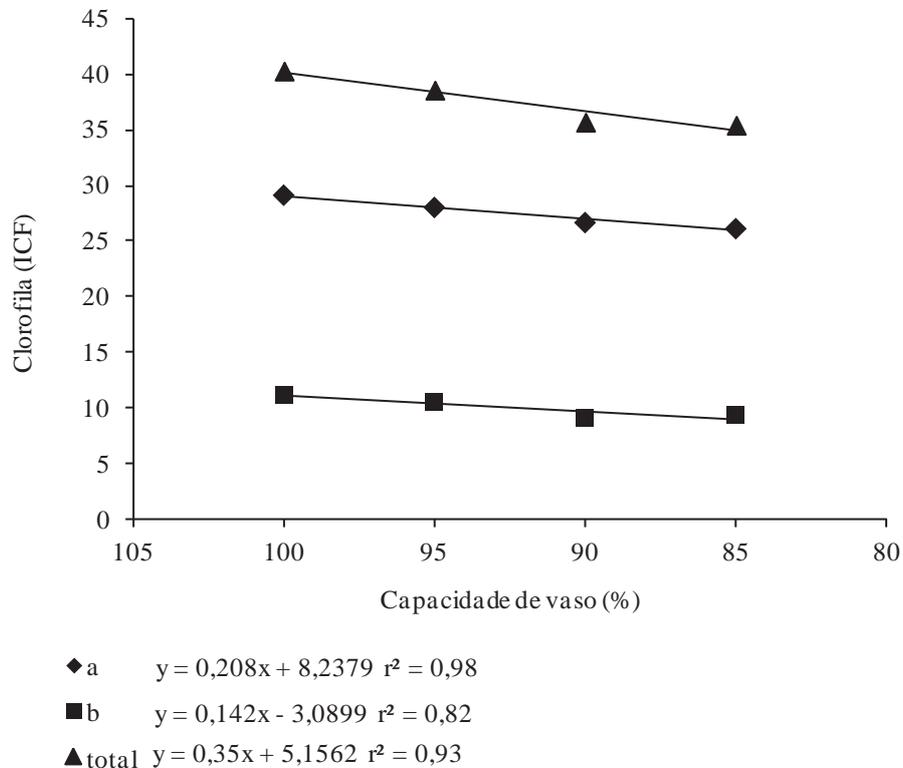


Figura 7 - Índice médio de clorofila *a*, *b* e total (Experimento 2) de plantas do híbrido de milho Status, na média da hora do dia e com/sem inoculação com *A. brasilense* (CMS 7 e CMS 712), em função da capacidade de vaso. ICF: índice de clorofila Falker. Passo Fundo, 2012.

Como as clorofilas são pigmentos instáveis, a etapa inicial da degradação das clorofilas é iniciada por fatores externos, como o estresse hídrico, luminosidade, alterações térmicas, níveis aumentados de etileno ou a combinação destes fatores (HEATON & MARANGONI, 1996; TAKAMIYA et al., 2000).

Em muitos casos, incluindo no milho, a deficiência de água leva à redução nos teores de clorofila (GRZESIAK et al., 2007). Magalhães et al. (2009) observaram que a imposição do déficit hídrico

reduz em média 17% o conteúdo de clorofila total em plantas de milho.

Durante o processo de degradação a clorofila *b* é degradada primeiro, sendo convertida em clorofila *a* (FANG et al., 1998), o que explica o aumento em 10% da razão entre clorofila *a* e clorofila *b* (*Clora:Clorb*) no final do primeiro experimento, e em 7,6% no segundo experimento (Tabela 2). Ambas as clorofilas são componentes das membranas dos cloroplastos e ocorrem na razão clorofila *a*/clorofila *b* de aproximadamente 3 para 1 (LICHTENTHALER, 1981).

Tabela 2 - Relação entre clorofila *a* e clorofila *b* (*Clora:Clorb*) das plantas do híbrido de milho Status (Experimento 1 e 2) em relação à capacidade de vaso. Passo Fundo, 2012

Capacidade de vaso (%)	<i>Clora:Clorb</i>	
	Exp. 1	Exp. 2
100	2,56 b	2,60 b
95	2,68 ab	2,65 b
90	2,78 a	2,94 a
85	2,81 a	2,80 a
C.V. (%)	9,09	17,05

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro; C.V. - coeficiente de variação.

A redução de 1% na capacidade de vaso reduziu a relação *Clora:Clorb*, para ambos experimentos, em 0,02. Todavia, a diferença significativa nessa redução é observada a partir de 10% da redução da capacidade de vaso.

O conteúdo de clorofila *a* e *b*, de três cultivares de milho, reduziu significativamente em condições de déficit hídrico, mas o aumento desses conteúdos foi observado após as plantas receberam novamente irrigação, chegando aos valores das plantas controle, conforme Efeoglu et al. (2009). De acordo com os mesmos autores, a diminuição no conteúdo de clorofila *a* em resposta a seca indica perda nos centros de reação da fotossíntese. Para que a fotossíntese ocorra, é essencial a presença de pigmentos fotossintéticos como a clorofila. Após absorver a luz pelos pigmentos, ocorre a transferência de energia luminosa que desencadeia os eventos químicos da fotossíntese (SUN et al., 1998). Qualquer fator que interfira, ou mesmo danifique, a estrutura desses pigmentos resultam em danos no processo da fotossíntese.

A redução nos conteúdos de clorofila é comum em condições de déficit hídrico, devido a exposição desses pigmentos a agentes de degradação, como espécies reativas de oxigênio (ERO), com a diminuição da quantidade de água nas células e do próprio desequilíbrio entre a fase fotoquímica e fase bioquímica (LOGGINI et al, 1999). Maroco et al. (2002) observaram redução da eficiência dos centros de reação do fotossistema II (PSII) em resposta a diminuição da quantidade de clorofila em videiras após um período prolongado de seca.

Os pigmentos fotossintéticos, localizados nas membranas dos tilacóides dos cloroplastos, absorvem a energia luminosa que é utilizada no processo fotossintético (TAIZ & ZEIGER, 2004). Mas, nem todos os elétrons que estão num nível energético elevado são passados para os aceptores. Estes elétrons retornam ao estado inicial,

sem produzir ATP e NADPH<sub>2</sub> para a próxima etapa. Ao retornar ao estado inicial, a energia é dissipada em forma de calor ou luz (fluorescência) (CAMPOSTRINI, 2001; LIU et al., 2011).

A fluorescência instantânea da clorofila (Ft), no Experimento 1, aumentou com a redução da capacidade de vaso (Figura 8A) e ao longo do dia (Figura 8B). Entretanto, o mesmo não foi observado no Experimento 2, onde a Ft reduziu, somente, ao longo do dia (Figura 9), sem apresentar significância com a capacidade de vaso.

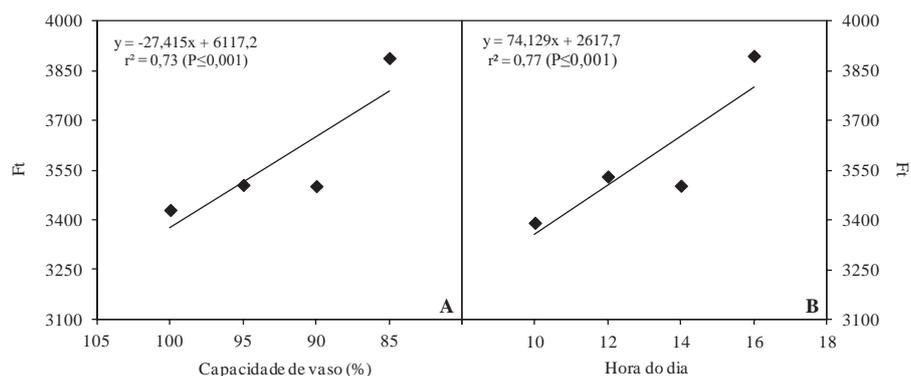


Figura 8 - Fluorescência da clorofila média (Experimento 1) de plantas do híbrido de milho Status, com e sem inoculação com *A. brasilense* (CMS 7 e CMS 712), em função da capacidade de vaso (A) e hora do dia (B). Passo Fundo, 2012.

De acordo com a equação na Figura 8A, a Ft aumentou 27,42 com a redução de 1% na capacidade de vaso. Ou seja, com o aumento do estresse há maior dissipação de luz pela planta, reduzindo as taxas fotossintéticas. Porém, ao longo do dia do primeiro

experimento, a cada hora do dia a Ft aumentou 74,13, assim, as taxas de fotossíntese são maiores no período da manhã.

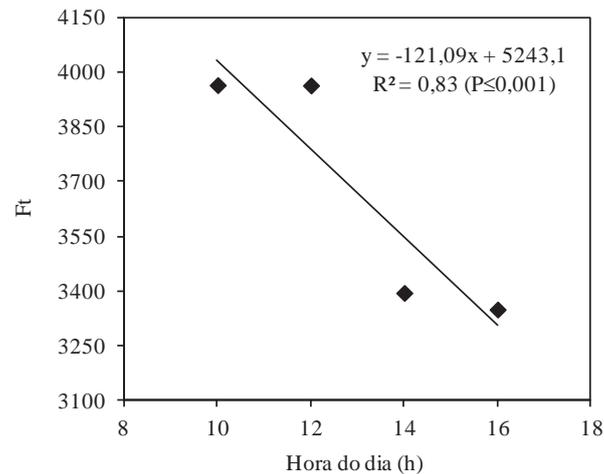


Figura 9 - Fluorescência da clorofila média (Experimento 2) de plantas do híbrido de milho Status, na média das capacidades de vaso e com/sem inoculação com *A. brasilense* (CMS 7 e CMS 712), em função da hora do dia. Passo Fundo, 2012.

No Experimento 2 a Ft se comportou de forma oposta ao longo do dia, onde a cada hora do dia reduzia 121,1, como resposta dos baixos valores de RFA registrados (Apêndice 15).

Uma das respostas da planta ao estresse ambiental é o aumento da dissipação de energia, o que é refletido pela quantidade de fluorescência da clorofila (SCHREIBER et al., 1994). Condições de estresse induzem o aumento da Ft, que pode ser explicado pela inibição da taxa do fluxo de elétrons (GENTY et al., 1987).

A fotossíntese é um processo fisiológico que determina o rendimento das culturas e é sensível ao estresse hídrico. As taxas de fotossíntese reduzem enquanto a intensidade do estresse aumenta, principal razão da redução do rendimento em condições de seca (EPHRATH, 1991).

Condições de seca levam a forte redução na assimilação de CO<sub>2</sub> e portanto diminui também a demanda pelos produtos da etapa fotoquímica: ATP e NADPH. Assim, a planta enrola as folhas durante o estresse para limitar a absorção de luz pelo sistema antena, assim como, reduzir a perda de água pela transpiração (EFEOGLU et al., 2009).

Alterações nos valores de  $F_t$  são observadas em condições de estresses ambientais que causam alterações estruturais nos pigmentos fotossintéticos do PSII (CAMPOSTRINI, 2001). A  $F_t$  é independente dos eventos fotoquímicos e o seu aumento é consequência de danos no centro de reação do PSII ou da redução da capacidade de transferência da energia de excitação do sistema de antena para os centros de reação (BAKER, 2008).

A clorofila desempenha papel fundamental no processo fotossintético dependente da luz, que é realizado por proteínas integrais nas membranas dos tilacóides (HOOBER et al., 2007), captando a luz e direcionando a energia para os fotossistemas (STENBAEK & JENSEN, 2010). A eficiência através da qual a energia de excitação é recolhida e utilizada pelos centros de reação do fotossistema II (PSII) é conhecida como o rendimento quântico ( $F_v'/F_m'$ ) do PSII (GONÇALVES et al., 2005).

O  $F_v'/F_m'$  (Exp. 1) foi significativo para os fatores hora do dia (Figura 10A) e capacidade de vaso (Figura 10B), sem interação entre os fatores. Com redução linear de 7,5% ao longo do dia e 8,4% com o aumento do déficit hídrico. Observou-se correlação negativa com RFA ( $r = -0,21$ ). Com a redução de 1% na capacidade de vaso a  $F_v'/F_m'$  reduz 0,004, porém ao longo do dia, a cada hora do dia a  $F_v'/F_m'$  reduz 0,008.

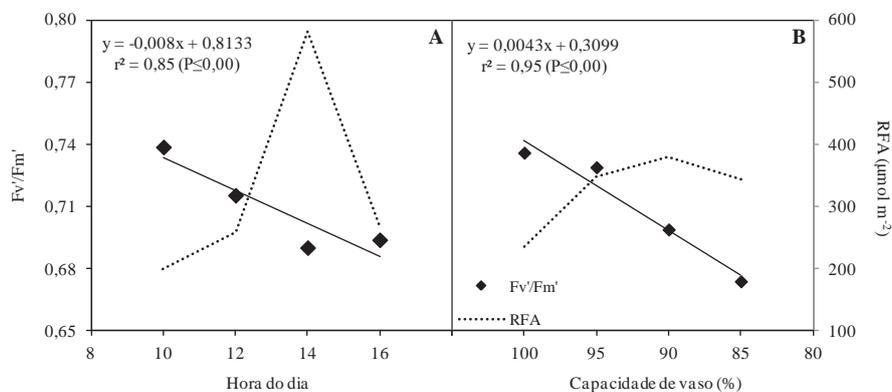


Figura 10 - Rendimento quântico médio (Experimento 1) de plantas do híbrido de milho Status, com e sem inoculação com *A. brasilense* (CMS 7 e CMS 712), e radiação fotossinteticamente ativa (RFA) em função da hora do dia (A) e da capacidade de vaso (B). Passo Fundo, 2012.

Para o segundo experimento, o  $F_v'/F_m'$  apresentou significância somente para o fator hora do dia (Figura 11), com resposta quadrática, correlacionado negativamente ( $r = -0,17$ ) com a RFA.

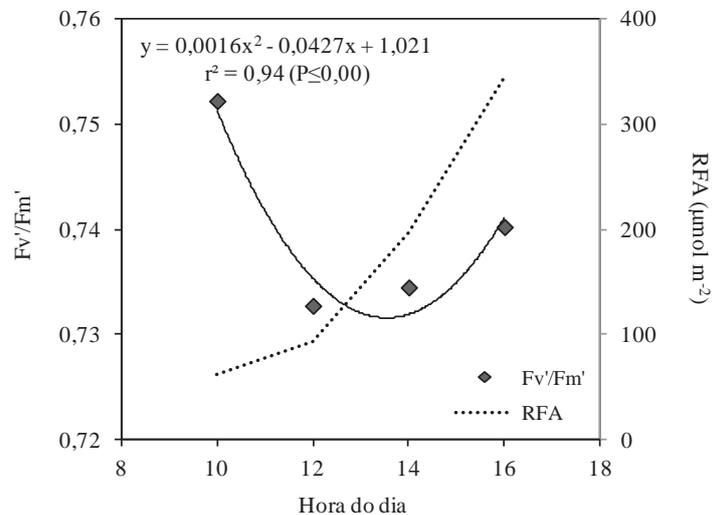


Figura 11 - Rendimento quântico médio (Experimento 2) de plantas do híbrido de milho Status, na média das capacidades de vaso e com/sem inoculação com *A. brasilense* (CMS 7 e CMS 712), e radiação fotossinteticamente ativa (RFA) em função da hora do dia. Passo Fundo, 2012.

Em ambos os experimentos a  $Fv'/Fm'$  reduziu ao longo do dia, a qual foi mais acentuada no período das 12 e 14 h (Figura 10A e 11). Essa diminuição do rendimento quântico pode estar associada a diminuição da fotossíntese que resulta da dissipação térmica do excesso de energia de excitação nos cloroplastos (CHAVES et al., 2002).

Diferentes tipos de estresses, como temperatura e déficit hídrico, afetam o desempenho do PSII (ÖQUIST, 1985). Quando as plantas são expostas aos estresses ambientais, alterações no estado funcional das membranas dos tilacóides dos cloroplastos modificam as características dos sinais de fluorescência, os quais podem ser

quantificados nas folhas (BAKER & ROSENQVST, 2004) de forma não destrutiva com a utilização de fluorômetros portáteis.

A fluorescência da clorofila permite verificar a atividade do transporte de elétrons durante o processo de fotossíntese, proporcionando uma análise da inibição da fotossíntese, induzida pelo estresse (MEYER & GENTY, 1999). A redução no teor de clorofila devido à redução de água no solo, também resulta na redução do rendimento quântico ( $F_v'/F_m'$ ) do PSII, induzida pela perda de energia transferida dos pigmentos para os centros de reação do PSII.

Os dados obtidos por LU & ZHANG (1998) em plantas de trigo sob estresse hídrico não apresentaram efeito sobre  $F_v'/F_m'$ . Representando a proporção de luz absorvida que está a ser utilizada na fase fotoquímica,  $F_v'/F_m'$  é o indicador do desempenho fotossintético da planta com valores ótimos próximos de 0,8 para a maioria das espécies (CHAVES et al., 2002; HUNT, 2003). Os valores mais baixos são encontrados em plantas que foram expostas a alguma forma de estresse, indicando em particular o fenômeno da fotoinibição (ARAÚJO & DIMINICIS, 2009).

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho há correlação entre o aumento da temperatura da folha e o declínio do  $F_v'/F_m'$  ( $r = -0,31$ ). Uma das causas da redução do  $F_v'/F_m'$  em altas temperaturas tem sido atribuída à redução no funcionamento da etapa fotoquímica, envolvendo principalmente a inibição do PSII (WEIS & BERRY, 1988). O declínio do  $F_v'/F_m'$  em resposta ao estresse, geralmente envolve o aumento na  $F_o$  (para plantas adaptadas ao escuro) (YAMADA, 1996), porém observou-se o aumento da  $F_t$ , para plantas de milho (Status) adaptadas à luz.

O declínio da fotossíntese está associado com a redução do rendimento quântico do PSII, que foi mais evidente durante a parte mais quente do dia, às 14 horas, quando a assimilação de carbono pode ser limitada pela depleção de *gs*, mecanismo importante de proteção em condições de seca (CHAVES et al., 2002).

Assim como o rendimento quântico reduziu com o aumento do déficit, a *gs* também sofreu essa redução, o que pode ter gerado a fotoinibição das plantas. De acordo com Taiz & Zeiger (2004) há dois tipos de fotoinibição: dinâmica e crônica. A fotoinibição dinâmica é causada pelo desvio da energia luminosa, absorvida em direção a dissipação de calor. Nesse caso, o rendimento quântico decresce, mas a taxa fotossintética permanece inalterada (ARAÚJO & DEMINICIS, 2009). Evento que ocorreu com as plantas de milho, pois não foi possível ver respostas no acúmulo de biomassa.

Em condições de alta temperatura, a fotossíntese decresce gradualmente e reversivelmente, pois o PSII é sensível ao calor, o aumento da temperatura acarreta no bloqueio dos centros de reação do PSII (ARAÚJO & DEMINICIS, 2009). A inativação reversível da fotossíntese é reflexo de danos causados nos cloroplastos, que se mantêm por um tempo após o retorno às condições de temperatura favoráveis (LONG et al., 1994).

De acordo com Valladares & Pearcy (1997) a exposição das plantas à luz leva a queda do potencial hídrico das folhas, causada pela alta demanda evaporativa (radiação), sendo responsável pelo aumento da temperatura das folhas e restrição na transpiração que pode intensificar os efeitos de fotoinibição. Em temperaturas altas (35 a 42°C) a taxa de assimilação de carbono pode ser inibida por diminuir

a condutância estomática (LAW & CRAFTS-BRANDNER, 1999). Podendo também levar ao aumento da respiração (ARAÚJO & DEMINICIS, 2009).

A redução na  $g_s$  é uma resposta da planta para manter seu estado hídrico, assim como a quantidade de água no solo. No entanto, o resultado de tais eventos fisiológicos é o aumento da temperatura da folha, restrição da assimilação de  $CO_2$ , redução no teor de clorofila, inibição da PSII e redução da taxa fotossintética que pode levar a redução no ganho de carbono.

O comprimento médio da raiz mais longa e o diâmetro do colmo não apresentaram significância entre os tratamentos (Tabela 3).

Tabela 3 - Diâmetro médio do colmo e comprimento médio da raiz mais longa (Experimento 1 e 2) de plantas do híbrido de milho Status, em relação à capacidade de vaso. Passo Fundo, 2012

Capacidade de vaso (%)	Diâmetro colmo (mm)		Comprimento Raiz (cm)	
	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 1	Exp. 2
100	15,07 <sup>ns</sup>	13,21 <sup>ns</sup>	55,60 <sup>ns</sup>	63,47 <sup>ns</sup>
95	15,49	13,71	55,65	59,65
90	18,01	13,57	53,43	62,98
85	14,29	13,66	52,25	63,02
C.V. (%)	52,31	12,14	17,87	16,36

ns - não significativos ( $P > 0,05$ ); C.V. - coeficiente de variação.

Furtado et al. (2002) analisando o crescimento vegetativo do milho em diferentes regimes hídricos evidenciaram que o déficit hídrico influencia o crescimento vegetativo, pois o diâmetro do colmo de plantas irrigadas foi 14% superior ao das plantas submetidas ao déficit hídrico.

Com diferenças significativas para o fator capacidade de vaso, a estatura da planta apresentou comportamento linear para os dois experimentos (Figura 12A e B). Mesmo exposta a condições de deficiência hídrica, não foi possível observar efeitos deletérios na estatura das plantas de milho. Plantas de milho submetidas ao déficit hídrico apresentaram redução de 10,25% na estatura comparada com as plantas em condições de irrigação (FURTADO et al., 2002).

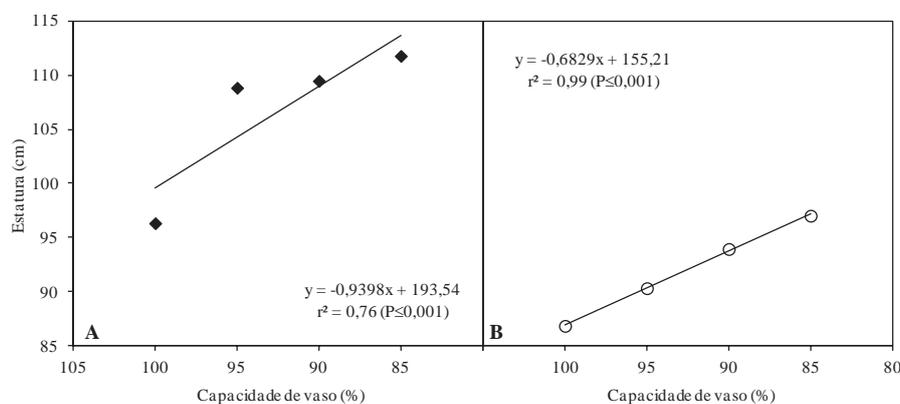


Figura 12 - Estatura média de plantas do híbrido de milho Status, na média da hora do dia e com/sem inoculação com *A. brasilense* (CMS 7 e CMS 712), em função da capacidade de vaso. (A) Experimento 1; (B) Experimento 2. Passo Fundo, 2012.

O aumento na estatura, no momento de 90 e 95% cv (Figura 12A), está ligado ao enrolamento das folhas em resposta ao déficit hídrico e temperatura elevada, pois esse fato reduziu a curvatura das folhas, alterando a referência para a medida. Ao enrolar as folhas a planta consegue reduzir a perda de água, porém reduz a assimilação de carbono. Carlesso (1993) demonstrou que ao enrolar a

folha a superfície foliar exposta ao sol é minimizada, como forma de proteção contra o calor. Devido a esse movimento para sua proteção a planta também altera a interceptação da radiação solar (TAIZ & ZEIGER, 2004).

Casanovas et al. (2002) verificaram efeito negativo do estresse imposto sobre o crescimento das plantas de milho, conforme houve a supressão hídrica, a altura, diâmetro do colmo e massa seca total apresentaram reduções drásticas, diminuindo o crescimento vegetal. Corroborando com Kramer (1983) que afirma que o efeito mais aparente das plantas submetidas ao estresse hídrico, é a redução do porte da planta e de sua área foliar.

A massa seca das raízes (Figura 13A e 14A), colmo (Figura 13B e 14B), folhas (Figura 13C e 14C) e total (Figura 13D e 14D) apresentaram significância com relação à capacidade de vaso, com comportamento linear para os dois experimentos. A redução na  $g_s$  não afetou o processo de assimilação de carbono em função da deficiência hídrica, não ocorrendo, portanto, a paralização do crescimento.

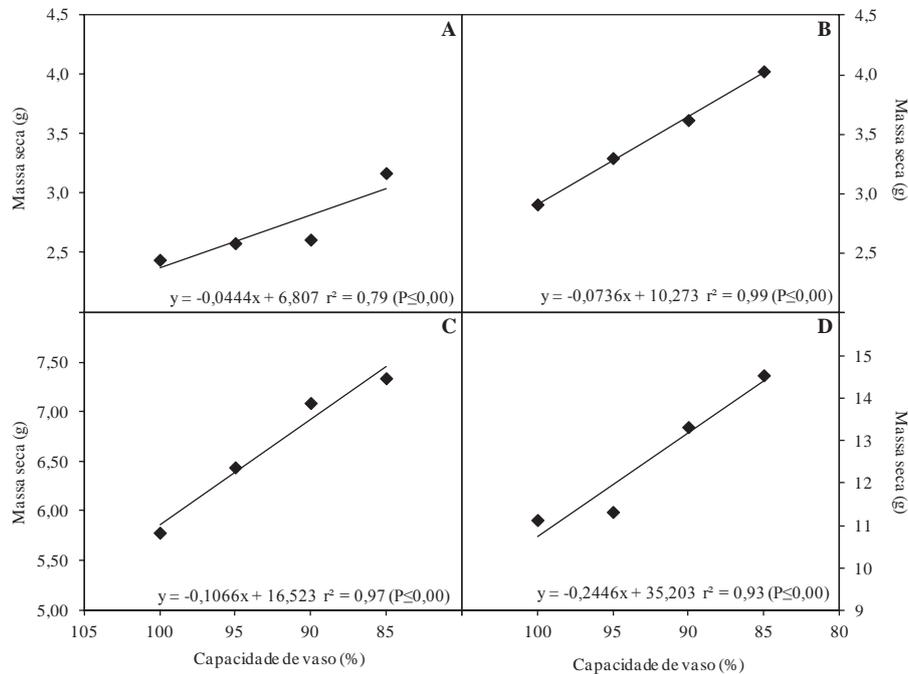


Figura 13 - Massa seca média (Experimento 1) das plantas do híbrido de milho Status, na média da hora do dia e com/sem inoculação com *A. brasilense* (CMS 7 e CMS 712), em função da capacidade de vaso: (A) raízes; (B) colmo; (C) folhas; (D) total. Passo Fundo, 2012.

Mesmo com a redução de alguns processos fisiológicos: como a  $g_s$ , que reduz a assimilação de carbono; taxa de fotossíntese, devido à redução no rendimento quântico; o aumento na massa seca foi positivo mesmo com o aumento da restrição hídrica. Em condições de estresse e para evitar a desidratação, as plantas fecham os estômatos, reduzem a atividade fotossintética, seguido de uma redução ou paralisação do seu crescimento (KRAMER, 1974).

Em condições de campo, quando o déficit hídrico se desenvolve lentamente, a redução do  $CO_2$  intracelular após o

fechamento dos estômatos induz, em longo prazo, a regulação da maquinaria fotossintética de modo a ajustar o fluxo de carbono disponível (CHAVES et al., 2002).

O acúmulo de massa seca foi positivo mesmo com o aumento progressivo do estresse hídrico. Mesmo com 15% da restrição hídrica, o milho mostrou aumento médio de 31% (Figura 13D) e 26% (Figura 14D) na matéria seca total.

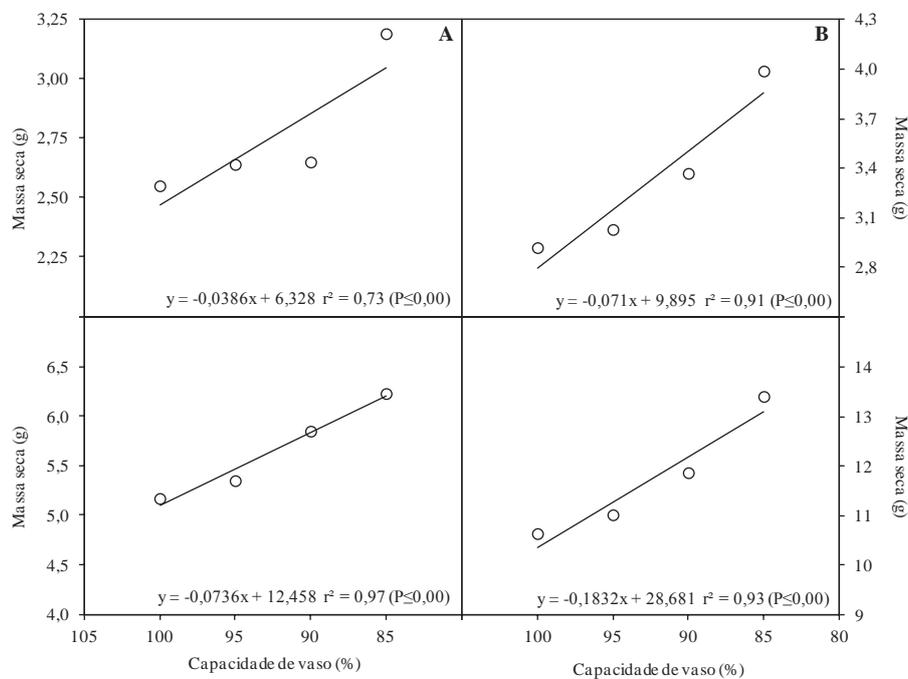


Figura 14 - Massa seca média (Experimento 2) das plantas do híbrido de milho Status, na média da hora do dia e com/sem inoculação com *A. brasilense* (CMS 7 e CMS 712), em função da capacidade de vaso: (A) raízes; (B) colmo; (C) folhas; (D) total. Passo Fundo, 2012.

As folhas apresentaram menor acúmulo de massa seca, mesmo sendo essa positiva, com valores médios de 27 e 20% para o primeiro e segundo experimento, respectivamente. Porém, a massa seca do colmo foi superior para ambos os experimentos, com acúmulo médio de 37,5%, já para as raízes o acúmulo foi de 30% (Figura 13A) e 25% (Figura 14A).

Para evitar o estresse as plantas dependem das respostas rápidas do aparato fotossintético e do metabolismo do carbono, incluindo o armazenamento de reservas no caule e nas raízes (CHAVES et al., 2002)

Como não foi observada redução significativa no diâmetro do colmo, a massa seca do colmo aumentou linearmente, independente da imposição da restrição hídrica. As plantas de milho tem a capacidade de armazenar fotoassimilados no colmo, que contribuem para o desenvolvimento da cultura, mesmo em condições adversas (FANCELLI & DOURADO NETO, 2000).

Nas condições em que as plantas de milho foram cultivadas, vasos de 11L, as plantas talvez não tenham tido condições de expressar sua capacidade de resposta ao estresse, no desenvolvimento do sistema radicial.

A relação entre raiz e parte aérea (R:PA) está apresentada na Tabela 4, não se mostrando significativa em relação à capacidade de vaso. Kumar & Sharma (2009) observaram que plantas de *Vigna radiata* cultivadas no campo e submetidas ao estresse hídrico através da suspensão da irrigação acumularam maior quantidade de massa seca na parte aérea em relação às raízes.

Em condições de baixa disponibilidade hídrica, as raízes retêm maior quantidade de carbono para se desenvolver, para que possa buscar mais destes recursos, deixando menos para as folhas. Conseqüentemente, o crescimento da parte aérea é limitado pela disponibilidade de água. O excesso de fotoassimilados é transportado para as partes da planta onde há necessidade de maior captação de um determinado recurso (BROUWER, 1962), como por exemplo, a necessidade das raízes em absorver água e nutrientes.

Tabela 4 - Relação entre raiz e parte aérea (R:PA) (Experimento 1 e 2) de plantas de milho do híbrido Status em relação à capacidade de vaso. Passo Fundo, 2012

Capacidade de vaso (%)	Relação R:PA	
	Exp. 1	Exp. 2
100	0,28 <sup>ns</sup>	0,33 <sup>ns</sup>
95	0,27	0,36
90	0,25	0,31
85	0,28	0,32
C.V. (%)	26,09	36,09

ns - não significativos ( $P > 0,05$ ); C.V. - coeficiente de variação.

A massa seca da raiz também pode ser alterada em consequência da seca, a relação R:PA aumenta sob condições de déficit hídrico (NICHOLAS, 1998). Porém, esse aumento não foi observado, pois de acordo com Hoogenboom et al. (1986) condições de seca não afetam o crescimento das raízes ou do colmo no estágio vegetativo.

A estratégia da planta, por limitar o crescimento das folhas em condições de estresse, é o rápido crescimento das raízes, para

permitir a absorção de água das camadas mais profundas do solo (REID & RENQUIST, 1997). A taxa de crescimento de raízes de trigo e milho diminui sob estresse hídrico moderado e elevado (SHAO et al, 2008).

O crescimento vegetal é reflexo do balanço de carbono na planta, que depende dos processos de fotossíntese e respiração, os quais por sua vez, dependem de diversos fatores ambientais, como disponibilidade hídrica e de nutrientes (ANGELOCCI, 2002).

Os resultados obtidos no presente trabalho se opõem aos encontrados por Kramer (1974), que relata que em condições de deficiência hídrica, para evitar a desidratação, primeiro as plantas reduzem a *g<sub>s</sub>*, como consequência reduz as atividades fotossintéticas, seguido de uma redução ou paralisação do seu crescimento.

Porém, alguns autores relatam que a massa seca da parte aérea é um excelente parâmetro indicativo da intensidade de crescimento da planta, mas níveis hídricos não exercem influência sobre o desenvolvimento das plantas (BORTOLINI et al., 2002), o que foi afirmado no presente trabalho.

Costa et al. (2008) observaram que os níveis de água disponíveis impôs uma redução na matéria seca da parte aérea, tanto no estágio vegetativo como no reprodutivo de plantas de milho.

Em um trabalho, Liu et al. (2011) mostraram que a interrupção da irrigação por alguns dias, impondo um estresse moderado em plântulas de milho, resulta no aumento da temperatura foliar e na redução da biomassa. Entretanto, a redução da biomassa não foi observada neste trabalho.

O estresse hídrico altera a partição de assimilados entre as partes da planta (KUMAR & SHARMA, 2009), resultando em menor produção de massa seca. Porém, os resultados do presente estudo se mostraram contraditórios à afirmação de Boyer (1976) de que o déficit hídrico afeta praticamente todos os processos fisiológicos, inclusive o acúmulo de matéria seca.

O acúmulo de biomassa está ligado à transpiração, pois a abertura estomática e a área foliar determinam tanto a taxa de fotossíntese quanto a de transpiração (COLLINS et al., 2008). O aumento da temperatura das folhas devido, principalmente, ao fechamento dos estômatos, é apenas um fenômeno de superfície. O estresse imposto resulta na redução da  $g_s$  que reduziu a perda de água e também a assimilação de carbono. Da mesma forma, essa restrição não foi suficiente para reduzir o acúmulo de biomassa.

Para a compreensão dos fatores que limitam tanto a produtividade, quanto o crescimento das plantas faz-se necessário a análise de parâmetros fisiológicos. Por outro lado, uma pequena redução na abertura estomática pode reduzir de forma significativa a perda de água com um mínimo efeito sobre a absorção de  $CO_2$  e a fotossíntese (JONES, 1992). Algumas plantas conseguem evitar a perda de água através do fechamento estomático, mantendo as taxas fotossintéticas, mesmo que baixas, por um determinado tempo (NASCIMENTO et al., 2011), mantendo um crescente acúmulo de biomassa.

Contudo, o déficit hídrico reduz a matéria seca e o rendimento da cultura. Mas, essa redução depende da intensidade com

que o estresse afetou as áreas de atividade fotossintética e a taxa de recuperação depois de findado o estresse (HSIAO, 1973).

A área foliar unitária (AFU) não se mostrou significativa para os fatores avaliados, em ambos os experimentos. Enquanto, no Experimento 2, somente a área foliar total (AFT) das plantas de milho apresentou significância (Tabela 5).

Tabela 5 - Área foliar unitária (AFU) e área foliar total (AFT) (Experimento 1 e 2) de plantas do híbrido de milho Status, média com e sem inoculação com *A. brasilense*, em relação à capacidade de vaso. Passo Fundo, 2012

Capacidade de vaso (%)	AFU (cm <sup>2</sup> )		AFT (cm <sup>2</sup> )	
	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 1	Exp. 2
100	230,9 <sup>ns</sup>	70,2 <sup>ns</sup>	2489,9 <sup>ns</sup>	842,2 ab
95	169,8	60,8	1796,8	728,9 ab
90	165,2	78,7	1747,3	944,2 a
85	186,5	53,9	1980,9	628,5 b
C.V. (%)	115,39	64,16	131,25	64,31

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro; ns - não significativos ( $P > 0,05$ ); C.V. - coeficiente de variação.

A AFT (Exp. 2) foi menor com a redução de 15% da capacidade de vaso, porém com apenas 90% cv as plantas apresentaram valores superiores. A redução ao final do experimento está ligada ao fato das plantas murcharem devido ao calor intenso, reduzindo sua área até o momento da realização das leituras, e não especificamente ao estresse imposto.

O efeito mais aparente das plantas submetidas ao estresse hídrico é a redução do porte da planta e de sua área foliar (KRAMER, 1983). Volkenburgh & Boyer (1985) observaram efeito inibitório do déficit hídrico sobre a alongação das folhas na cultura do milho. Pinho (1992) verificou redução de 50% da área foliar, de milho e sorgo, em condições de estresse hídrico.

O crescimento celular, dividido em dois componentes, divisão e alongamento celular, é um dos processos mais sensíveis à deficiência hídrica, sendo muitas vezes reduzido antes mesmo da fotossíntese ou  $g_s$  (TAIZ & ZEIGER, 2004).

O alongamento foliar depende da expansão celular, porém em condições de déficit hídrico há inibição da expansão celular (TAIZ & ZEIGER, 2004), corroborando com os resultados de Santos & Carlesso (1998) que verificaram redução na expansão de folhas de milho submetidas a déficit hídrico.

Em muitas espécies a redução ou paralisação da expansão celular é um dos processos mais sensíveis ocasionado na planta pelo estresse hídrico, quando pequenas reduções no potencial de pressão causam, aparentemente, desaceleração da alongação celular (HSIAO et al., 1976). Os mesmos autores acrescentam que o estresse hídrico reduz o turgor das células, e conseqüentemente, o seu crescimento, além de ocasionar o incremento na síntese de ABA, resultando no fechamento estomático e redução na assimilação de carbono.

De acordo com Taiz & Zeiger (2004) as respostas mais proeminentes das plantas ao déficit hídrico consistem no decréscimo da produção da área foliar. Essa redução é considerada uma linha de defesa contra a deficiência hídrica. Com menor área foliar, a

transpiração também é reduzida, conservando o conteúdo de água no solo.

## 5 CONCLUSÕES

A inoculação com *Azospirillum brasilense* (CMS 7 e CMS 712) não afeta o comportamento fisiológico e o crescimento vegetativo do híbrido de milho Status.

O déficit hídrico altera o comportamento fisiológico das plantas de milho do híbrido Status.

## REFERÊNCIAS

ANGELOCCI, L. R. *Água na planta e trocas gasosa/energéticas com a atmosfera: introdução ao tratamento biofísico*. 1. ed. Piracicaba: Autor, 2002. 272p.

ARAÚJO, S. A. C.; DEMINICIS, B. B. Fotoinibição da fotossíntese. *Revista Brasileira de Biociências*, Porto Alegre, v. 7, n. 4, p. 463-472, 2009.

ASHRAF, M.; FOOLAD, M. R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, v. 59, p. 206-216, 2007.

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

BAKER, N. R.; ROSENQVST, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, v. 55, p. 1607-1621, 2004.

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

BANZIGER, M.; EDMEADES, G. O.; LAFITTE, H. R. Physiological mechanisms contributing to the increased N stress tolerance of tropical maize selected for drought tolerance. *Field Crops Research*, Amsterdam, v. 75, p. 223-233, 2002.

BARASSI, C. A.; CREUS, C. M.; CASANOVAS, E. M.; SUELDO, R. J. Could *Azospirillum* mitigate abiotic stress effects in plants? 2000. Disponível em: <<http://www.ag.auburn.edu/argentina>>. Acesso em: 07 jan. 2013.

BARASSI, C. A.; SUELDO, R. J.; CREUS, C. M.; CARROZZI, L. E.; CASANOVAS, W. M.; BASHAN, Y.; BUSTILLOS, J. J.; LEYVA, L. A.; HERNANDEZ, J. P.; BACILIO, M. Increase in auxiliary photoprotective photosynthetic pigments in wheat seedlings induced by *Azospirillum brasilense*. *Biology and Fertility of Soils*, Itália, v. 42, p. 279-285, 2006.

BÁRBARO, I. M; BRANCALIÃO, S. R.; TICELLI, M. *É possível a fixação biológica de nitrogênio no milho?* 2008. Disponível em: <<http://www.aptaregional.sp.gov.br/index.php>>. Acesso em: 12 dez. 2012.

BARRADAS, V. L.; NICOLÁS, E.; TORRECILLAS, A.; ALARCÓN, J. J. Transpiration and canopy conductance in young apricot (*Prunus armeniaca* L.) trees subjected to different PAR levels and water stress. *Agricultural Water Management*, Holanda, v. 77, p. 323-333, 2005.

BASHAN, Y.; BUSTILLOS, J. J.; LEYVA, L. A.; HERNANDEZ, J. P.; BACILIO, M. Increase in auxiliary photoprotective photosynthetic pigments in wheat seedlings induced by *Azospirillum brasilense*. *Biology and Fertility of Soils*, Itália, v. 42, p. 279-285, 2006.

BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L.E. Bacteria/Plant growth-promotion. In: HILLEL, D. (Ed.) *Encyclopedia of soils in the environment*. Oxford: Elsevier, 2005. p.103-115.

BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L.E. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth - A Critical Assessment. *Advances in Agronomy*, v. 108, p. 77-136, 2010.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G. *Azospirillum*-plant relations: environmental and physiological advances (1990-1996). *Canadian Journal of Microbiology*, v. 43, p. 103-121, 1997.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G.; DE-BASHAN, L. E. *Azospirillum*-plant relationships: Physiological, molecular, agricultural, and

environmental advances (1997–2003). *Canadian Journal of Microbiology*, Canadá, v. 50, p. 521-577, 2004.

BERGAMASCHI, H. Desenvolvimento de déficit hídrico em culturas. In: BERGAMASCHI, H. (Coord.). *Agrometeorologia aplicada à irrigação*. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1992. P. 25-32.

BERGAMASCHI, H.; DALMAGO, G. A.; BERGONCI, J. I.; BIANCHI, C. A. M.; MÜLLER, A. G.; COMIRAN, F.; HECKLER, B. M. M. Distribuição hídrica no período crítico do milho e produção de grãos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 39, p. 831-39, 2004.

BERGONCI, J. I.; BERGAMASCHI, H.; ROSA, L. M. G.; SANTOS, A. O. Condutância foliar como um indicador de déficit hídrico em milho. *Revista Brasileira de Agrometeorologia*, Sete Lagoas, v. 8, n. 1, p. 27-34, 2000.

BIANCHI, C. A. M.; BERGONCI, J. I.; BERGAMASCHI, H.; DALMAGO, G. A.; HECKLER, B. M. M.; COMIRAN, F. Condutância da folha em milho cultivado em plantio direto e convencional em diferentes disponibilidades hídricas. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 37, n. 2, p. 315-322, 2007.

BORTOLINI, C. G.; SILVA, P. R. F.; ARGENTA, G.; FORSTHOFER, E. L. Sistemas de aplicação de nitrogênio e seus efeitos sobre o acúmulo de N na planta de milho. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v. 26, p. 373-380, 2002.

BOYER, J. S. Water deficits and photosynthesis. In: KOZLOWSKI, T.T. (Ed.) *Water deficit and plant growth*. London: Academic Press, 1976. p. 153-190.

BRASIL. Lei nº 6.894, de 16 de dezembro de 1980. Dispõe sobre a inspeção e fiscalização da produção e do comércio de fertilizantes, corretivos, inoculantes, estimulantes ou biofertilizantes, destinados à

agricultura, e dá outras providências. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/Leis/1980-1988/L6894.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Leis/1980-1988/L6894.htm)>. Acesso em: 20 dez 2012.

BROUWER, R. Nutritive influences on the distribution of dry matter in the plant. *Netherlands Journal of Agricultural Sciences*, Holanda, v. 10, p. 31-39, 1962.

BRUCE, W. B.; EDMEADES, G. O.; BARKER, T. C. Molecular and physiological approaches to maize improvement for drought tolerance. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, v. 53, n. 366, p. 13-25, 2002.

BURROWS, F. J., MILTHORPE, F. L. Stomatal conductance in the control of gas exchange. In: KOZLOWSKY, T.T. (Ed.) *Water deficits in plant growth*. New York: Academic Press, 1976, p. 103-152.

CAMPOSTRINI, E. *Fluorescência da clorofila a: considerações teóricas e aplicações práticas* (Apostila). 2001. 31p.

CARLESSO, R. *Influence of soil water deficits on maize growth and leaf area adjustments*. 1993. 220 f. Tese (Doutorado) – Departamento de Ciências do Solo e Culturas, Universidade Estadual de Michigan, Michigan, 1993.

CARRÉ, I. A. Biological timing in plants. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, London, v. 7, n. 6, p. 775-780, 1996.

CASANOVAS, E. M.; BARASSI, C. A.; SUELDO, R. J. *Azospirillum* inoculation mitigates water stress effects in maize seedlings. *Cereal Research Communications*, Hungria, v. 30, p. 343-50, 2002.

CHANDRASEKAR, V.; SAIRAM, R. K.; SRIVASTAVA, G. C. Physiological and biochemical responses of hexaploid and tetraploid wheat to drought stress. *Journal of Agronomy and Crop Science*, Berlin, v. 185, p. 219-227, 2000.

CHAVES, M. M; PEREIRA, J. S.; MAROCO, J.; RODRIGUES, M. L.; RICARDO, C. P. P; OSORIO, M. L; CARVALHO, I.; FARIA, T.; PINHEIRO, C. How plants cope with water stress in the field: photosynthesis and growth. *Annals of Botany*, Oxford, v. 89, p. 907-916, 2002.

COHORT SOFTWARE. *CoStat*. [www.cohort.com](http://www.cohort.com). Monterey, California. 2003.

COLLINS, C. N.; TARDIEU, F.; TUBEROSA, R. Quantitative trait loci and crop performance under abiotic stress: where do we stand? *Plant Physiology*, Estados Unidos, v. 147, p. 469-486, 2008.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento, 2012. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 20 dez. 2012.

CORLETT, J. E.; JONES, H. G.; MASSSACCI, A.; MASOJIDEK, J. Water deficit, leaf rolling and susceptibility to photoinhibition in field grown sorghum. *Physiologia Plantarum*, Reino Unido, v. 92, p. 423-430, 1994.

CORNIC, G. Drought stress inhibits photosynthesis by decreasing stomatal aperture not by affecting ATP synthesis. *Trends in Plant Science*, London, v. 5, p. 187-188, 2000.

COSTA, J. R; PINHO, J. L. N.; PARRY, M. M. Produção de matéria seca de cultivares de milho sob diferentes níveis de estresse hídrico. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, Campina Grande, v. 12, n. 5, p. 443-450, 2008.

CREUS, C. M.; GRAZIANO, M.; CASANOVAS, E. M.; PEREYRA, M. A.; SIMONTACCHI, M.; PUNTARULO, S.; BARASSI, C. A.; LAMATTINA, L. Nitric oxide is involved in the *Azospirillum* brasilense-induced lateral root formation in tomato. *Planta*, Alemanha, v. 221, p. 297-303, 2005.

CRUZ, R. F. D. *Indução e recuperação do stresse hídrico em variedades portuguesas de milho*. 2006. 182 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade do Minho, Portugal, 2006.

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*, Canadá, v. 82, p. 273-281, 2004.

DAVISON, J. Plant beneficial bacteria. *Bio/Technology*, v. 6, p. 282-286, 1988.

DEMMIG, B.; WINTER, K.; KRÜGER, A.; CZYGAN, F. C. Photoinhibition and zeaxanthin formation in intact leaves: a possible role of the xanthophyll cycle in the dissipation of excess light energy. *Plant Physiology*, Estados Unidos, v. 84, n. 2, p. 218-224, 1987.

DIAS, M. C.; BRUGGEMANN, W. Limitations of photosynthesis in *Phaseolus vulgaris* under drought stress: gas exchange, chlorophyll fluorescence and Calvin cycle enzymes. *Photosynthetica*, Olomouc, v. 48, n. 1, p. 96-102, 2010.

DÍAZ-ZORITA, M.; FERNÁNDEZ-CANIGIA, M. V. Field performance of a liquid formulation of *Azospirillum brasilense* on dryland wheat productivity. *European Journal of Soil Biology*, Holanda, v. 45, p. 3-11, 2009.

DIDONET, A. D. *Aspectos do mecanismo de ação fisiológica associada à promoção do crescimento radicular de trigo (Triticum aestivum L.) por bactérias do gênero Azospirillum*. 1993. 80 f. Tese (Doutorado em Biologia) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1993.

DIDONET, A. D.; LIMA, A. S.; CANDATEN, A. A.; RODRIGUES, O. Realocação de nitrogênio e de biomassa para os grãos em trigo submetidos à inoculação de *Azospirillum*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 35, n. 2, p. 401-411, 2000.

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

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

DOBEREINER, J.; DUQUE, F. F. Contribuição da pesquisa em FBN para o desenvolvimento do Brasil. *Revista de Economia Rural*, v.18, p.447-460, 1980.

DOBEREINER, J.; MARRIEL, J. E.; NERY, M. Ecological distribution of *Spirillum lipoferum* Beijerinck. *Canadian Journal of Microbiology*, Canadá, v. 22, p. 1464-1473, 1976.

DURÃES, F. O. M. Limitações fisiológicas do milho nas condições de plantio nas regiões tropicais baixas. 2007. Disponível em: <<http://www.infibios.com/Artigos>>. Acesso em: 27 set. 2012.

DURÃES, F. O. M.; MAGALHÃES, P. C.; GAMA, E. E. G.; OLIVEIRA, A. C. Caracterização fenotípica de linhagens de milho quanto ao rendimento e à eficiência fotossintética. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, Sete Lagoas, v. 4, n. 3, p. 355-361, 2005.

EFEUGLU, B.; EKMEKÇI, Y.; ÇIÇEK, N. Physiological responses of tree maize cultivars to drought stress and recovery. *South African Journal of Botany*, Pretoria, v. 75, p. 34-2, 2009.

EPHRATH, J. E. The effects of drought stress on leaf elongation, photosynthesis and transpiration rate in maize leaves. *Photosynthetica*, Olomouc, v. 25, n. 4, p. 607-619, 1991.

FALLIK, E.; SARIG, S.; OKON, Y. Morphology and physiology of plant roots associated with *Azospirillum*. In: OKON, Y. (ed) *Azospirillum-Plant Associations*. Boca Raton: CRC Press, 1994. p. 77-84.

FANCELLI, A.L.; DOURADO-NETO, D. *Produção de milho*. Guaíba: Agropecuária, 2000. 360p.

FANG, Z.; BOUWKAMP, J.; SOLOMOS, T. Chlorophyllase activities and chlorophyll degradation during leaf senescence in non-yellowing mutant and wild type of *Phaseolus vulgaris* L. *Journal of Experimental Botany*, Lancaster, v. 49, p. 503-510, 1998.

FERREIRA, V. M.; MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M. Produtividade de genótipos de milho (*Zea mays*, L.) sob manejo diferenciado de irrigação e adubação. *Ciência e Agrotécnica*, Lavras, v. 24, p. 663-670, 2000.

FIRMANO, R. S.; KUWAHARAI, F. A.; SOUZAI, G. M. Relação entre adubação fosfatada e deficiência hídrica em soja. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 39, n. 7, p. 1967-1973, 2009.

FURTADO, F. L.; FALAVIGNA JR, J.; APRÍGIO, A.; SANTOS, R. G. Avaliação do crescimento de plantas de milho submetidas a dois manejos da água de irrigação em solo de textura argilosa. In: XI Encontro Anual de Iniciação Científica. *Anais...*Maringá, 2002.

GENTY, B.; BRIANTAIS, J. M.; VIEIR DA SILVA, J. B. Effects of drought on primary photosynthetic processes of cotton leaves. *Plant Physiology*, Estados Unidos, v. 83, p. 360-364, 1987.

GERMAN, M. A.; BURDMAN, S.; OKON, Y.; KIGEL, J. Effects of *Azospirillum brasilense* on root morphology of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under different water regimes. *Biology and Fertility of Soils*, Itália, v. 32, p. 259-64, 2000.

GOMES, M. M. A.; Lagoa, A. M. M. A.; Medina, C. L.; Machado, E. C.; Machado, M. A. Interactions between leaf water potencial, stomatal conductance and abscisic acid content of orange trees submitted to drought stress. *Physiologia Plantarum*, Reino Unido, v. 16, n. 3, p. 155-161, 2004.

GONÇALVES, M. C.; VEGA, J.; OLIVEIRA, J. G.; GOMES, M. M. A. Sugarcane yellow leaf virus infection leads to alterations in photosynthetic efficiency and carbohydrate accumulation in sugarcane leaves. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 30, n. 1, p. 10-16, 2005.

GRZESIAK, M. T.; RZEPKA, A.; HURA, T.; HURA, K.; SKOCZOWSKI, A. Changes in response to drought stress of triticale and maize genotypes differing in drought tolerance. *Photosynthetica*, Olomouc, v. 45, p. 280-287, 2007.

HAMAOU, B.; ABBADI, J. M.; BURDMAN, S.; RASHID, A.; SARIG, S.; OKON, Y. Effects of inoculation with *Azospirillum brasilense* on chickpeas (*Cicer arietinum*) and faba beans (*Vicia faba*) under different growth conditions. *Agronomie*, França, v. 21, p. 553-560, 2011.

HAYAT, R.; ALI, S.; AMARA, U.; KHALID, R.; AHMED, I. Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. *Annals of Microbiology*, Itália, v. 60, p. 579-598, 2010.

HEATON, J. W.; LENCKI, R. W.; MARANGONI, A. G. Kinetic model for chlorophyll degradation in green tissue. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, Estados Unidos, v. 44, p. 399-402, 1996.

HOOBER, J. K.; EGGINK, L. L.; CHEN, M. Chlorophylls, ligands and assembly of light-harvesting complexes in chloroplasts. *Photosynthesis Research*, Lubbock, v. 94, p. 387-400, 2007.

HOOGENBOOM, G.; HUCK, M. G.; PETERSON, M. C. Measured and simulated drought stress effects on daily shoot and root growth

rate of soybean, *Netherlands journal of agricultural science*, Holanda, v. 34, p. 497-500, 1986.

HSIAO, T. C. Plant responses to water stress. *Annual Review of Plant Physiology*, Palo Alto, v. 24, p. 519-570, 1973.

HSIAO, T.C.; ACEVEDO, E.; FERERES, E.; HENDERSON, D.W. Stress metabolism: Water stress, growth and osmotic adjustment. *Philosophical Transactions of the Royal Society*, Londres, v. 273, p. 479-500, 1976.

HUNGRIA, M. *Inoculação com Azospirillum brasiliense: inovação em rendimento a baixo custo*. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 36p. (Documentos, 325).

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. *A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro*. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 80p. (Documentos, 283).

HUNT, S. Measurements of photosynthesis and respiration in plants. *Physiologia Plantarum*, v. 117, p. 314-325, 2003.

INMET – Instituto Nacional de Meteorologia, 2012. Disponível em: <[www.inmet.gov.br](http://www.inmet.gov.br)>. Acesso em: 05 dez. 2012.

JONES, H. G. *Plants and microlimate: a quantitative approach to environmental plant physiology*. 2. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1992. 428p.

KIM, S. H.; SICHER, R. C.; BAE, H.; GITZ, D. C.; BAKER, J. T.; TIMLIN, D.; REDDY, V. R. Canopy photosynthesis, evapotranspiration, leaf nitrogen, and transcription profiles of maize in response to CO<sub>2</sub> enrichment. *Global Change Biology*, Oxford, v. 12, p. 588-600, 2006.

KLICH, M. G. Leaf variations in *Elaeagnus angustifolia* related to environmental heterogeneity. *Environmental and Experimental Botany*, v. 44, p. 171-183, 2000.

KLOEPPER, J. W. Plant growth-promoting rhizobacteria (other systems). In: OKON, Y. (ed) *Azospirillum-Plant Associations*. Boca Raton: CRC Press, 1997. p. 137-166.

KLOEPPER, J. W.; LIFSHITZ, R.; ZABLOTOWICZ, R. M. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends in Biotechnology*, v. 7, p. 39-43, 1989.

KRAMER, P. J. Fifty years of progress in water relations research. *Plant Physiology*, Estados Unidos, v. 54, p. 463-471, 1974.

KRAMER, P. J. Water deficits and plant growth. In: KRAMER, P.J. (ed). *Water relations of plants*. New York: Academic Press, 1983. p. 342-389.

KUMAR, A.; SHARMA, K. D. Physiological responses and dry matter partitioning of summer mungbean (*Vigna radiata* L.) genotypes subjected to drought conditions. *Journal of Agronomy and Crop Science*, Berlin, v. 195, n. 4, p. 270-277, 2009.

LARCHER, W. *Ecofisiologia vegetal*. São Carlos: Editora Rima Artes e Textos, 2000. 531p.

LAW, R. D.; CRAFTS-BRANDNER, S. J. Inhibition and acclimation of photosynthesis to heat stress is closely correlated with activation of Ribulose-1,5-biphosphate carboxylase/oxygenase. *Plant Physiology*, Estados Unidos, v. 120, p. 173-182, 1999.

LEE, D. W. Simulating forest shade to study the development ecology of tropical plants: Juvenile growth in three vines in India. *Journal of Tropical Ecology*, v. 4, p. 281-29, 1988.

LICHTENTHALER, H. K. Adaptation of leaves and chloroplasts to high quanta fluence rates. In: AKOYUNOGLU, G. (ed.) *Photosynthesis VI*. Balaban International Science Service, 1981. p. 273-287.

LIU, Y.; SUBHASH, C.; YAN, J.; SONG, C.; ZHAO, J.; LI, J. Maize leaf temperature responses to drought: Thermal imaging and quantitative trait loci (QTL) mapping. *Environmental and Experimental Botany*, v. 71, p. 158-165, 2011.

LOGGINI, B.; SCARTAZZA, A.; BRUGNOLI, E.; NAVARI-IZZO, F. Antioxidative defense system, pigment composition, and photosynthetic efficiency in two wheat cultivars subjected to drought. *Plant Physiology*, v. 119, p. 1091-1099, 1999.

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

LÓPEZ, M. S.; ARAUS, J. L.; VAN HEERDEN, P. D. R.; FOYER, C. H. Enhancing drought tolerance in C4 crops. *Journal of Experimental Botany*, Lancaster, v. 62, n. 9, p. 3135-3153, 2011.

LU, C.; ZHANG, J. Effects of water stress on photosynthesis, chlorophyll fluorescence and photoinhibition in wheat plants. *Australian Journal of Plant Physiology*, Austrália, v. 25, p. 883-892, 1998.

MAGALHÃES, P. C.; ALBUQUERQUE, P. E. P.; KARAM, D.; CANTÃO, F. R. O. *Caracterização de plantas de milho sob estresse hídrico*. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2009. 6 p. (Circular Técnica 116).

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M. *Fisiologia da Produção de Milho*. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006. 10 p. (Circular Técnica, 76).

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M.; CARNEIRO, N. P.; PAIVA, E. *Fisiologia do milho*. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2002. 65 p. (Circular Técnica, 22).

MAKBUL, S.; SARUHAN GULER, N.; DURMUS, N.; GUVEN, S. Changes in anatomical and physiological parameters of soybean under drought stress. *Turkish Journal of Botany*, Turquia, v. 35, p. 369-377, 2011.

MANSFIELD, T. A.; HETHERINGTON, A. M.; ATKINSON, C. J. Some current aspects of stomatal physiology. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, v. 41, p. 55-75, 1990.

MAROCO, J. P.; RODRIGUES, M. L.; LOPES, C.; CHAVES, M. M. Limitations to leaf photosynthesis in grapevine under drought – Metabolic and modelling approaches. *Functional Plant Biology*, v. 29, p. 1-9, 2002.

MATTOS, J. L. S.; GOMIDE, J. A.; HUMAMAN, C. A. M. Crescimento de espécies do gênero *Brachiaria*, sob déficit hídrico, em casa de vegetação. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Piracicaba, v. 34, p. 746-754, 2005.

MENDES, R. M. S.; TÁVORA, F. J. A. F.; PINHO, J. L. N.; PITOMBEIRA, J. B. Relações fonte-dreno em feijão-de-corda submetido à deficiência hídrica. *Ciência Agrônômica*, Ceará, v. 38, p. 95-103, 2007.

MEYER, S.; GENTY, B. Heterogeneous inhibition of photosynthesis over the leaf surface of *Rosa rubiginosa* L. during water stress and abscisic acid treatment: induction of a metabolic component by limitation of CO<sub>2</sub> diffusion. *Planta*, Alemanha, v. 210, p. 126-131, 1999.

MILBURN, J. *Water flow in plants*. London: Longman, 1979. p 225

MOHAMMED, G. H.; BINDER, W. D.; GILLIES, S. L. Chlorophyll fluorescence: A review of its practical forestry applications and instrumentation. *Scandinavian Journal of Educational Research*, Escandinávia, v. 10, p. 383-410, 1995.

MOLLA, A. H.; SHAMSUDDIN, Z. H.; HALIMI, M. S.; MORZIAH, M.; PUTEH, A. B. Potential for enhancement of root growth and nodulation of soybean co-inoculated with *Azospirillum* and *Bradyrhizobium* in laboratory systems. *Soil Biology & Biochemistry*, Holanda, v. 33, p. 457-463, 2001.

MONNEVEUX, P.; SANCHEZ, C.; BECK, D.; EDMEADES, G. O. Drought tolerance improvement in tropical maize source populations: evidence of progress. *Crop Science*, Madison, v. 46, p. 180-191, 2006.

MUÑOZ-GARCIA, A.; CABALLERO-MELLADO, J.; VALDÉS, M. Promoción del crecimiento del maíz por cepas productoras de siderófos de *Azospirillum* y *Pseudomonas fluorescentes*. In: CONGRESO NACIONAL DE LA FIJACION BIOLOGICA DEL NITROGENO Y I ENCONTRO IBEROAMERICANO DE INVESTIGACION SOBRE FIJACION DE NITROGENO, 3., 1991, Curnavaca. *Anais...* Curnavaca, México, 1991, p. 91.

NAYYAR, H. Accumulation of osmolytes and osmotic adjustment in water-stressed wheat (*Triticum aestivum*) and maize (*Zea mays*) as affected by calcium and its antagonists. *Environmental and Experimental Botany*, Lancaster, v. 50, p. 253-264, 2003.

NASCIMENTO, S. P.; BASTOS, E. A.; ARAÚJO, E. C. E.; FREIRE FILHO, F. R.; SILVA, E. M. Tolerância ao déficit hídrico em genótipos de feijão-caupi. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, Campina Grande, v. 15, n. 8, p. 853-860, 2011.

NASCIMENTO, S. P. *Efeito do déficit hídrico em feijão caupi para identificação de genótipos com tolerância à seca*. 2009. 190 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Teresina, 2009.

NICHOLAS, S. Plant resistance to environmental stress. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 9, p. 214-219, 1998.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; SANTOS, R. C. dos; BEZERRA NETO, E.; SANTOS, V. F. dos. Comportamento fisiológico de dois cultivares de amendoim submetidos a diferentes regimes hídricos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 33, n. 12, p. 1963-1969, 1998.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; MORAES, J. A. P. V.; BURITY, H. A.; BEZERRA NETO, E. Alterações na resistência à difusão de vapor das folhas e relações hídricas em aceroleiras submetidas a déficit de água. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, Campinas, v. 13, p. 75-87, 2001.

OKON, Y.; KAPULNIK, Y. Development and function of *Azospirillum*-inoculated roots. *Plant & Soil*, v. 90, p. 3-16, 1986.

OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants. *Applied and Environmental Microbiology*, Estados Unidos, v. 63, n. 7, p. 366-370, 1997.

OLIVEIRA, A. D.; FERNANDES, E. J.; RODRIGUES, T. J. D. Condutância estomática como indicador de estresse hídrico em Feijão. *Engenharia Agrícola*, São Paulo, v. 25, p. 86-95, 2005.

ÖQUIST, G. Environmental stress and photosynthesis. In: BIGGINS, J. (ed.) *Progress in Photosynthesis Research*. Holanda: Martinus Nijhoff Publishers, 1985, p. 1-10.

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

PEREIRA, P. G.; BERGONCI, J. I.; BERGAMASCHI, H.; ROSA, L. M. G.; FRANÇA, S. Efeitos de diferentes níveis de déficit hídrico na fotossíntese e condutância foliar em milho. *Revista Brasileira de Agrometeorologia*, Santa Maria, v. 11, n. 1, p. 53-62, 2003.

PETRY, C. Adaptação de cultivares de soja a deficiência hídrica no solo. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 22, n. 1, p. 119-120, 1992.

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

PINHO, J. L. N. *Étude comparée des mécanismes physiologiques de la résistance à la sécheresse de cultivars de mil (Pennisetum americanum L.) et de sorgho [Sorghum bicolor (L.) Moench] sensibles ou résistant es.* 1992. 158 f. Tese (Doutorado) - Université Paris VII, Paris, 1992.

REID, J. B.; RENQUIST, A. R. Enhanced root production as a feed-forward response to soil water deficit in field-grown tomatoes. *Australian Journal of Plant Physiology*, Austrália, v. 24, p. 685-692, 1997.

RITCHIE, S.; HANWAY, J. J. *How a corn plant develops.* Ames: Iowa State University of Science and Technology/Cooperative Extension Service, 1989. (Special Report, 48)

RIVERS, E. D.; SHIPP, R. F. Available water capacity of sandy and gravelly North Dakota soils. *Soil Science*, Estados Unidos, v. 113, p. 74-80, 1971.

RODRIGUES, L. R.; GUADAGNIN, J. P.; PORTO, M. P. *Indicações técnicas para o cultivo de milho e de sorgho no Rio Grande do Sul: safras 2009/2010 e 2010/2011.* Veranópolis: Fepagro-Serra, 2009. 179p.

SAHA, S.; STRAZISAR, T. M.; MENGES, E. M.; ELLSWORTH, P. Z.; STERNBERG, L. S. Linking the patterns in soil moisture to leaf water potential, stomatal conductance, growth, and mortality of dominant shrubs in the Florida scrub ecosystem. *Plant & Soil*, v. 313, p. 113-127, 2008.

SAHARAN, B. S.; NEHRA, V. Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. *Life Sciences and Medicine Research*, Portland, p. 1-30, 2011.

SAIKIA, S. P.; JAIN, V.; KHETARPAL, S.; ARAVIND, S. Dinitrogen fixation activity of *Azospirillum brasilense* in maize (*Zea mays*). *Current Science*, Bangalore, v. 93, n. 9, p. 1296-1300, 2007.

SANGOI, L.; SILVA, P. R. F.; ARGENTA, G. *Estratégias de manejo do arranjo de plantas para aumentar o rendimento de grãos do milho*. Lages: Graphel, 2010b. 64p.

SANGOI, L.; SILVA, P. R. F.; ARGENTA, G.; RAMBO, L. *Ecofisiologia da cultura do milho para altos rendimentos*. Lages: Graphel, 2010a. 87p.

SANTA, O. R. D.; SOCOOL, C. R.; RONZELLI JR, P.; HERNÁNDEZ, R. F.; ALVAREZ, G. L. M.; SANTA, H. S. D.; PANDEY, A. Effects of inoculation of *Azospirillum* sp. in maize seeds under field conditions. *Food, Agriculture & Environment*, v. 2, n. 1, p. 238-242, 2004.

SANTOS, M. G.; RIBEIRO, R. V.; MACHADO, E.C.; PIMENTAL, C. Photosynthetic parameters and leaf water potencial of five common bean genotypes under mild water deficit. *Biologia Plantarum*, v. 53, n. 2, p. 229-236, 2009.

SANTOS, R. F.; CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológicos e fisiológicos das plantas. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, Campina Grande, v. 2, n. 3, p. 287-294, 1998.

SCHLOTTER, M.; HARTMANN, A. Endophytic and surface colonization of wheat roots (*Triticum aestivum*) by different *Azospirillum brasilense* strains studied with strain-specific monoclonal antibodies. *Symbiosis*, Israel, n. 25, p. 159-179, 1998.

SCHREIBER, U.; BILGER, W.; NEUBAUER, C. Chlorophyll fluorescence as a non-intrusive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis. In: SCHULZE, E. D., CALDWELL, M. M. (Eds.), *Ecophysiology of Photosynthesis*. Ecological Studies, Berlin, 1994, p. 49-70.

SHAO, H. B.; CHU, L. Y.; JALEEL, C. A.; ZHAO, C. X. Water deficit stress induced anatomical changes in higher plants. *Comptes Rendus Biologies*, França, v. 331, p. 215-225, 2008.

STENBAEK, A.; JENSEN, P. E. Redox regulation of chlorophyll biosynthesis. *Phytochemistry*, Estados Unidos, v. 71, p. 853-859, 2010.

SUN, J.; NISHIO, J. N.; VOGELMANN, T. C. Green light drives CO<sub>2</sub> fixation deep within leaves. *Plant Cell Physiology*, Oxford, v. 39, p. 1020-1026, 1998.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia Vegetal*. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

TAKAMYIA, K.; TSUCHIYA, T.; OHTA, H. Degradation pathways of chlorophyll: what has gene cloning revealed? *Trends in Plant Science*, London, v. 5, n. 10, p. 426-431, 2000.

TENHUNEN, J. D.; PEARCY, R. W.; LANGE, O. L. Diurnal variations in leaf conductance and gas exchange in natural environmental. In: ZEIGER, E.; FARQUHAR, G.D.; COWAN, I.R., (eds). *Stomatal function*. Stanford: Stanford University Press, 1987. p. 323-51.

TIEN, T. M.; GASKINS, M. H.; HUBBELL, D. H. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). *Applied and Environmental Microbiology*, v. 37, p. 1016-1024, 1979.

TILAK, K. V. B. R.; RANGANAYAKI, N.; PAL, K. K.; DE, R.; SAXENA, A. K.; NAUTIYAL, C. S.; MITTAL, S.; TRIPATHI, A. K.; JOHRI, B. N. Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria. *Current Science*, Índia, v. 89, p. 136-150, 2005.

TORRES NETTO, A.; CAMPOSTRINI, E.; OLIVEIRA, J. G.; BRESSAN-SMITH, R. E. Photosynthetic pigments, nitrogen, chlorophyll *a* fluorescence and SPAD502 readings in coffee leaves. *Scientia Horticulturae*, v. 104, p. 199-209, 2005.

TSIMILLI-MICHAEL, M.; EGGENBERG, P.; BORO, B.; KOVESPECHY, K.; VOROS, I.; STRASSER, R. J. Synergistic and antagonistic effects of arbuscular mycorrhizal fungi and *Azospirillum* and *Rhizobium* nitrogen-fixer on the photosynthetic activity of alfalfa, probed by polyphasic chlorophyll *a* fluorescence transients O-J-I-P. *Applied Soil Ecology*, v. 15, p. 169-182, 2000.

TURNER, N. C. Drought resistance and adaptation to water deficits in crop plants. In: MUSSELL, H.; STAPLLES, R.C. (eds). *Stress Physiology in Crop Plants*. New York: Willey-Interscience, 1979. p. 343-372.

VALLADARES, F.; PEARCY, R. W. Interactions between water stress, sun-shade acclimation, heat tolerance and photoinhibition in the sclerophyll *Heteromeles arbutifolia*. *Plant, Cell and Environment*, Oxford, v. 20, p. 25-36, 1997.

VEDDER-WEISS, D.; JURKEVITCH, E.; BURDMAN, S.; WEISS, D.; OKON, Y. Root growth, respiration and  $\beta$ -glucosidase activity in maize (*Zea mays*) and common bean (*Phaseolus vulgaris*) inoculated

with *Azospirillum brasilense*. *Symbiosis*, Filadélfia, v. 26, p. 363-377, 1999.

VIEIRA JÚNIOR, P. A.; DOURADO NETO, D.; OLIVEIRA, R. F.; PERES, L. E. P.; MARTIN, T. N.; MANFRON, P. A.; BONNECARRÈRE, R. A. G. Relações entre o potencial e a temperatura da folha de plantas de milho e sorgo submetidas a estresse hídrico. *Acta Scientiarum Agronomy*, Maringá, v. 29, n. 4, p. 555-561, 2007.

VOLKENBURGH, E.; BOYER, J. S. Inibitory effectsos water deficit on maize leaf elongation. *Plant Physiology*, Estados Unidos, v. 77, p. 190-194, 1985.

WEIS, E.; BERRY, J. Plants and high temperature stress. *Plants and Temperature*, Cambridge, v. 42, p. 329-346, 1988.

WELCKER, C.; BOUSSUGE, B.; BENCIVENNI, C.; RIBAUT, M.; TARDIEU, F. Are source and sink strengths genetically linked in maize plants subjected to water deficit? A QTL study of the responses of leaf growth and of Anthesis-Silking Interval to water deficit. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, v. 58, p. 339-349, 2007.

XU, Z.; ZHOU, G.; SHIMIZU, H. Are plant growth and photosynthesis limited by pre-drought following rewatering in grass? *Journal of Experimental Botany*, Oxford, v. 60, p. 3737-3749, 2009.

YAMADA, M.; HIDAKA, T.; FUKAMACHI, H. Heat tolerance in leaves of tropical fruit crops as measured by chlorophyll fluorescence. *Scientia Horticulture*, Estados Unidos, v. 67, p. 39-48, 1996.

**APÊNDICES**





Apêndice 3 - Resumo da análise de variância da condutância estomática (*gs*), temperatura foliar (temp. foliar) e conteúdo de clorofila *a* e *b* das plantas de milho do híbrido Status. Passo Fundo, 2012, Experimento 1

Causa de variação	GL	Quadrado Médio							
		<i>gs</i> (mmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )		Temp. Foliar (°C)		Clorofila <i>a</i> (ICF)		Clorofila <i>b</i> (ICF)	
Bloco	4	9244	ns	0,18	ns	3,38	ns	1,75	ns
Inoculação	1	9608	ns	0,25	ns	0,00	ns	1,76	ns
Capacidade de vaso	3	301118	***	79,03	***	69,24	***	41,1	***
Hora do dia	3	118557	***	2334,98	***	3,18	ns	3,65	ns
Inoc:CapVaso	3	2317	ns	0,29	ns	9,20	ns	3,6	ns
Inoc:Hora	3	9203	ns	3,09	ns	7,65	ns	4,78	ns
CapVaso:Hora	9	35523	**	12,54	**	7,62	ns	2,98	ns
Inoc:CapVaso:Hora	9	8835	ns	0,54	ns	8,26	ns	1,15	ns
Erro	124	11631		0,25		6,78		3,47	
Total	159								
Média		123,33		32,59		34,43		12,89	
C.V.(%)		87,45		1,52		7,57		14,46	

ns - não significativos ( $P > 0,05$ ); \*: significativo a 5% ( $P \leq 0,05$ ); \*\*: significativo a 1% ( $P \leq 0,01$ ); \*\*\*: significativo a 0,1% ( $P \leq 0,001$ ); C.V. - coeficiente de variação.

Apêndice 4 - Resumo da análise de variância da condutância estomática (*gs*), temperatura foliar (temp. foliar) e conteúdo de clorofila *a* e *b* das plantas de milho do híbrido Status. Passo Fundo, 2012, Experimento 2

Causa de variação	GL	Quadrado Médio							
		<i>gs</i> (mmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )		Temp. Foliar (°C)		Clorofila <i>a</i> (ICF)		Clorofila <i>b</i> (ICF)	
Bloco	4	43422	ns	0,45	ns	43,10	ns	10,68	ns
Inoculação	1	26071	ns	4,52	ns	36,86	ns	12,54	ns
Capacidade de vaso	3	559463	**	169,18	ns	1,46	ns	3,49	ns
Hora do dia	3	686964	**	530,79	ns	73,90	*	41,05	***
Inoc:CapVaso	3	38523	ns	1,66	ns	14,37	ns	10,44	ns
Inoc:Hora	3	2392	ns	1,00	ns	33,61	ns	10,96	ns
CapVaso:Hora	9	229858	ns	18,63	***	37,04	ns	11,08	ns
Inoc:CapVaso:Hora	9	40874,8	ns	0,35	ns	23,03	ns	2,95	ns
Erro	124	120817,9		0,04		20,26		4,71	
Total	159								
Média		243,90		28,58		27,48		10,05	
C.V. (%)		142,51		0,68		16,38		21,61	

ns - não significativos ( $P > 0,05$ ); \*: significativo a 5% ( $P \leq 0,05$ ); \*\*: significativo a 1% ( $P \leq 0,01$ ); \*\*\*: significativo a 0,1% ( $P \leq 0,001$ ); C.V. - coeficiente de variação.

Apêndice 5 - Resumo da análise de variância do conteúdo de clorofila total, fluorescência instantânea (Ft), rendimento quântico (Qy) e relação clorofila *a* e clorofila *b* (Clora:Clorb) das plantas de milho do híbrido Status. Passo Fundo, 2012, Experimento 1

Causa de variação	GL	Quadrado Médio							
		Clorofila Total (ICF)		Ft		Fv'/Fm'		Clora:Clorb	
Bloco	4	8,7	ns	210880	ns	0,0030	ns	0,018	ns
Inoculação	1	1,74	ns	26343	ns	0,0152	ns	0,040	ns
Capacidade de vaso	3	213,27	***	1721112	***	0,0326	***	0,517	***
Hora do dia	3	10,17	ns	1906695	***	6,9623	***	0,154	ns
Inoc:CapVaso	3	23,49	ns	614266	ns	0,0332	ns	0,034	ns
Inoc:Hora	3	23,66	ns	860610	ns	0,0090	ns	0,094	ns
CapVaso:Hora	9	16,67	ns	356431	ns	0,0054	ns	0,065	ns
Inoc:CapVaso:Hora	9	14,89	ns	270239	ns	0,0021	ns	0,021	ns
Erro	124	18,83		185191		0,0029		0,061	
Total	159								
Média		47,31		3581,36		0,71		2,71	
C.V.(%)		9,17		12,02		7,59		9,09	

ns - não significativos ( $P>0,05$ ); \*: significativo a 5% ( $P\leq 0,05$ ); \*\*: significativo a 1% ( $P\leq 0,01$ ); \*\*\*: significativo a 0,1% ( $P\leq 0,001$ ); C.V. - coeficiente de variação.

Apêndice 6 - Resumo da análise de variância do conteúdo de clorofila total, fluorescência instantânea (Ft), rendimento quântico (Fv'/Fm') e relação clorofila *a* e clorofila *b* (Clora:Clorb) das plantas de milho do híbrido Status. Passo Fundo, 2012, Experimento 2

Causa de variação	GL	Quadrado Médio							
		Clorofila Total (ICF)		Ft		Fv'/Fm'		Clora:Clorb	
Bloco	4	95,79	ns	39929	ns	0,0019	ns	0,299	ns
Inoculação	1	92,42	ns	488895	ns	4,6e-4	ns	0,016	ns
Capacidade de vaso	3	220,53	**	446842	ns	0,002	ns	1,038	**
Hora do dia	3	4,41	ns	4715379	***	0,003	*	0,520	ns
Inoc:CapVaso	3	48,94	ns	130543	ns	0,001	ns	0,509	ns
Inoc:Hora	3	82,64	ns	437579	ns	5,9e-4	ns	0,403	ns
CapVaso:Hora	9	84,25	ns	606730	ns	0,004	***	0,286	ns
Inoc:CapVaso:Hora	9	37,71	ns	465968	ns	7,1e-4	ns	0,193	ns
Erro	124	42,13		339625		9,916		0,200	
Total	159								
Média		37,53		3668,96		0,74		2,82	
C.V.(%)		17,30		15,88		4,26		15,90	

ns - não significativos ( $P>0,05$ ); \*: significativo a 5% ( $P\leq 0,05$ ); \*\*: significativo a 1% ( $P\leq 0,01$ ); \*\*\*: significativo a 0,1% ( $P\leq 0,001$ ); C.V. - coeficiente de variação.

Apêndice 7 - Resumo da análise de variância do diâmetro do colmo ( $\varnothing$  colmo), comprimento da maior raiz e estatura das plantas de milho do híbrido Status. Passo Fundo, 2012, Experimento 1

Causa de variação	GL	Quadrado Médio					
		$\varnothing$ Colmo (mm)		Comp. Raiz (cm)		Estatura (m)	
Bloco	4	64,29	ns	44,08	ns	227,80	ns
Inoculação	1	80,71	ns	1226,56	ns	50,29	ns
Capacidade de vaso	3	104,66	ns	112,82	ns	1940,91	***
Inoc:CapVaso	3	122,46	ns	41,76	ns	284,76	ns
Erro	148	67,47		93,93		113,01	
Total	159						
Média		15,70		54,23		1,07	
C.V.(%)		52,31		17,87		9,97	

ns - não significativos ( $P > 0,05$ ); \*: significativo a 5% ( $P \leq 0,05$ ); \*\*: significativo a 1% ( $P \leq 0,01$ ); \*\*\*: significativo a 0,1% ( $P \leq 0,001$ ); C.V. - coeficiente de variação.

Apêndice 8 - Resumo da análise de variância do diâmetro do colmo ( $\varnothing$  colmo), comprimento da maior raiz e estatura das plantas de milho do híbrido Status. Passo Fundo, 2012, Experimento 2

Causa de variação	GL	Quadrado Médio					
		$\varnothing$ Colmo (mm)		Comp. Raiz (cm)		Estatura (m)	
Bloco	4	1,266	ns	199,83	ns	0,002	ns
Inoculação	1	0,024	ns	0,023	ns	0,003	ns
Capacidade de vaso	3	2,084	ns	137,49	ns	0,078	***
Inoc:CapVaso	3	0,063	ns	19,21	ns	0,001	ns
Erro	148	2,810		98,74		0,004	
Total	159						
Média		13,54		62,37		0,92	
C.V.(%)		12,38		15,93		7,23	

ns - não significativos ( $P > 0,05$ ); \*: significativo a 5% ( $P \leq 0,05$ ); \*\*: significativo a 1% ( $P \leq 0,01$ ); \*\*\*: significativo a 0,1% ( $P \leq 0,001$ ); C.V. - coeficiente de variação.

Apêndice 9 - Resumo da análise de variância da área foliar unitária (AFU), área foliar total (AFT) e relação raiz parte aérea (R:PA) das plantas de milho do híbrido Status. Passo Fundo, 2012, Experimento 1

Causa de variação	GL	Quadrado Médio					
		AFU		AFT		R:PA	
Bloco	4	45471,26	ns	6144148,30	ns	0,0006	ns
Inoculação	1	36335,28	ns	5458498,20	ns	0,0315	ns
Capacidade de vaso	3	35959,48	ns	4606236,20	ns	0,0112	ns
Inoc:CapVaso	3	51566,48	ns	7033760,00	ns	0,0065	ns
Erro	148	47120,94		6916115,00		0,0050	
Total	159						
Média		188,12		2003,75		0,27	
C.V.(%)		115,39		131,25		26,11	

ns - não significativos ( $P>0,05$ ); \*: significativo a 5% ( $P\leq 0,05$ ); \*\*: significativo a 1% ( $P\leq 0,01$ ); \*\*\*: significativo a 0,1% ( $P\leq 0,001$ ); C.V. - coeficiente de variação.

Apêndice 10 - Resumo da análise de variância da área foliar unitária (AFU), área foliar total (AFT) e relação raiz parte aérea (R:PA) das plantas de milho do híbrido Status. Passo Fundo, 2012, Experimento 2

Causa de variação	GL	Quadrado Médio					
		AFU		AFT		R:PA	
Bloco	4	444,30	ns	63124,05	ns	0,0010	ns
Inoculação	1	112,41	ns	16801,19	ns	0,0077	ns
Capacidade de vaso	3	4700,2	ns	751009,5	**	0,0178	ns
Inoc:CapVaso	3	875,27	ns	126396,9	ns	0,0157	ns
Erro	148	1786,7		255439,6		0,0142	
Total	159						
Média		65,88		785,91		0,33	
C.V.(%)		64,16		64,31		36,08	

ns - não significativos ( $P>0,05$ ); \*: significativo a 5% ( $P\leq 0,05$ ); \*\*: significativo a 1% ( $P\leq 0,01$ ); \*\*\*: significativo a 0,1% ( $P\leq 0,001$ ); C.V. - coeficiente de variação.

Apêndice 11 - Resumo da análise de variância massa seca das raízes (MSR), colmo (MSC), folhas (MSF) e total (MST) das plantas de milho do híbrido Status. Passo Fundo, 2012, Experimento 1

Causa de variação	GL	Quadrado Médio			
		MSR (g)	MSC (g)	MSF (g)	MST (g)
Bloco	4	0,72 ns	1,09 ns	1,39 ns	7,89 ns
Inoculação	1	0,05 ns	0,23 ns	2,80 ns	2,54 ns
Capacidade de vaso	3	4,11 ***	9,15 ***	19,70 ***	93,78 ***
Inoc:CapVaso	3	1,43 ns	0,79 ns	3,82 ns	14,68 ns
Erro	148	0,59	0,75	1,79	5,69
Total	159				
Média		2,70	3,46	6,66	12,87
C.V.(%)		28,54	25,01	20,10	18,53

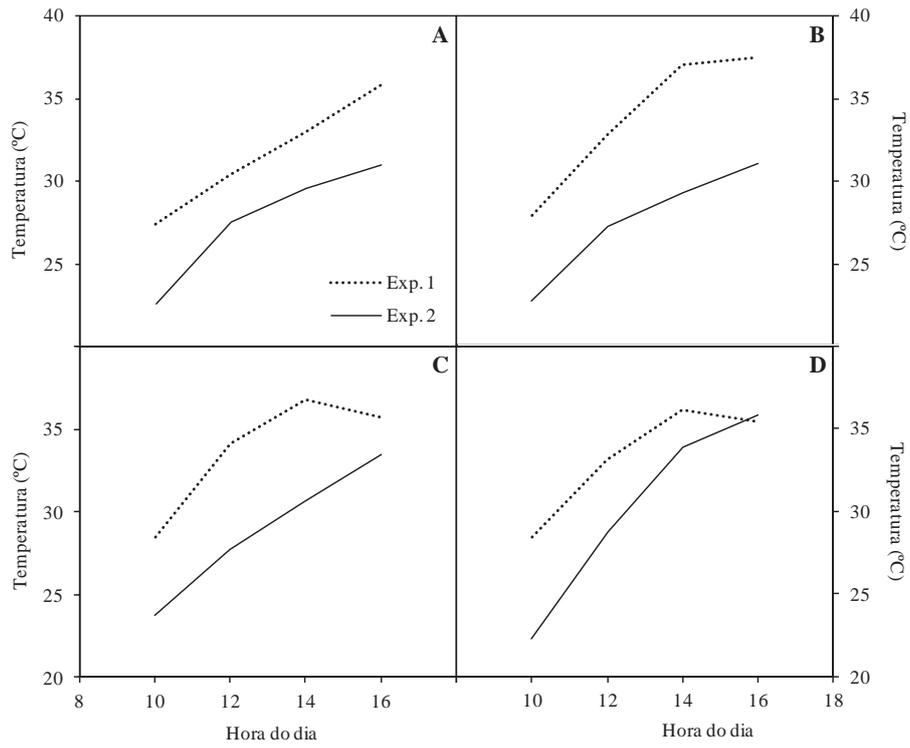
ns - não significativos ( $P > 0,05$ ); \*: significativo a 5% ( $P \leq 0,05$ ); \*\*: significativo a 1% ( $P \leq 0,01$ ); \*\*\*: significativo a 0,1% ( $P \leq 0,001$ ); C.V. - coeficiente de variação.

Apêndice 12 - Resumo da análise de variância massa seca das raízes (MSR), colmo (MSC), folhas (MSF) e total (MST) das plantas de milho do híbrido Status. Passo Fundo, 2012, Experimento 2

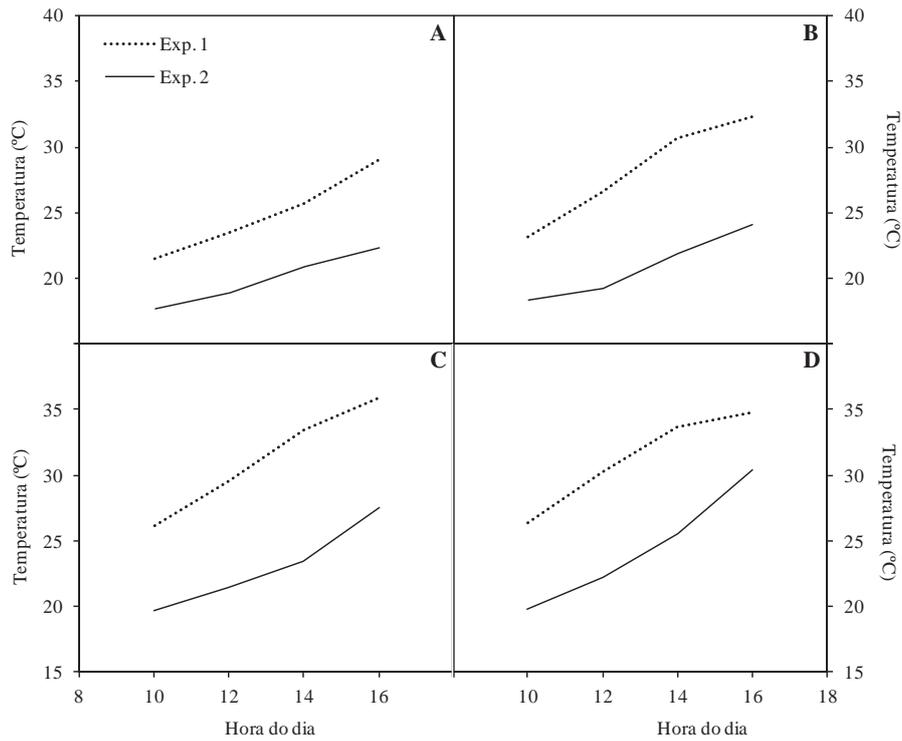
Causa de variação	GL	Quadrado Médio			
		MSR (g)	MSC (g)	MSF (g)	MST (g)
Bloco	4	0,35 ns	1,28 ns	0,17 ns	2,59 ns
Inoculação	1	0,05 ns	0,44 ns	2,79 ns	5,48 ns
Capacidade de vaso	3	4,42 ***	9,32 ***	9,36 ***	57,99 ***
Inoc:CapVaso	3	0,86 ns	0,09 ns	0,3 ns	2,21 ns
Erro	148	0,38	0,86	1,46	4,53
Total	159				
Média		2,76	3,33	5,65	11,78
C.V.(%)		22,36	27,83	21,38	18,05

ns - não significativos ( $P > 0,05$ ); \*: significativo a 5% ( $P \leq 0,05$ ); \*\*: significativo a 1% ( $P \leq 0,01$ ); \*\*\*: significativo a 0,1% ( $P \leq 0,001$ ); C.V. - coeficiente de variação.

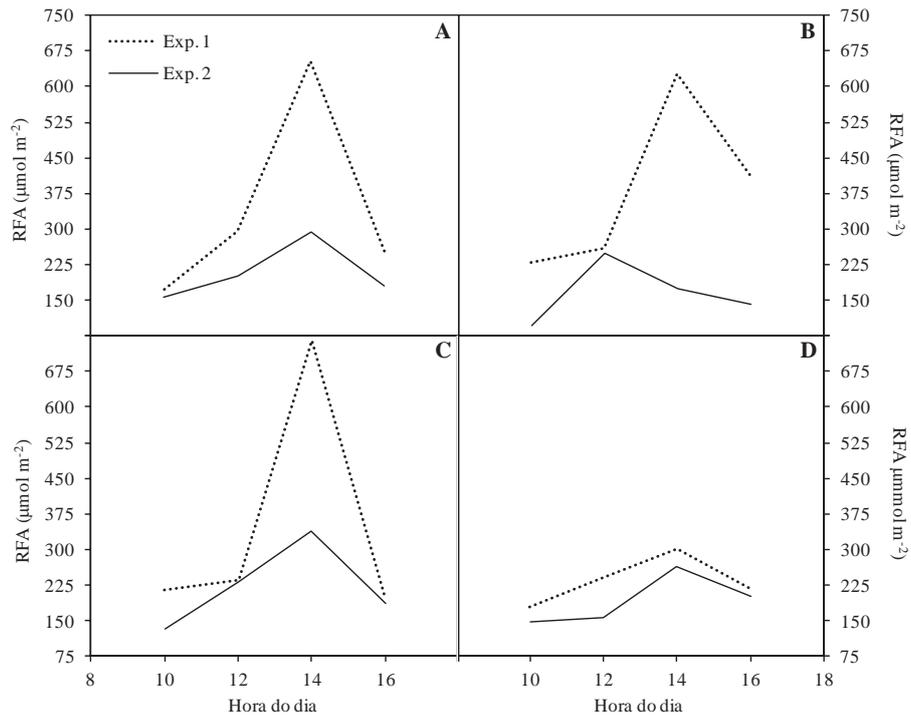
Apêndice 13 - Temperatura média no interior da casa de vegetação, durante os dois períodos experimentais, com relação à hora do dia em cada dia de avaliação: (A) 06/02/12 (Exp. 1) e 30/03/12 (Exp. 2); (B) 07/02/12 (Exp. 1) e 31/03/12 (Exp. 2); (C) 08/02/12 (Exp. 1) e 01/04/12 (Exp. 2); (D) 09/02/12 (Exp. 1) e 02/04/12 (Exp. 2). Passo Fundo, 2012



Apêndice 14 - Temperatura média do solo, durante os dois períodos experimentais, com relação a hora do dia em cada dia de avaliação: (A) 06/02/12 (Exp. 1) e 30/03/12 (Exp. 2); (B) 07/02/12 (Exp. 1) e 31/03/12 (Exp. 2); (C) 08/02/12 (Exp. 1) e 01/04/12 (Exp. 2); (D) 09/02/12 (Exp. 1) e 02/04/12 (Exp. 2). Passo Fundo, 2012



Apêndice 15 - Radiação fotossinteticamente ativa (RFA) média da casa de vegetação, com relação a hora do dia em cada dia de avaliação: (A) 06/02/12 (Exp. 1) e 30/03/12 (Exp. 2); (B) 07/02/12 (Exp. 1) e 31/03/12 (Exp. 2); (C) 08/02/12 (Exp. 1) e 01/04/12 (Exp. 2); (D) 09/02/12 (Exp. 1) e 02/04/12 (Exp. 2). Passo Fundo, 2012



Apêndice 16 - Temperatura média do ar, durante os dois períodos experimentais, com relação à capacidade de vaso de cada dia de avaliação: (100%) 06/02/12 (Exp. 1) e 30/03/12 (Exp. 2); (95%) 07/02/12 (Exp. 1) e 31/03/12 (Exp. 2); (90%) 08/02/12 (Exp. 1) e 01/04/12 (Exp. 2); (85%) 09/02/12 (Exp. 1) e 02/04/12 (Exp. 2). Fonte: INMET. Passo Fundo, 2012

