

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA 'JULIO DE MESQUITA FILHO'
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

**AVALIAÇÕES FISIOLÓGICAS DE SORGO SACARINO
INOCULADO COM *Azospirillum brasilense* EM FUNÇÃO DA
ADUBAÇÃO NITROGENADA E REGULADORES VEGETAIS**

CLEBER JUNIOR JADOSKI

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP - Câmpus de Botucatu, para a obtenção de título de Doutor em Agronomia (Agricultura).

BOTUCATU-SP

Dezembro - 2015

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA ‘JÚLIO DE MESQUITA FILHO’
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**AVALIAÇÕES FISIOLÓGICAS DE SORGO SACARINO
INOCULADO COM *Azospirillum brasilense* EM FUNÇÃO DA
ADUBAÇÃO NITROGENADA E REGULADORES VEGETAIS**

CLEBER JUNIOR JADOSKI

Orientador: Prof. Dr. João Domingos Rodrigues

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP - Câmpus de Botucatu, para a obtenção de título de Doutor em Agronomia (Agricultura).

BOTUCATU-SP

Dezembro – 2015

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - DIRETORIA TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

J21a Jadoski, Cleber Junior, 1983-
Avaliações fisiológicas de sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense* em função da adubação nitrogenada e reguladores vegetais / Cleber Junior Jadoski. - Botucatu : [s.n.], 2015
ix, 87 f. : grafs., tabs.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu, 2015
Orientador: João Domingos Rodrigues
Inclui bibliografia

1. Sorgo sacarino - Inoculação. 2. Sorgo sacarino - Fisiologia. 3. Fertilizantes nitrogenados. 4. Plantas - Reguladores. I. Rodrigues, João Domingos. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Câmpus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônomicas. III. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "AVALIAÇÕES FISIOLÓGICAS DO SORGO SACARINO INOCULADO COM *Azospirillum brasiliense* EM FUNÇÃO DA ADUBAÇÃO NITROGENADA E REGULADORES VEGETAIS"

AUTOR: CLEBER JUNIOR JADOSKI

ORIENTADOR: Prof. Dr. JOÃO DOMINGOS RODRIGUES

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM AGRONOMIA (AGRICULTURA), pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. JOÃO DOMINGOS RODRIGUES

Departamento de Botânica / Instituto de Biociências de Botucatu


Profa. Dra. AMANDA CRISTINA ESTEVES AMARO

FAEF - Faculdade de Ensino Superior e Formação Integral


Profa. Dra. RÚBIA RENATA MARQUES

Departamento De / Universidade Católica Dom Bosco


Profa. Dra. ELIZABETH ORIKA ONO

Departamento de Botânica / Instituto de Biociências de Botucatu


Profa. Dra. CARMEN SILVIA FERNANDES BOARO

Departamento de Botânica / Instituto de Biociências de Botucatu

Data da realização: 22 de dezembro de 2015.

DEDICATÓRIA

Dedico essa tese aos meus pais, Orlei e Ilza pelo apoio e incentivo em todas as vezes que busquei pelos meus ideais.

Ao meu irmão Sidnei, minha cunhada Rudinez, sobrinhos Guilherme, Arthur e Leonardo, pelo incentivo em cada etapa deste trabalho.

Aos meus queridos tios Enny Jadoski e Carlos Carter por sempre me estimularem e por participarem da minha criação.

Dedico especialmente à minha esposa Ana Carolina, pela parceria desde o início deste projeto, com apoio incondicional em todos os momentos, pelo carinho e compreensão no dia a dia.

Aos meus sogros Eliane e Márcio e ao meu cunhado Guilherme, por estarem ao meu lado e considerarem a importância deste projeto desde o início da sua execução.

A toda a família Demarchi, em especial Adriana, Milene, Fabiano, Marlon e Marlene pelo incentivo e carinho que me receberam.

AGRADECIMENTOS

Ao meu Bom Deus, por Ele todas as coisas foram feitas, tudo d'Ele provém e sem Ele nada subsiste.

Ao Prof. Dr. João Domingos Rodrigues pela orientação e amizade;

Ao Prof. Dr. Rogério Peres Soratto pela amizade e ensinamentos;

À Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp de Botucatu, por ter me acolhido na graduação e pós-graduação, além de propiciar belas amizades.

À Universidade Católica Dom Bosco, de Campo Grande- MS, por ter permitido realizar a pesquisa em sua área experimental.

Aos amigos da graduação da UCDB pela colaboração nas avaliações do estudo, em especial, Lucas de Carvalho Cardoso, William Fonseca Longatto e Johnny de Sousa Cardoso, pela colaboração nas avaliações.

A todos os meus colegas, em especial Rúbia Renata Marques pela oportunidade e confiança.

À Terezinha e Roberto de Lucca e família por me receberem sempre com carinho em vossa casa, ao respeito por mim e estímulo.

Aos meus amigos de Pós-graduação, pelo companheirismo de sempre.

E a todos aqueles que, de alguma maneira, contribuíram para a realização desta pesquisa.

Muito obrigado!

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	VI
LISTA DE FIGURAS	VIII
RESUMO	1
SUMMARY	3
3 INTRODUÇÃO.....	5
4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	8
4.1 Taxonomia e morfologia do sorgo.....	8
4.2 Bactérias fixadoras de nitrogênio.....	10
4.3 A nitrato redutase e a metabolização do nitrogênio.....	16
4.4 Biorregulador e reguladores vegetais	17
4.5 Assimilação de CO ₂	21
5 MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
5.1 Localização	23
5.2 Avaliações de trocas gasosas	25
5.3 Área foliar e matéria seca	26
5.4 Qualidade da matéria prima	27
4.5 Análise estatística	29
6 RESULTADO E DISCUSSÃO.....	30
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	67
8 CONCLUSÕES	69
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Características químicas do solo. Campo Grande, MS, 2014/15.....24
- Tabela 2. Valores de coeficiente de correlação de Pearson entre carboxilação de CO₂ (*A*), condutância estomática (*gs*), concentração interna de CO₂ (*Ci*), transpiração (*E*), eficiência fotossintética (*A/Ci*) e eficiência do uso da água (*EUA*) em sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense* aos 16, 46 e 81 dias após a emergência (DAE). Campo Grande, MS, 2014/15.....32
- Tabela 3. Quadrados médios das análises de variância e níveis de significância, médias e coeficientes de variação referentes à assimilação de CO₂ (*A*), concentração interna de CO₂ (*Ci*), condutância estomática (*gs*) e transpiração (*E*), eficiência da carboxilação (*A/Ci*) e eficiência do uso da água (*EUA*) aos 16, 46 e 81 dias após a emergência (DAE), foliar em função dos tratamentos de concentrações de N e concentrações de biorregulador, em sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense*. Campo Grande, MS, 2014/15.....33
- Tabela 4. Análise de regressão para o componente de transpiração *E* em concentrações de biorregulador através diferentes níveis de adubação nitrogenada, aos 16, 46 e 81 DAE em plantas de sorgo sacarino inoculadas com *Azospirillum brasilense*. Campo Grande, MS, 2014/15.....51
- Tabela 5. Quadrados médios das análises de variância e níveis de significância, médias e coeficientes de variação referentes ao índice Spad aos 16,46 e 81 DAE, foliar em função dos tratamentos de concentrações de N e concentrações de biorregulador, em sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense*. Campo Grande, MS, 2014/15.....55
- Tabela 6. Coeficiente de regressão entre os tratamentos de concentrações de Nitrogênio aos 16, 46 e 81 DAE em plantas de sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense* para o índice Spad. Campo Grande, MS, 2014/15.....56
- Tabela 7. Índice Spad em função do coeficiente de regressão entre os tratamentos de concentrações de Nitrogênio e de concentrações de biorregulador aos 16, 46 e 81

DAE em plantas de sorgo sacarino inoculado com <i>Azospirillum brasilense</i> . Campo Grande, MS, 2014/15.....	57
Tabela 8. Quadrados médios das análises de variância e níveis de significância, médias e coeficientes de variação referentes a área foliar determinado aos 70 DAE, em função dos tratamentos de concentrações de N e concentrações de biorregulador, em sorgo sacarino inoculado com <i>Azospirillum brasilense</i> . Campo Grande, MS, 2014/15.....	58
Tabela 9. Quadrados médios das análises de variância e níveis de significância, médias e coeficientes de variação referentes a POL%, AR% e ATR%, em função dos tratamentos de concentrações de N e concentrações de biorregulador, em sorgo sacarino inoculado com <i>Azospirillum brasilense</i> . Campo Grande, MS, 2014/15.....	62
Tabela 10. Coeficiente de regressão para açúcares redutores (AR%) aos 90 DAE, onde (Y_0) entre os tratamentos concentrações de biorregulador (x) em concentrações de Nitrogênio (kg ha^{-1}) em plantas de sorgo sacarino inoculado com <i>Azospirillum brasilense</i> . Campo Grande, MS, 2014/15.....	64

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Cálculo da constante da curva padrão de glicose (ABS= absorvância).....28
- Figura 2. Efeito de concentrações de Nitrogênio (0, 40, 80, 120, 160 kg ha⁻¹) na assimilação de CO₂ (A, $\mu\text{molm}^2\text{s}^{-1}$) aos 16, 46 e 81 DAE em plantas de sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense* (* $p \leq 0,05$).....34
- Figura 3. Efeito de concentrações do biorregulador (300, 400, 500 e 600 mL ha⁻¹) na assimilação de CO₂ (A, $\mu\text{molm}^2\text{s}^{-1}$) aos 16, 46 e 81 DAE em plantas de sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense* submetidas a diferentes concentrações de adubação nitrogenada no solo (0, 40, 80, 120, 160 kg ha⁻¹). Significativo $p \leq 0,05$36
- Figura 4. Efeito de concentrações de Nitrogênio (0, 40, 80, 120, 160 kg ha⁻¹) na Condutância estomática (gs, $\text{mmol m}^2 \text{s}^{-1}$) aos 16, 46 e 81 DAE em plantas de sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense* (* $p \leq 0,05$).....38
- Figura 5. Efeito de concentrações de biorregulador (300, 400, 500 e 600 mL ha⁻¹) na Condutância estomática (gs, $\text{mmol m}^2 \text{s}^{-1}$) aos 16, 46 e 81 DAE em plantas de sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense*, submetidas a diferentes concentrações de adubação nitrogenada no solo (0, 40, 80, 120, 160 kg ha⁻¹). Significativo $p \leq 0,05$40
- Figura 6. Efeito de níveis doses de Nitrogênio (0, 40, 80, 120, 160 kg ha⁻¹) na Concentração interna de CO₂ (Ci, μmolmol^{-1}) aos 16, 46 e 81 DAE em plantas de sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense* (* $p \leq 0,05$).....42
- Figura 7. Efeito de concentrações de biorregulador (300, 400, 500 e 600 mL ha⁻¹) na Concentração interna de CO₂ (Ci, μmolmol^{-1}) aos 16, 46 e 81 DAE em plantas de sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense* submetidas a diferentes doses de níveis adubação nitrogenada no solo (0, 40, 80, 120, 160 kg ha⁻¹). Significativo $p \leq 0,05$44
- Figura 8. Efeito de concentrações de Nitrogênio (0, 40, 80, 120, 160 kg ha⁻¹) na Eficiência Carboxilativa (A/Ci) aos 16, 46 e 81 DAE em plantas de sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense* (* $p \leq 0,05$).....47

- Figura 9. Efeito de concentrações de biorregulador (300, 400, 500 e 600 mL ha⁻¹) na Eficiência Carboxilativa (A/Ci), aos 16, 46 e 81 DAE em plantas de sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense* submetidas a diferentes concentrações de adubação nitrogenada no solo (0, 40, 80, 120, 160 kg ha⁻¹). Significativo $p \leq 0,05$48
- Figura 10. Efeito de concentrações de Nitrogênio (0, 40, 80, 120, 160 kg ha⁻¹) na Eficiência do Uso da Água (EUA($\mu\text{molCO}_2(\text{molH}_2\text{O})$)), aos 16, 46 e 81 DAE em plantas de sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense* (* $p \leq 0,05$).....53
- Figura 11. Efeito de concentrações de biorregulador (300, 400, 500 e 600 mL ha⁻¹) na Eficiência do Uso da Água (EUA($\mu\text{molCO}_2(\text{molH}_2\text{O})$)), aos 16, 46 e 81 DAE em plantas de sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense* submetidas a diferentes concentrações de adubação nitrogenada no solo (0, 40, 80, 120, 160 kg ha⁻¹). Significativo $p \leq 0,05$54
- Figura 12. Efeito de concentrações de biorregulador (300, 400, 500 e 600 mL ha⁻¹) na área foliar determinada aos 70 DAE em plantas de sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense* submetidas a diferentes concentrações de adubação nitrogenada no solo (0, 40, 80, 120, 160 kg ha⁻¹). Significativo $p \leq 0,05$59
- Figura 13. Efeito de concentrações de biorregulador (300, 400, 500 e 600 mL ha⁻¹) na área foliar determinada aos 70 DAE em plantas de sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense* submetidas a diferentes concentrações de adubação nitrogenada no solo (0, 40, 80, 120, 160 kg ha⁻¹). Significativo $p \leq 0,05$60
- Figura 14. POL % em sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense* em relação aos concentrações de nitrogênio. Significativo $p \leq 0,05$62
- Figura 15. ATR em sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense* em relação à doses de nitrogênio. Significativo $p \leq 0,05$65

RESUMO

O sorgo sacarino é uma cultura que vem ganhando destaque na cadeia produtiva da sacarose, contudo, com alto consumo de fertilizantes nitrogenados. No que se refere ao rendimento de sacarose pelo sorgo sacarino pode-se afirmar que alguns fatores ainda devem ser avaliados para aumentar as perspectivas de sucesso, dentre eles o aumento da produtividade e a redução nos custos de produção. Existe interação entre a cultura, elementos biológicos e o manejo, nesse último, a aplicação de mistura de reguladores vem apresentando resultados significativos nos processos metabólicos das plantas, além do aumento da produtividade. Biorreguladores são misturas de reguladores vegetais, que afetam o metabolismo vegetal, cuja ação trará benefícios aos cultivos, melhorando a qualidade e incrementando a produção. A fotossíntese possui relação direta na produtividade das plantas e é um dos processos afetados pelo metabolismo do nitrogênio. A assimilação deste nutriente destaca-se como um dos principais fatores limitantes para produção vegetal. Processos biológicos de fixação de N por organismos procariontes podem tornar os processos produtivos mais eficientes. Neste contexto a bactéria *Azospirillum brasilense* mostra-se promissora à fornecer nitrogênio e diminuir os custos com fertilizantes nitrogenados. Baseado nos efeitos fisiológicos que os biorreguladores desenvolvem nas plantas, em função do seu modo de ação no metabolismo fotossintético, este trabalho teve por objetivo avaliar as respostas fisiológicas de sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense* decorrentes da adubação nitrogenada e reguladores vegetais. O experimento constituiu-se de parcelas subdivididas e distribuídas em blocos, ao acaso, com quatro repetições. As subparcelas corresponderam a uma linha na parcela principal, alternadas por uma linha de bordadura. Os tratamentos foram constituídos de níveis de nitrogênio (0, 40, 80, 120 e 160 kg ha⁻¹) nas parcelas principais aos 10 dias após a emergência (DAE) e nas subparcelas níveis do bioestimulante, produto comercial Stimulate[®] (0, 300, 400, 500 e 600 mL ha⁻¹) aplicado aos 15 DAE, na cultura de sorgo sacarino cultivar BRS 505 da Embrapa, inoculado com *Azospirillum brasilense*. Avaliou-se as variáveis de trocas gasosas (*A*, *gs*, *Ci*, *E*) e as variáveis estimadas de *EUA*, *A/Ci* e índice SPAD aos 16, 46 e 81 DAE, área foliar aos 70 DAE, massa de matéria seca aos 90 DAE. A colheita foi realizada aos 90 DAE e os colmos foram preparados para a determinação do POL%, AR% e ART kg t⁻¹. A aplicação do biorregulador na dose de 440,7 ml ha⁻¹ apresentou a maior eficiência fotossintética até os 46 DAE. Nas condições

experimentais o tratamento com regulador vegetal não apresentou efeito no aumento da produção de açúcar total recuperável. O biorregulador apresentou sinergia com os tratamentos de adubação nitrogenada, ocasionando incremento no desenvolvimento das características fenológicas: área foliar e massa de matéria seca da cultura. Conclui-se que a ação do biorregulador não influenciou na produção de açúcares pela planta, entretanto se mostrou um bom candidato a diminuir os custos na adubação nitrogenada da cultura, por melhorar a eficiência fotossintética tanto em plantas de sorgo sacarino em que o N metabolizado foi oriundo da inoculação com *Azospirillum brasilense* ou da adubação nitrogenada.

REVIEWS PHYSIOLOGICAL SORGHUM SACCHARINE INOCULATED WITH *Azospirillum brasilense* IN FUNCTION OF FERTILIZER NITROGEN AND VEGETABLES REGULATORS Botucatu, 2015. 87p. Tese (Doutorado em Agronomia/Agricultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: CLEBER JUNIOR JADOSKI

Advisor: JOÃO DOMINGOS RODRIGUES

SUMMARY

Sweet sorghum is a prominent culture that has gained in the production chain of sucrose, however, with high consumption of nitrogen fertilizers. As regards income sucrose for sweet sorghum can be said that some factors still need to be evaluated to increase the prospects for success, including increased productivity and reduction in production costs. There is interaction between culture, biological elements and management, in the latter, the application of plant growth regulators has shown significant results in the metabolic processes of plants, and increased productivity. Photosynthesis has direct bearing on the productivity of plants and is one of the processes affected by nitrogen metabolism. The assimilation of this nutrient stands out as one of the main limiting factors for crop production. Biological processes N fixation by prokaryotic organisms can make more efficient production processes. In this context the *Azospirillum brasilense* bacteria is promising to provide nitrogen and reduce the cost of nitrogen fertilizers. Based on the physiological effects that bioregulators develop the plants, depending on their mode of action in the photosynthetic metabolism, this study aimed to evaluate the physiological responses of sorghum inoculated with *Azospirillum brasilense* resulting from nitrogen and plant growth regulators fertilization. The experiment consisted of split plots and distributed in blocks at random, with four repetitions. The subplots correspond to a line in the main plot, alternating by a line boundary. The treatments consisted of nitrogen levels (0, 40, 80, 120 e 160 kg ha⁻¹), the main plots at 10 days after emergence (DAE) and the subplots levels bioregulator, commercial product Stimulate® (0, 300, 400, 500 e 600 mL ha⁻¹) applied at 15 DAE, the sorghum crop BRS 505 Embrapa inoculated with *Azospirillum brasilense*. Were evaluated the variables of gas exchange (A , g_s , C_i , E) and the variables

estimated efficiency of water use, photosynthetic efficiency and SPAD index at 16, 46 and 81 DAE, leaf area at 70 DAE, dry matter at 90 DAE. Plants were harvested at 90 DAE and the stalks were prepared for the determination of POL% RA% and TRS kg t⁻¹. The application of plant growth regulator at a dose of 440.7 ml ha⁻¹ had the highest photosynthetic efficiency up to 46 DAE. Under the experimental conditions the treatment plant growth regulator has no significant effect on the increase of total recoverable sugar production. The plant growth regulator showed synergy with nitrogen fertilization treatments, leading to increase in the development of phenological characteristics leaf area and dry matter of crop. Concludes that the action of the bioregulators did not influence the production of sugars by the plant, though it showed a good candidate to reduce the costs of nitrogen fertilizer in culture, to improve the photosynthetic efficiency in both sorghum plants in the N metabolized was derived from the inoculation with *Azospirillum brasilense* and nitrogen fertilization.

Keywords: Inoculation, kinetin, photosynthetic efficiency, synergy, total recoverable sugar.

3 INTRODUÇÃO

O sorgo sacarino (*Sorghum bicolor* Moench) é a denominação dada ao sorgo com aptidão de produção e acúmulo de sacarose no colmo, chegando a quantidades próximas às da cana de açúcar.

O sorgo, pertence à família Poaceae e estima-se que seu centro de origem seja na região onde se encontram os países Sudão e Etiópia, localizados no continente Africano e que aparentemente, foi difundido pelo mundo através dos nativos africanos por ocasião da escravidão. É cultivado na maior parte das regiões tropicais e subtropicais, é o quinto cereal mais produzido no mundo (MOREIRA, 2011).

É considerada uma cultura com balanço energético positivo, destacando-se como matéria-prima promissora para a geração de bioenergia, devido ao elevado teor de fibras e açúcares fermentáveis, que pode ser explorada em larga escala e com grande adaptabilidade a diversas condições de clima e solo (SANTOS et al., 2014). Além disso, o ciclo curto de produção (seis meses para elevado rendimento de biomassa) e a menor exigência em água comparado a cana-de-açúcar e milho favorece o sorgo que apresenta melhor eficiência energética (NAGAI AH et al., 2012; SERNA-SALDÍVAR et al., 2012).

O estudo realizado durante dois anos por Teixeira et al. (1999), evidenciou o potencial produtivo do sorgo sacarino. Características de cultivo como o ciclo de 120 a 130 dias, rendimento de 48 t ha⁻¹ e açúcares redutores em 5,6%, ATR de 96,3 kg

t^{-1} , assim como rendimento de álcool anidro de $62,4 L t^{-1}$, comparado com à cultura da cana-de-açúcar com o ciclo variavel em cana de ano e rendimento de $85t ha^{-1}$, revelando açúcares redutores em 1,5%, ATR de $152,4 kg t^{-1}$ e rendimento de álcool anidro de $82 L t^{-1}$ ressaltam expectativas de sucesso do cultivo da cultura do sorgo (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, 2014).

Concomitantemente ao rendimento de sacarose pelo sorgo sacarino, pode-se afirmar que alguns fatores ainda devam ser avaliados para aumentar as perspectivas de sucesso, dentre eles o aumento de produtividade e a redução nos custos de produção da cultura. O elevado custo dos fertilizantes entre os fatores, é um gargalo que estreita a relação custo/benefício do cultivo de sorgo sacarino e a geração de açúcar e álcool (MOURA et al., 2005).

O nitrogênio é um nutriente que embora abundante na atmosfera, a planta o metaboliza apenas na forma nítrica e amoniacal. Os fertilizantes nitrogenados possuem elevado custo, e a reserva da biosfera provém da atmosfera. Na forma molecular não pode ser diretamente assimilado pelas plantas. Contudo processos biológicos de fixação de N por organismos procariontes tornam isso possível. A proliferação de bactérias presentes no solo aderidas à superfície das raízes foram descobertas no início do século XIX, juntamente com a descoberta da fixação de nitrogênio (MOREIRA, 2007).

Neste contexto o uso de bactérias fixadoras de nitrogênio trouxeram benefícios para a produção de diversas culturas, como a soja (*Glicine max* (L.) Merrill). Assim, quando as bactérias fixadoras de nitrogênio são inoculadas às sementes, existe um potencial de liberação de aproximadamente $150 kg de N ha^{-1}$ ao longo do ciclo da cultura. Outra vantagem é a disponibilidade do nutriente de acordo com as necessidades de cada fase do ciclo, aumentando a eficiência metabólica da planta e a produtividade (ARAÚJO; HUNGRIA, 1999).

Os biorreguladores são substâncias ou mistura delas que podem ser aplicadas diretamente nos vegetais, promovendo alterações nos processos vitais e estruturais, possibilitando o incremento nos teores de sacarose, tempo de maturação e aumento na produtividade (CASILLAS et al., 1986).

Os biorreguladores são eficientes quando aplicadas em pequenas doses favorecendo o crescimento e o desenvolvimento da planta, mesmo sob

características ambientais desfavoráveis, pois, funcionam como ativadores de metabolismo, potencializando o sistema imunológico, regulam os processos fisiológicos nas diferentes fases do desenvolvimento, estimulam o crescimento radicular, induzem o desenvolvimento de novos tecidos, etc (Silva et al., 2010).

Sabendo-se que o sorgo sacarino é uma cultura que vem ganhando destaque na cadeia produtiva da sacarose, contudo com alto consumo de fertilizantes nitrogenados, e que o *Azospirillum brasilense* é uma bactéria fornecedora de nitrogênio de baixo custo, e que ainda o uso de biorregulador é capaz de melhorar o metabolismo vegetal, torna-se necessário avaliar os efeitos da inoculação com *Azospirillum brasilense* e em diferentes doses da adubação nitrogenada, e do biorregulador Stimulate[®], na fotossíntese e produção de açúcar total recuperável e ainda relacionar as doses do biorregulador em diferentes níveis de adubação nitrogenada com o comportamento das características fenológicas: índice de área foliar e massa de matéria seca das plantas.

Portanto, a hipótese deste trabalho é que a ação fisiológica do produto à base do biorregulador Stimulate[®] com interação à adubação nitrogenada tenha efeito no metabolismo fotossintético, aumentando a produção de açúcar total recuperável em plantas de sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense*.

O objetivo do corrente trabalho foi avaliar as respostas fisiológicas de sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense* decorrentes da adubação nitrogenada e reguladores vegetais.

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 Taxonomia e morfologia do sorgo

O sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) é originário do continente Africano, cultivado para a alimentação humana, animal, obtenção de fibras e combustível. É uma planta sacarina, que está entre as plantas que possuem a eficiente forma de acumular biomassa pelo o metabolismo fotossintético C₄, compreendendo especializações morfológicas e bioquímicas que aumentam a taxa de assimilação de carbono (PATERSON et al., 2009). A assimilação carboxilativa pode variar entre 30 a 100mg dm⁻²h⁻¹CO₂, dependendo da época de cultivo, estágio fenológico e clima (RATNAVATI; DAYAKAR; SEETHARAMA, 2003).

O sorgo sacarino possui pequeno genoma, compreendendo 730 Mb, diploide com 10 pares de cromossomos, apresentando similaridade com o genoma da cana-de-açúcar (DOGGET, 1988; HABINDAVYI, 2009). O sorgo tem sido identificado como uma espécie fonte de genes benéficos para a agricultura, envolvidos com a síntese de celulose, hemicelulose, lignina e acúmulo de carboidratos (DAMASCENO, 2011).

No trabalho de Harlan e de Wet (1972) o sorgo é descrito como pertencente à família Poacea e na antiga classificação dos vegetais (CRONQUIST), pertencente à tribo Andropogonae, que tem como centro de origem e variabilidade a região de Katanga (Congo). O sorgo é classificado em quatro raças (Bicolor, Guinea, Caudatum, Durra e Kafir), sendo as raças intermediárias correspondentes às combinações que foram

identificadas de acordo com os traços morfológicos da panícula, gluma e cor de grãos (HARLAN; DE WET, 1972).

A taxonomia do sorgo passou por várias modificações desde sua descrição por Linnaeus em 1753. Primeiro por Snowden em 1936, seguido por Harlan e de Wet em 1972 (ICRISAT, 2008). HabindavyI (2009) descreve que a determinação do grau de expressão entre os traços morfológicos e suas combinações são muito subjetivas e sutis, o que torna a identificação das raças complicadas.

Classifica-se taxonomicamente o sorgo segundo o APG III (Angiosperm Phylogeny Group III) (United States Department of Agriculture, 2015) da seguinte forma:

Reino: Plantae

Subreino: Tracheobionta

Superdivisão: Spermatophyta

Divisão: Magnoliophyta

Classe: Liliopsida

Ordem: Poales

Família: Poaceae

Gênero: *Sorghum* Moench

Espécie: *Sorghum bicolor* (L.) Moench

O sorgo é uma planta de dias curtos e anual, com o limbo foliar plano, caule rígido e que não possui rizomas. As flores estão posicionadas em forma de panícula aberta e de racemos curtos. Com o amadurecimento das sementes maduras a panícula pode cair. As cores das glumas variam de vermelho ou castanho avermelhado ao amarelo, os grãos são predominantemente vermelhos ou castanhos avermelhados (KEARNEY; PEEBLES, 1969; BARKWORTH, 2003).

A inflorescência do sorgo é do tipo panícula, que se constitui de um eixo central ou ráquis, de onde partem eixos secundários nos quais se localizam as espiguetas aos pares, sendo uma sésil e outra pedicelada. A ráquis pode ser longa ou curta,

com diferenças em espessura, quantidade de tricomas e estrias. Da constituição das espiguetas pediceladas estão duas glumas, onde estão inseridas duas flores, a masculina com três estames na posição superior com conjunto de lema e pálea, e uma flor estéril na inferior que contém apenas uma gluma. A espiguetas séssil constitui-se de duas flores, a primeira fértil com duas glumas e conjunto de lema e pálea, duas lodículas, três estames e um pistilo (ovário, estilo e estigma), (DURÃES, 2014).

O sorgo possui filotaxia dística alterna com folhas lanceoladas anfiestomática. Segundo Durães (2014) possui folhas eretas quando jovens, tendendo à horizontalidade a partir do momento que atingem o crescimento máximo, que pode chegar a 1,35 m.

O sistema radicular do sorgo é composto por duas formações: a primeira são as raízes seminais ou primárias, que podem ser constituídas por uma ou mais raízes pouco ramificadas, que atrofiam e desaparecem com o desenvolvimento das raízes secundárias (segunda formação) que surgem no nó do mesocótilo; são bastante ramificadas e vão formar o sistema radicular principal. Também poderá haver a formação de raízes adventícias que se formam nos nós acima do colon, e não possuem eficiência na absorção de água e nutrientes (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2000).

4.2 Bactérias fixadoras de nitrogênio.

Tendo em vista a busca da diminuição do custo de produção de alimentos, há algumas décadas vêm se testando soluções para minimizar o uso de adubações nitrogenadas nos cultivos de gramíneas tropicais. Dentre essas soluções estão as associações com bactérias fixadoras de nitrogênio (N). Em 1979, Dobereiner (1979) já enfatizava que essas associações podem dar aumentos ou manutenção dos níveis de N no sistema solo-planta. Bactérias fixadoras de nitrogênio podem contribuir para a estimulação do crescimento da planta ou para a prevenção e supressão de doenças e são referidas como rizobactérias promotoras de crescimento (RPC).

O isolamento dessas bactérias em cereais, gramíneas e diversas outras plantas tem sido extensivamente estudado (DÖBEREINER; PEDROSA, 1987; OKON; LABANDERA-GONZALES, 1994; BALDANI; BALDANI, 2005). Este fato

levou a identificar dois grupos que se associam com a planta hospedeira: colonizadoras endofíticas e de rizosfera.

Técnicas microbiológicas clássicas envolvendo o cultivo, identificaram bactérias pertencentes aos gêneros *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Campylobacter*, *Derxia*, alguns membros de Enterobacteriaceae (*Klebsiella*, *Pantoea*) e *Pseudomonas stutzeri* (RENNIE, 1980; BALANDREAU, 1983; ELMERICH et al., 1992; YAN et al., 2008). A maioria destas cepas foi isolada de superfícies de raízes esterilizadas, sugerindo que estas células estão protegidas de agentes esterilizantes.

Dentre os microrganismos que estão em estudo, as bactérias do gênero *Azospirillum* foram as que melhor responderam à interação com as plantas, principalmente as que pertencem ao grupo das monocotiledôneas, que estão entre as principais fornecedoras de alimento para a humanidade (MOREIRA, 2007).

O gênero *Azospirillum* é uma bactéria diazotrófica (capaz de assimilar o nitrogênio atmosférico), microaeróbia, fixadora de nitrogênio atmosférico quando em vida livre, as quais sendo encontradas no solo e quando associadas às rizosferas das plantas podem, possivelmente, contribuir com a nutrição nitrogenada dessas plantas, tais quais milho, arroz, trigo, sorgo, bananeira e abacaxizeiro (DOBEREINER; DAY, 1976; DOBEREINER, 1991; GUNARTO et al., 1999; CRUZ et al., 2001; GERHARDT, 2012).

Azospirillum spp. são bactérias Gram positivas, curvas, móveis e de várias origens geográficas. Este gênero pertence à subdivisão α das Proteobactérias (YOUNG, 1992) e atualmente são descritas quinze espécies pertencentes ao gênero *Azospirillum*: *A. brasilens*, *A. lipoferum* (TARRAND et al., 1978), *A. halopraeferens* (REINHOLD et al., 1987), *A. amazonense* (MAGALÃES et al., 1983), *A. irakense* (KHAMAS et al., 1989), *A. largimobile* (DEKHIL et al., 1997), *A. doebereineriae* (ECKERT et al., 2001), *A. oryzae* (XIE; YOKOTA, 2005), *A. melinis* (PENG et al., 2006), *A. canadense* (MEHNAZ et al., 2007a) *A. zae* (MEHNAZ et al., 2007b), *A. rugosum* (YOUNG et al., 2008), *A. palatum* (ZHOU et al., 2009), *A. picis* (LIN et al., 2009) e *A. thiphilum* (LAVRINENKO et al., 2010). As duas espécies tiveram seus genomas recentemente sequenciados (WISNIEWSKI-DYE et al., 2011).

As bactérias do gênero *Azospirillum* têm grande potencial de uso como biofertilizante (GERHART, 2012), devido à capacidade de colonizar raízes de várias espécies de plantas, sua ampla distribuição geográfica e sua eficiência na fixação de nitrogênio *in vitro* (PEDROSA, 1987). Essas bactérias já foram isoladas de raízes de mais de 100 espécies de plantas, podendo também ser aplicadas em raízes de plantas que não apresentam histórico de colonização com *Azospirillum* (BASHAM et al., 2004). Tais bactérias são potencialmente benéficas para a agricultura, podendo influenciar positivamente o crescimento vegetal, o rendimento da safra e o conteúdo de nitrogênio da planta (STEENHOUDT; VANDERLEYDEN, 2000).

A colonização da superfície radicular por bactérias do gênero *Azospirillum*, vem sendo estudada há muitos anos. Em 1923, Beijerinck isolou a bactéria *Spirillum*, semelhante à *Azospirillum* (ROTHBALLER et al., 2008).

Estas bactérias são aeróbicas, não fermentativas, contudo contêm grânulos de polihidroxialcanoato (PHA), com sistema de anexação com as raízes, mediado por um flagelo polar, sendo essa ancoragem irreversível. O flagelo polar é glicosilado e se liga à raiz, enquanto os flagelos laterais não são essenciais durante a fase de adsorção (STEENHOUDT; VANDERLEYDEN, 2000).

Micrografias eletrônicas de raízes colonizadas revelam que *Azospirillum* foi ancorada nas raízes por um material fibroso, provavelmente similar à fibra produzida durante a floculação. A bactéria coloniza a rizosfera e se encontra em número elevado mediante o surgimento de raízes laterais e próxima à coifa (DE OLIVEIRA PINHEIRO et al., 2002). O grau de invasão de tecidos de plantas difere entre estirpes. Em um trabalho inicial, usando técnicas de fluorescência de anticorpos, verificou-se que *Azospirillum* coloniza os espaços intercelulares entre a epiderme e o córtex da raiz (SCHANK et al., 1979).

A interação planta *versus* fixadores de N, depende da adaptabilidade dos genótipos vegetais, do microrganismo fixador ao ambiente e da sinergia entre os dois organismos em se associar. O equilíbrio no tripé genótipo x ambiente x fenótipo torna-se essencial no sucesso das interações associativas entre microrganismos fixadores de N e os diferentes gêneros vegetais (SMITH et al., 1984).

Diversos experimentos de inoculação em campo demonstraram que organismos deste gênero foram capazes de aumentar o rendimento de gramíneas economicamente importantes como trigo, milho e sorgo, em regiões climáticas e solos diferentes (PATRIQUIN et al., 1983; VANDERLEYDEN, 1997). O uso de inoculantes contendo *Azospirillum* poderia ajudar na redução do uso de fertilizantes nitrogenados (HUNGRIA et al. 2010). O uso como biofertilizante já foi aprovado no Brasil pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para as culturas de milho e trigo (GERHARDT, 2012).

A interação positiva entre estas bactérias tem sido demonstrada por vários autores e, embora ainda não seja prática agrícola consolidada, levantamentos de diversos experimentos realizados em vários países demonstram que a inoculação com *Azospirillum* em milho resultou, na maioria dos casos, em aumento de matéria seca, de produção de grãos e de acúmulo de N nas plantas inoculadas, particularmente quando envolveu genótipos não melhorados na presença de baixa disponibilidade de N (REIS JUNIOR et al., 2008).

Cavallet et al. (2000) trabalhando com a inoculação de *Azospirillum* na presença e ausência de adubação nitrogenada na cultura do milho, encontraram respostas positivas na produtividade de grãos com aumento médio na ordem de 17%, como resultado do aumento do comprimento médio das espigas.

Avaliando a associação de *Azospirillum* amazonense e milho, Reis Junior et al. (2008) encontraram aumentos da matéria seca das raízes e melhor eficiência da planta na utilização do N em seu metabolismo, contudo os autores não demonstraram efeito nas enzimas NR (nitrate redutase e GS (glutathion transferase)).

Rodrigues et al. (2014) avaliando os componentes produtivos do trigo com o uso combinado de matéria orgânica, diferentes doses de nitrogênio e bactérias fixadoras de N, não observaram respostas satisfatórias quando aplicado nitrogênio na forma NH_4 em plantas inoculadas com *Azospirillum*.

Dubrovski et al. (1994) relataram que o principal efeito que *Azospirillum* apresenta em *Arabidopsis thaliana* foi a promoção do crescimento radicular, beneficiando a absorção de nutrientes.

Foloni e Bassoi (2014), avaliando cultivares de trigo com expressivos usos no estado do Paraná, em razão da inoculação de sementes combinada com doses de N em cobertura, concluíram que a inoculação não incrementou a produtividade da lavoura nas condições experimentais expostas.

Provavelmente, a maior produção de matéria seca e o acúmulo de nutrientes por plantas inoculadas constituam a produção de substâncias promotoras de crescimento pelas bactérias. Bashan e Holguin (1997) relataram ser evidente que fitormônios, principalmente o ácido indol-acético (AIA) excretados por *Azospirillum*, desempenham papel essencial na promoção do crescimento de plantas em geral.

A colonização das raízes afeta tanto a morfologia como a fisiologia da planta hospedeira. Depois da inoculação com *Azospirillum* a resposta típica é a maior proliferação de raízes laterais e capilares, geralmente acompanhada pela mudança da fisiologia da raiz, com aumento na absorção de minerais e água, aumentando a respiração radicular, atrasando a senescência das folhas e aumentando a massa seca da planta (OKON, 1985, DOBBELAERE; OKON, 2007).

Atribui-se a promoção do crescimento à produção de compostos como auxinas, produzidas pela bactéria do solo. Geralmente grande parte da biossíntese de IAA usa triptofano (Trp) como precursor, e diversas rotas para a conversão de Trp para IAA têm sido descritas (COSTACURTA; VANDERLEYDEN, 1995; BACA; ELMERICH, 2007). A rota do indol-acetamida, comumente em bactéria fitopatogênica, não está presente em bactérias fixadoras de nitrogênio, incluindo *Azospirillum*. Em vez disso, essas bactérias possuem a rota do indol-piruvato, envolvendo a indol-3-piruvato descarboxilase (KOGA et al., 1991).

Entretanto, há dificuldades para diferenciar a produção de hormônios da planta ou da bactéria. Concentração elevada de auxina em plantas colonizadas por *Azospirillum* já foi encontrada, mas não se pode concluir que este aumento está ligado a hidrólise de conjugados de auxina produzidos pela planta, bactéria ou ambos os organismos (FALLIK et al., 1989). Outros hormônios como giberelinas e citocininas, também são produzidas por diversas bactérias, contudo pouco se sabe sobre o envolvimento destes hormônios à inoculação (BACA; ELMERICH, 2007).

Em contraste, o mecanismo de prevenção à produção de etileno pela bactéria é bem conhecido. O etileno previne o alongamento das raízes, e várias bactérias decodificam o *gene* deaminase (*acdS*) que degrada o precursor direto do etileno, o 1-aminociclopropano -1- ácido carboxílico (ACC) (GLICK, 2005). Introdução do *gene* *acds* em *A. brasilense* resultou em maior alongamento da raiz em algumas plantas (HOLGUIN; GLICK, 2001). A produção de N-acilhomoserina lactona, que pode estar envolvida na promoção de crescimento, também foi observada em diversos casos (BOYER et al., 2008, ROTHBALLER et al., 2008).

4.3 Meio ambiente e o uso de fertilizantes nitrogenados.

A utilização de bactérias endofíticas como alternativa à adubação nitrogenada em espécies cultivada, possuem potencial à diminuição dos impactos ambientais, tais como menor emissão de gases de efeito estufa (GEE) e eutrofização das águas. O Intergovernmental Panel on Climate Change relata que cerca de 77% das emissões de GEE em 2004, foram atribuídos ao CO₂, enquanto que 8% foi contribuído pela emissão de óxido nítrico (ZOTELLI, 2012).

De acordo com o relatório apresentado no Rio +20 (2012), o uso de fertilizantes no Brasil pulou de 70 kg ha⁻¹ em 1992 para 150 kg ha⁻¹ em 2012. A indústria brasileira de fertilizantes produz cerca de 53% de nitrogênio, 66% de fósforo e 15 % de potássio em termos de produtos acabados, importando 18% de amônia, 100% do enxofre, 12% da rocha fosfática e 6% do ácido fosfórico consumido na produção de fertilizantes (ISHERWOOD, 2000).

Dentre os fertilizantes, os nitrogenados são os que possuem maior ação poluidora sendo que a produção desses compostos é responsável por 94% do consumo de energia de toda a produção de fertilizantes, sendo os principais a amônia e seus derivados como o ácido nítrico e a uréia (ISHERWOOD, 2000).

Os adubos nitrogenados podem reagir com o solo, acidificando-o, em especialmente sulfato de amônio e menos intensamente o nitrato de amônio (MELÉM JÚNIOR et al, 2001).

No relatório da União das Indústrias de Fertilizantes (UNIFA, 1997) encontrou-se 42% de nitrogênio de origem agrícola em uma bacia hidrográfica localizada na França. Experimentos com N¹⁵ indicam que 5% de nitrogênio dos fertilizantes é perdido para a água durante os estádios de crescimento das culturas, sendo que dois terços disso são devidos às práticas incorretas de adubação (ISHERWOOD, 2000).

O nitrato está entre os poluentes danosos à água potável (MAGALHÃES E BROTTTO, 2014), causando danos à saúde humana como, a síndrome do bebê azul e em adultos pode aumentar a probabilidade de câncer de mama em mulheres (BAIRD; CANN, 2011).

Na atmosfera, o óxido nitroso (N₂O), está associado ao efeito estufa, sendo prejudicial à camada de ozônio. O Painel Intergovernamental em Mudanças Climáticas (IPCC), destaca que o N₂O é responsável por 7,5% do efeito-estufa, aumentando a 0,2% ao ano, sendo que o processo microbiano do solo fornece 65% de toda a emissão de N₂O sendo que o nitrogênio usado como substrato por essas bactérias é fornecido pelos fertilizantes chegando a 2,25% do N₂O produzido (SMITH et al, 1998; BACKMAN E OLFS, 1998).

4.3 A nitrato redutase e a metabolização do nitrogênio

Entre os principais elementos que compõe a biomassa vegetal está o nitrogênio (entre 1 a 10%). A energia e a estrutura molecular necessária para a incorporação do nitrogênio provêm do metabolismo dos carboidratos, o qual depende da fotossíntese, e essa, por sua vez, depende dos compostos contendo nitrogênio (como por exemplo a clorofila e a 1,5 ribulose bifosfato carboxinase) criando assim um ciclo de interdependência (LARCHER, 2006).

Buchanan et al. (2000) relatam que a assimilação de nitrogênio é o segundo maior processo metabólico nas plantas superiores, sendo superado apenas pela fixação fotossintética do CO₂. As plantas absorvem o nitrogênio do solo nas formas de nitrato e amônio, sendo o nitrato a principal forma de nitrogênio inorgânico disponível para

as plantas. A absorção depende do pH na rizosfera, sendo que sob pH ácido, a absorção de nitrato é mais prejudicada que a de amônio.

A enzima nitrato redutase (NR) catalisa o primeiro passo enzimático da assimilação de nitrogênio pelas plantas superiores por meio da redução do nitrato (NO^-3) a nitrito (NO^-2) (OAKS, 1994; YANEVA et al. 2000). Essa enzima (NR) é uma flavoproteína, formada por duas subunidades idênticas, com três grupos – dinucleotídeo de flavina e denina (FAD), heme e um complexo constituído entre o molibdênio (Mo) e uma molécula orgânica, a pterina (MENDEL; STALLMEYER, 1995; CAMPBELL, 1999), razão pela qual também é denominada como molibdopterina.

A enzima NR está localizada, primariamente, no citossol das células corticais da epiderme da raiz e nas células mesofílicas da parte aérea (RUFTY et al., 1986, VAUGHN; CAMPBELL, 1988).

Uma vez absorvido pelas raízes das plantas, o nitrato é reduzido a nitrito no citoplasma das células pela enzima nitrato redutase (NR) e, em seguida, a amônio, pela nitrito redutase (NRi), que usa a ferredoxina reduzida como doadora de elétrons (YANG; MIDMORE, 2005). Em seguida, esse amônio é incorporado em moléculas orgânicas, como aminoácidos e nucleotídeos, por meio da ação conjunta das enzimas glutamina sintetase (COND) e glutamato sintase (GOGAT) (TAIZ; ZEIGER, 2011).

Os processos de redução e assimilação de N podem ocorrer nas folhas e/ou raízes, de maneira simultânea ou não, entre esses órgãos, de acordo com a espécie (PATE, 1980) e condições ambientais (COSTA, 1986). Recentemente, a nitrato redutase tem sido considerada uma enzima chave na sinalização do óxido nítrico (NO) por produzir o nitrito, principal substrato para a síntese deste radical nos vegetais.

4.4 Biorregulador e reguladores vegetais

Bajguz e Pietrowska (2009) caracterizaram os hormônios vegetais como substâncias de baixo peso molecular de origem natural, que em concentrações abaixo da molar, regulam o metabolismo vegetal em todo o ciclo de vida. Dourado Neto et al., (2004) definem fitorreguladores (reguladores vegetais) como parte do grupo de substâncias

vegetais denominadas hormônios vegetais sintéticos. Dentre esses, pode se citar as auxinas, citocininas e as giberilinas.

Laca-Buendia (1989) definem reguladores vegetais como substâncias naturais ou sintéticas que podem ser aplicadas nas plantas com o intuito de alterar ou controlar um processo metabólico, cuja ação trará benefícios para as culturas de interesse econômico, como incremento na produção e melhora da qualidade dos produtos.

Taiz e Zeiger (2013), relataram que a auxina provoca aumento na taxa de crescimento celular em pouco tempo. Isso ocorre pela biossíntese e ação da auxina na H^+ -ATPase sobre a pressão de turgor e afrouxamento bioquímico da parede celular, culminando em maior expansão da célula.

As auxinas são hormônios endógenos com grande diversidade de efeitos fisiológicos sobre os vegetais, utilizadas comercialmente em função de cada interesse econômico, que se busca no fenótipo de plantas cultivadas (DAVIES, 2004).

A auxina coordena vários aspectos do crescimento e do desenvolvimento vegetal através da regulação da expressão de genes (ULMASOV et al., 1997). Assim, permite a indução de diversas respostas, induzindo o crescimento e a especialização da célula em um determinado tecido ou órgão vegetal, interferindo no desenvolvimento da planta em todos os estádios fenológicos (SRIVASTAVA, 2002).

A principal ocorrência natural da auxina na planta é a forma de ácido 3-indol-acético (IAA), substância derivada do triptofano, agindo como “gatilho” da embriogênese, organogênese, desenvolvimento vascular e crescimento trópico (FRIML et al., 2003; BENKOVÁ et al., 1999; REINHARDT, 2000).

As citocininas estão diretamente relacionadas com o processo de divisão celular e em processos de desenvolvimento vegetativos e reprodutivos, na germinação de sementes e na quebra de dormência de gemas (RAVEN et al., 2007; VIEIRA; MONTEIRO, 2002).

Li et al. (2007) aplicando citocinina em cana-de-açúcar, verificaram a inibição da formação de raízes laterais e do crescimento da raiz primária, contudo não encontrou efeitos negativos sobre o desenvolvimento dos primórdio de raízes laterais já em formação. Os autores relataram que há efeito da citocinina estimulando o crescimento de raízes filamentosas da zona pilífera.

As giberelinas possuem a função de promover o crescimento caulinar, estimulando o alongamento e a divisão celular (SALISBURY; ROSS, 2013), além de serem dos principais fitormônios atuantes no processo de germinação das sementes (RAVEN et al., 2007; TAIZ; ZEIGER, 2013).

Quando o ácido giberélico é aplicado antes do florescimento, este induz a um crescimento vegetativo intenso, em diversas culturas, o qual é maior do que o necessário para a máxima produtividade, e, neste caso, nutrientes e fotossintetizados são direcionados ao crescimento vegetativo, em detrimento ao desenvolvimento de estruturas reprodutivas (LEITE et al., 2003)

As citocininas também possuem papel importante no desenvolvimento do aparelho fotossintético (MERLIN, 2012). Segundo Nyitrai (1997), citocininas são membros do grupo de reguladores vegetais com ação no desenvolvimento dos cloroplastos, possuindo correlação na recepção da luz, além de terem influência no transporte de elétrons (principalmente no fotossistema I), acúmulo de clorofila, atividade fotossintética e na síntese da enzima ribulose 1,5-difosfato carboxilase (rubisco). Recentemente foi demonstrado que uma parte substancial das citocininas em folhas são localizadas em cloroplastos (BENKOVA et al., 1999). Os plastídeos e seu desenvolvimento estão entre os principais alvos de ação das citocininas nas células foliares (PARTHIER, 1979). Citocininas ativam a diferenciação dos etioplastos no escuro e o desenvolvimento dos cloroplastos na presença da luz (KHOKHOLOVA et al., 1971; CHORY et al., 1991).

Fioreze et al. (2013) avaliando os efeitos da adição de cálcio e aplicação de cinetina em soja sob deficiência hídrica e sombreamento, verificaram que plantas que receberam cálcio e cinetina apresentaram maior conteúdo de água na folha, contudo esse tratamento não aumentou a produção de grãos, sob as condições apresentadas.

Amendoinzeiros dos tipos Spanish e Virginia, quando tratados com diferentes concentrações de ácido giberélico (GA3), sob condições de vaso, apresentaram significativo alongamento das hastes sem alterar o número de entrenós, ao serem submetidos ao produto. Esse efeito foi maior no estágio inicial, mostrando-se particularmente evidente no caule principal do cultivar semi-erecto e nas ramificações do cultivar prostrado (Virginia) (CASTRO; da GLORIA, 1993).

Kochancov et al. (1996) aplicando GA3 em plantas de alface crespa, nas concentrações de 6,25 mg L⁻¹, 12,5 mg L⁻¹ e 25 mg L⁻¹, favoreceram o florescimento de plantas, quando aplicado na menor concentração, em plantas de 3 a 20 folhas. Já a aplicação das duas maiores concentrações promoveu o crescimento excessivo, quando aplicado nas plantas de alface de sete folhas, mostrando efeitos deletérios, como desordens morfogênicas, como a curvatura do caule, e a formação de uma segunda cabeça.

Segundo Vieira e Monteiro (2002), as substâncias reguladoras podem ser combinadas com outras substâncias para agirem durante o processo germinativo das sementes e, também, em eventos pós-germinativos, como a mobilização de reservas, crescimento e desenvolvimento do embrião.

Avaliando a ação de bioestimulante na germinação de sementes, vigor de plântulas e produtividade de soja, Vieira e Castro (2001), registraram aumentos na quantidade de plântulas normais, na massa da matéria seca de plântulas, na produção de grãos e de massa da matéria seca de grãos por planta.

Ao observar os efeitos do Stimulate[®] na cultura de alface, Repke et al. (2009), concluíram que o produto elevou o teor de clorofila em alface americana, aumentando o diâmetro e o peso de matéria seca das plantas.

Dourado Neto et al. (2004), estudando os efeitos do Stimulate[®] em diferentes dosagens via tratamento de sementes de milho, relatam que o tratamento aumentou o rendimento de grãos, afetando também o diâmetro do colmo e número de grãos em cada fileira na espiga. Os autores registram ainda que a aplicação do fitorregulador foi mais eficiente quando executada no tratamento de semente, em comparação com a pulverização 43 dias após a semeadura.

Mortele et al. (2011) relatam que o Stimulate[®] via tratamento de semente aumenta o número de plântulas normais na germinação da soja, contudo não encontraram resultados eficientes para a porcentagem de germinação e a biomassa de matéria seca.

Estudando os efeitos do Stimulate[®] nos elementos de produção e fenologia do feijoeiro, Abrantes et al. (2011) não encontraram resultados significativos do efeito do produto para as características vegetativas (altura da planta e altura de inserção da primeira vagem). Contudo ao aplicar o Stimulate[®] no estágio que inicia o florescimento da cultura, obtiveram incremento do número de grãos por planta.

Estudando os efeitos do Stimulate+Mo[®], em mudas de mandioca salsa, Reghin (2000), constatou maior enraizamento nas plantas tratadas.

Rós et al. (2015) observaram que o produto Stimulate[®] influenciou o número de raízes adventícias e a massa seca das plantas de batata doce, contudo, não favoreceu a produtividade de raízes tuberosas.

4.5 Assimilação de CO₂

O acúmulo de matéria seca na planta depende do balanço entre os processos de fotossíntese e respiração (TAIZ; ZEIGER, 2013).

A produtividade é influenciada por características morfológicas e fisiológicas dos órgãos fotossintetizantes, conhecidos como fonte, e dos órgãos consumidores dos produtos fotossintetizados, conhecidos como dreno. Toda a produção da biomassa depende da atividade fotossintética da fonte, mas a assimilação do CO₂ é apenas um dos fatores que influenciam o desenvolvimento vegetal (FOYER; GALTIER, 1996).

Os fotoassimilados constituem mais de 90% da massa seca da planta. Uma parte desses assimilados é utilizada durante o crescimento, convertendo-se em biomassa; a outra parte é oxidada na respiração e serve como fonte de energia para o crescimento e funcionamento dos processos biológicos (POPOV et al., 2003).

A análise de crescimento é baseada no fato de que aproximadamente 90% da matéria seca acumulada pelas plantas ao longo do seu crescimento são resultantes da atividade fotossintética (CAÑIZARES et al., 2004).

Segundo Wolschick et al. (2007) o gasto energético de uma planta se relaciona ao gasto de energia para a manutenção celular (respiração de manutenção) e gasto energético para crescimento (respiração de crescimento), que será diferente para cada órgão ou tecido, ou seja, acúmulo de matéria seca que é direcionada. Através das mudanças de prioridade no abastecimento é possível manter suprida uma zona em franco crescimento e, ao mesmo tempo, evitar que um tecido ou órgão com pouca atividade seja super abastecido (LARCHER, 2000).

As taxas metabólicas das plantas são influenciadas pelas condições ambientais, que determinam as taxas e proporções da fotossíntese e da respiração (perdas e

ganhos no balanço das trocas gasosas) e eventualmente, a produtividade biológica e econômica dessas plantas. A fotossíntese líquida é um indicador da taxa de assimilação do carbono (POPOV et al., 2003).

Por isso, torna-se cada vez mais importante estudar a fisiologia da fonte e uma maneira de compreendê-la é através das medidas de trocas gasosas. Vale ressaltar que, em estudos visando ganho de produtividade, é importante buscar informações sobre a assimilação do CO₂, assim como sobre a eficiência do uso da água durante essa assimilação (BRANDÃO FILHO et al., 2003).

A fotossíntese é um processo essencial à sobrevivência das plantas e para aumentar a eficiência desenvolvem vários mecanismos de foto resposta, como por exemplo, a movimentação dos cloroplastos para locais onde a intensidade de luz é apropriada assim como a abertura dos estômatos para absorver CO₂ (KAWAI et al., 2003).

Os poros estomáticos permitem a perda de vapor de água para a atmosfera durante a transpiração e a entrada de CO₂, através da fixação fotossintética do carbono (VAVASSEUR; RAGHAVENDRA, 2005). Um rígido controle sobre a abertura estomática é essencial, para que não ocorra perda excessiva de água pela planta, ou que ela fique privada de CO₂. Esse fino controle é atingido através de uma refinada sensibilidade das células-guarda para uma multidão de sinais ambientais e endógenos, incluindo luz, temperatura, umidade, CO₂ e quantidade de água na planta (ASSMANN; SHIMAZAKI, 1999).

A água é o componente abundante e necessário à manutenção da vida animal e vegetal, compondo quase a totalidade das estruturas de muitos vegetais, desempenhando importante função para evitar o superaquecimento da folha. Com a absorção do calor proveniente da radiação solar, a água vaporiza e deixa a folha através dos estômatos, resfriando-a. Este processo, denominado de transpiração, é de fundamental importância para manter o aparelho fotossintético funcional (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Segundo Lammaud et al. (1996), a eficiência do uso da água (EUA) representa a capacidade que a vegetação possui em assimilar carbono, enquanto limita as perdas de água através dos estômatos.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Localização

O experimento foi conduzido na Fazenda Lagoa da Cruz da Universidade Católica Dom Bosco, localizada no município de Campo Grande – MS (20°23'16,59" S; 54°36'44,47" W e altitude de 642 m). O clima, segundo Koppen, situa-se na faixa de transição entre o sub tipo Cfa - mesotérmico úmido sem estiagem e o sub tipo Aw - tropical úmido com estação chuvosa no verão e seca no inverno (EMBRAPA, 2004).

O experimento constituiu-se de parcelas sub divididas distribuídas em blocos ao acaso com quatro repetições. As parcelas principais foram constituídas por 11 linhas de plantas espaçadas 0,50 cm e 0,35 cm entre plantas na linha. As sub parcelas corresponderam a uma linha na parcela principal alternadas por uma linha de bordadura não tratada. Os tratamentos foram constituídos de níveis de nitrogênio (0, 40, 80, 120 e 160 kg ha⁻¹) nas parcelas principais e nas sub parcelas níveis do regulador vegetal produto comercial Stimulate® (0, 300, 400, 500 e 600 mL ha⁻¹).

Para a condução do experimento, utilizou-se a cultura do sorgo sacarino cultivar BRS 505 da Embrapa, considerada de média sensibilidade ao fotoperíodo, inoculada com *Azospirillum brasilense*. A semeadura foi realizada no dia 20/09/2014, com a adubação de implantação de NPK formulação 0-20-20, sendo as fontes de P₂O₅ e K₂O, superfosfato-tríplice e cloreto de potássio respectivamente aplicados 100 kg ha⁻¹ no sulco de semeadura.

O sistema de irrigação foi do tipo Aspersão convencional. O manejo da irrigação foi realizado através da estimativa da evapotranspiração. A evapotranspiração de referência (ET_o) foi estimada pelo método de Penman-Monteith (MONTEITH, 1973) e a evapotranspiração da cultura (ET_c) foi obtida utilizando o coeficiente da cultura (K_c) conforme Doorembos e Kassan (1979).

Tabela 1. Características químicas do solo. Campo Grande, Ms, 2014/15.

pH	M.O	PMehlich	H+Al	K	Ca	Mg	SB	CTC	V%
CaCl₂	g dm ³	mg dm ³	-----	-----	mmol _c dm ³	-----	-----	-----	-----
6,1	23	9		1,5	25	15	41	65	72
			B	Cu	Fe	Mn	Zn		
			-----	-----	mg dm ³	-----	-----		
			0,15	2,72	21,45	7,03	0,83		

Foi utilizado como veículo inoculate o produto Masterfix gramíneas[®], desenvolvido pela Stoller do Brasil, produzido com as estirpes Abv5 e Abv6 da bactéria *Azospirillum brasilense*. Aplicou-se a dose recomendada pelo fabricante para a cultura do milho, equivalente a 100 mL ha⁻¹ de inoculante comercial por ha⁻¹, na concentração de 2.10⁸ bactérias por mL.

A solução bacteriana foi aplicada nas sementes que não apresentavam tratamento químico, no dia da semeadura do experimento. No processo foram utilizados sacos plásticos onde as sementes previamente contadas receberam o produto. Para distribuição e homogeneização da solução, agitaram-se as embalagens por três minutos.

A aplicação dos tratamentos de níveis de nitrogênio ocorreu aos 10 dias após a emergência, período em que as plantas iniciaram o desenvolvimento do sistema secundário de raízes, utilizando-se como veículo de N a uréia (45% de nitrogênio) que foi calculada de acordo com a área de cada parcela, aplicada e incorporada ao solo.

Para o tratamento com níveis de biorregulador, utilizou-se o produto comercial Stimulate[®], fabricado pela Stoller do Brasil, composto pela mistura de 0,009% de citocinina (N6-furfuriladenina, cinetina (Kt)), 0,005% de auxina (ácido 4-indol-3ilbutírico (IBA)) e 0,005% de giberelina (ácido giberélico (GA3)).

A mistura de regulador vegetal foi aplicado aos 15 DAE, período em que a cultura apresentava o desenvolvimento do sistema radicular secundário, via pulverização foliar, utilizando-se um pulverizador de barras com pressão constante de CO₂ e bico do tipo leque (110-02).

Para efeito de cálculo do produto, utilizou-se o volume de calda de 200 L ha⁻¹ e pressão de trabalho de 40 lb/pol², as dosagens do produto de acordo com os tratamentos.

A cultura foi conduzida até 90 DAE, sendo o período de maturação fisiológica dos colmos, quando a cultura apresentou-se com ais de 50% das panículas abertas.

5.2 Avaliações de trocas gasosas

As avaliações de trocas gasosas foram realizadas utilizando-se equipamento de sistema aberto de fotossíntese com analisador de CO₂ e vapor d'água por radiação infravermelha (Infra Red Gas Analyser – IRGA, modelo LI-6400, da Li-Cor). As avaliações fotossintéticas foram realizadas no período das 9:30 às 10:30 hs nos dias referentes à 16 DAE (período posterior à aplicação dos tratamentos, quando a cultura apresentava-se com quatro folhas expandidas), 46 DAE (período em que a cultura apresentava-se em pleno desenvolvimento) e 81 DAE (período em que a cultura apresentava-se no início da maturação fisiológica).

A diferença entre os valores da concentração de CO₂ e vapor d'água (presente na câmara sem a amostra) e os da amostra, possibilitam o cálculo dessas medidas, obtendo-se, assim, a concentração de CO₂ e vapor d'água liberados (transpiração) e assimilados (assimilação de CO₂) pelos estômatos das folhas. As avaliações de trocas gasosas realizadas foram: taxa de assimilação de CO₂ (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), taxa de transpiração (E , $\text{mmol vapor d'água m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (g_s , $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e concentração interna de CO₂ na folha (C_i , $\mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}\text{ar}$). A concentração de CO₂ de referência, utilizada durante as avaliações, foi a presente no ambiente.

Para homogeneizar as repetições, a densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (DFFFA) foi gerada por um diodo emissor de luz acoplado à câmara de fotossíntese, padronizando a luminosidade em cada período de avaliação, para

que todas as plantas estivessem sob as mesmas condições de luz; para tanto, foram utilizados $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Tais variáveis foram calculadas pelo programa de análise de dados do equipamento medidor de fotossíntese, que utiliza a equação geral de trocas gasosas de Von Caemmerer e Farquhar (1981).

A eficiência do uso da água (EUA , $\mu\text{mol CO}_2 (\text{mmol H}_2\text{O})^{-1}$) foi determinada pela relação entre a taxa de assimilação de CO_2 e a taxa de transpiração (A/E). Já a eficiência instantânea de carboxilação da enzima ribulose 1, 5-difosfato carboxilase (Rubisco) foi calculada pela relação da taxa de assimilação de CO_2 e concentração interna de CO_2 na folha (A/C_i), ambas conforme descrito por Zhang et al. (2001)

5.3 Índice Spad

A estimativa do conteúdo de clorofila via leitura Spad (índice SPAD) foi determinada usando clorofilômetro SPAD-502 (Minolta Corp. Ramsey, NJ, EUA) nos dias referentes à 16 DAE, 46 DAE e 81 DAE juntamente com as avaliações fotossintéticas. Para a média da parcela foram consideradas três leituras na última folha completamente desenvolvida. A leitura SPAD corresponde ao teor de cor verde na folha, e seu valor é equivalente à quantidade de luz transmitida pela folha em duas regiões de comprimento de onda, vermelho e infravermelho, onde a quantidade de luz vermelha absorvida indica a quantidade de clorofila, enquanto a quantidade de luz absorvida ao infravermelho serve como uma referência interna na compensação da espessura da folha (TORRES NETTO et al., 2005).

5.3 Área foliar e matéria seca

A área foliar foi determinada aos 70 DAE (período que estabilizou o crescimento da parte aérea) obtendo-se as medidas de comprimento e de largura de cada folha e aplicando-se a fórmula proposta por Stickler (1961).

$$\text{Área foliar (cm}^2\text{)} = 0,75 * \text{Largura} * \text{comprimento da folha}$$

A massa de matéria seca foi determinada no momento da colheita que ocorreu aos 90 DAE, onde as folhas e os colmos foram pesados, obtendo-se o peso de matéria fresca e posteriormente secando-os em estufa de circulação de ar à 70°C para obtenção do peso de matéria seca de folhas e colmos.

5.4 Qualidade da matéria prima

Para a determinação da qualidade da matéria prima, foram coletados quatro colmos de cada tratamento no momento considerado de maturação aos 90 dias após a emergência da cultura. Os colmos foram despalhados, despontados e identificados, e em seguida enviados ao laboratório de PCTS Usina Alcoolvale S/A, onde foram determinados os valores de (%) de açúcar redutor (Ar%), e POL%.

5.4.1 Determinação do POL %, AR% e ATR%

Pol% é o teor de sacarose aparente no colmo. Ar% é a porcentagem de açúcares redutores, glicose e frutose no colmo. ATR% indicador que representa a quantidade total de açúcares presentes no colmo.

No laboratório as amostras de colmo foram desfibriladas para a extração do caldo para análise. Após desfibriladas e homogeneizadas, retirou-se 500g do material que foi prensado em uma prensa hidráulica sob pressão de 250 kgf por um minuto, permitindo a separação do caldo da fibra.

Para a determinação do POL % e AR%, o caldo foi clarificado no seguinte procedimento:

A mistura clarificante à base de alumínio foi preparada na proporção de 6g/100ml. Após a mistura do clarificante a amostra foi homogeneizada e filtrada em papel filtro.

Após a clarificação do caldo procedeu-se a leitura sacarimétrica para a determinação da POL%, em sacarímetro digital, automático, com massa normal igual a 26g, resolução de 0,01°Z (um centésimo de grau de açúcar) e calibrado a 20°C em comprimento de onda de 587 e 589,4 nm, provido de tubo polarimétrico de fluxo contínuo.

Os açúcares redutores (AR) foram determinados pelo método Somogyi-Nelson descrita por Southgate (1991).

A amostra foi diluída e pipetada (1mL) em tubo de ensaio e acrescentado 1mL do reativo de Somogyi. Deixou-se em banho de água fervente por 10 minutos. Após resfriado, acrescentou-se 1 mL do reativo de Nelson e 7 mL de água, agitou-se e registrou-se a leitura em espectrofotômetro à 535 nm.

A % de Somogyi-Nelson foi determinada pelo cálculo:

$$\frac{A \% \cdot D \cdot K \cdot 100}{1.000.000} = \% \text{ Somogyi Nelson}$$

onde:

A% = absorvância da amostra

K = constante da curva padrão de glicose

D = diluição do material inicial

5.4.2 Curva padrão de glicose

Ao pesar 1g de glicose P.A anidro, completou-se com 100 mL de água. Foram retiradas alíquotas de 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 e 1,0 mL, que foram transferidas para balão volumétrico de 100 mL, no qual foram obtidas soluções de 2, 4, 6, 8 e 10mg/100ml. Retirou-se de cada balão volumétrico 1 mL da solução de glicose e transferiu-se para tubos de ensaio acrescido de 1 mL do reativo de Somogyi. Os tubos de ensaio foram levados ao banho-maria por dez minutos, os tubos foram resfriados em água corrente. Após resfriado foi adicionado 1 mL do reativo de Nelson e 7 mL de água destilada. Os tubos foram agitados e as leituras realizadass à 535 nm. Os dados foram plotados na curva abaixo:

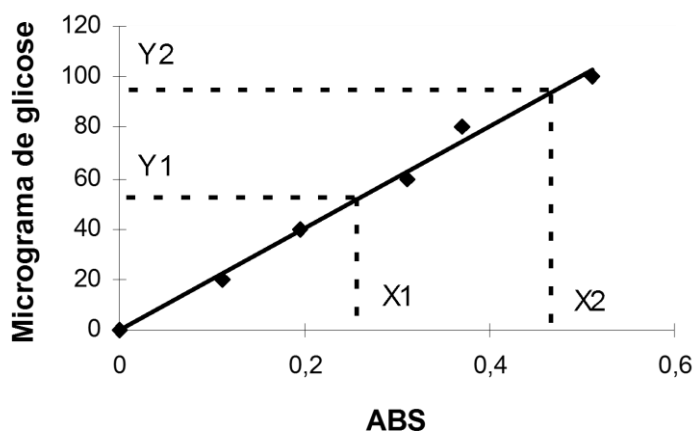


Figura 1. Cálculo da constante da curva padrão de glicose (ABS= absorvância).

A constante da curva padrão de glicose (K) é calculada seguindo o coeficiente diretor da reta:

$$\underline{Y2 - Y1} = K$$

$$X2 - X1$$

5.4.3 Preparo das soluções

a) Reativo de Somogyi: Foram pesados 28 g de Na₂HPO₄ e adicionados 40 g de tartarato duplo de sódio e potássio em 700 ml de água. Adicionou-se 100 ml de NaOH 1N. Foram gotejados 80 ml de uma solução de CuSO₄ 5 H₂O a 10%, sob agitação constante. Juntou-se 180 g de Na₂SO₄, completando o volume com água a 1000 ml. Tal solução foi mantida em repouso por dois dias e filtrada em papel qualitativo (tipo Whatman nº 42 ou similar), sendo que o reativo foi armazenado em frasco escuro a ± 37° C.

b) Reativo de Nelson: Foram pesados 50 g de (NH₄)₆Mo₇O₂₄ 4 H₂O (molibdato de amônio) e dissolvidos em 800 ml de água. Nesta mistura foram adicionados 52 ml de H₂SO₄ concentrado. Em seguida, uniu-se a solução, 6 g de hidrogênio arseniato de sódio (Na₂HAsO₄) dissolvidos em 50 ml de água. Completou-se o volume a 1000 ml. A solução foi mantida em frasco escuro por dois e conservada a ± 37°C.

Para a determinação do açúcar total recuperável (ATR) utilizou-se a equação estabelecida pela CONSECANA (SEGATO et al., 2006):

$$kg \text{ de ATR } t^{-1} = 9,5263 \times 10 \times Pol\% \times 9,05 \times 10 \times AR\%$$

4.5 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (teste F) e regressão pelo software SISVAR 5.3 e o software ACTION 2.9 para a análise de correlação de Pearson. Para a construção dos gráficos utilizou-se o software SIGMAPLOT 10.0.

6 RESULTADO E DISCUSSÃO

5.1 Trocas gasosas

A análise de correlação de Pearson (Tabela) demonstra que durante os três períodos de avaliação da fotossíntese (16, 46 e 81 DAE) os componentes fotossintéticos A e g_s apresentaram correlação positiva, o componente C_i apresentou correlação negativa com a carboxilação.

A transpiração correlacionou-se negativamente com a C_i e positivamente com A e g_s , nos três períodos avaliados. Concomitantemente a esse resultado a EUA apresentou correlação negativa com A e E , contudo aos 46 e 81 DAE a eficiência do uso da água apresentou correlação negativa com a eficiência carboxilativa.

Os resultados da correlação sugerem que aos 16 DAE a eficiência carboxilativa não foi influenciada pelo aumento da transpiração, contudo pode se observar que a transpiração influenciou a eficiência do uso da água de forma negativa, assim essas respostas demonstram que nesse período a cultura não estava vulnerável à falta de água. A partir dos 46 DAE a correlação entre a eficiência carboxilativa e EUA torna-se negativa, nesse período a cultura está em pleno desenvolvimento, emitindo novos tecidos e em crescimento, portanto a EUA nesse período compromete a eficiência da carboxilação.

Farquhar e Sharkey (1982) relataram que durante as trocas gasosas, os estômatos regulam a concentração subestomática de CO_2 (C_i), mantendo o C_i relativamente constante.

Em plantas de algodão, Leidi (1993) aplicando tratamentos de estresse hídrico não obteve relação linear entre a condutância estomática e a C_i , o autor

concluiu que a ocorrência de valores aproximadamente constantes de Ci associados à baixa condutância estomática era um efeito devido à redução da eficiência da carboxilação.

O efeito do tratamento de doses de nitrogênio na assimilação de carbono em parcelas que não receberam a aplicação do biorregulador estão apresentados na figura 2. Nas avaliações aos 16 DAE a máxima resposta para esse parâmetro foi na dose 63,64 kg ha⁻¹ de N para atingir 37,8 μmol m² s⁻¹ de assimilação de CO₂.

Com o decorrer do desenvolvimento, observa-se que a resposta para esse componente foi crescente com o aumento da dose de N. Aos 81 DAE obteve-se a resposta em forma de curva côncava com mínima resposta a carboxilação na dose de 65,7 kg ha⁻¹ de N. O aumento da carboxilação com o aumento da disponibilidade de nitrogênio é o resultado da necessidade de cadeias carbônicas para a assimilação do nitrato (VIÉGAS et al., 1999; SOARES et al., 2013).

De acordo com Malavolta (1999) a produção vegetal pode ser aumentada sempre quando cada fator de crescimento esteja presente na quantidade mínima ao tanto que não em quantidade ótima. Assim os resultados encontrados na referida pesquisa mostram que aos 16 DAE, período em que a cultura do sorgo sacarino encontra-se nos estádios iniciais de desenvolvimento, no qual os meristemas apicais e radiculares estão em iniciação, tem-se a quantidade ótima de nitrogênio que pode ser considerada ideal para tal período, paralelamente à necessidade de CO₂ do metabolismo fotossintético. Contudo, a partir dos 46 DAE, considerando que a cultura esteja em pleno crescimento e desenvolvimento, requerendo assim maiores quantidades de carbono e nitrogênio, observa-se que o aumentando-se a disponibilidade de N, aumenta-se a carboxilação (Figura 2).

Tabela 2. Valores de coeficiente de correlação de Pearson entre carboxilação de CO₂ (*A*), condutância estmática (*gs*), concentração interna de CO₂ (*Ci*), transpiração (*E*), eficiência fotossintética (*A/Ci*) e eficiência do uso da água (*EUA*) em sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense* aos 16, 46 e 81 dias após a emergência (DAE). Campo Grande, MS, 2014/15.

DAE		<i>gs</i>	<i>Ci</i>	<i>E</i>	<i>A/Ci</i>	<i>EUA</i>
16	<i>A</i>	0,87*	-0,43*	0,82*	0,13*	-0,02*
	<i>gs</i>	-	-0,28*	0,70*	0,09*	0,01*
	<i>Ci</i>	-	-	-0,22*	-0,56*	-0,27*
	<i>E</i>	-	-	-	0,01*	-0,57*
	<i>A/Ci</i>	-	-	-	-	0,14*
	<i>A</i>	0,97*	-0,60*	0,97*	0,75*	-0,57*
46	<i>gs</i>	-	-0,53*	0,96*	0,84*	-0,49*
	<i>Ci</i>	-	-	-0,60*	-0,28*	0,98*
	<i>E</i>	-	-	-	0,77*	-0,57*
	<i>A/Ci</i>	-	-	-	-	-0,25*
	<i>A</i>	0,91*	-0,36*	0,90*	0,22*	-0,47*
81	<i>gs</i>	-	-0,41*	0,95*	0,27*	-0,65*
	<i>Ci</i>	-	-	-0,48*	-0,60*	0,76*
	<i>E</i>	-	-	-	0,34*	-0,76*
	<i>A/Ci</i>	-	-	-	-	-0,52*

*Significativo a $p \geq 0,05$

A análise estatística para os componentes fotossintéticos, demonstrou diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela), o que pode ser verificado para os três períodos avaliados, 16, 46 e 81 DAE. Verifica-se que há interação entre os tratamentos de doses do biorregulador e doses de nitrogênio.

Tabela 3. Quadrados médios das análises de variância e níveis de significância, médias e coeficientes de variação referentes à assimilação de CO₂ (A), concentração interna de CO₂ (Ci), condutância estomática (gs) e transpiração (E), eficiência da carboxilação (A/Ci) e eficiência do uso da água (EUA) aos 16, 46 e 81 dias após a emergência (DAE), foliar em função dos tratamentos de concentrações de N e concentrações de biorregulador, em sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense*. Campo Grande, MS, 2014/15.

Causa da variação	16 DAE					
	A	gs	Ci	E	A/Ci	EUA
Doses N	148,6*	0,070*	2793,9*	8,39*	122,1*	2,07*
Doses RV	61,6*	0,036*	1115,3*	3,45*	64,3*	1,24*
N x RV	132,3*	0,037*	842,9*	9,58*	84,1*	0,92*
Blocos	5,28	0,000	7,39*	0,242	0,021	0,028
Resíduo	1,67	0,0002	0,56	0,246	0,021	0,028
Média Geral	36,6	0,307	27,02	7,61	2,99	4,87
C.V (%)	3,5	4,9	3,1	6,6	4,8	3,4
46 DAE						
Doses N	285,5*	0,034*	17980,7*	22,28*	2,36*	51,98*
Doses RV	177,3*	0,027*	7637,4*	14,84*	2,66*	44,39*
N x RV	313,8*	0,038*	29236,4*	26,47*	2,72*	45,20*
Blocos	32,1*	0,001*	657,1	1,29*	0,000	0,005
Resíduo	1,10	0,0001	606,02	0,062	0,000	0,005
Média Geral	27,2	0,167	105,64	5,62	0,56	5,69
C.V (%)	3,8	6,1	23,3	4,56	4,5	1,3
81 DAE						
Doses N	267,6*	0,017*	45661,4*	7,78*	2,3*	9,61*
Doses RV	257,3*	0,040*	42074,1*	19,24*	1,7*	19,11*
N x RV	361,8*	0,039*	25959,8*	16,04*	3,1*	7,90*
Blocos	24,0*	0,000	243,61*	0,34	0,003	0,044
Resíduo	2,05	0,0004	37,68	0,177	0,005	0,101
Média Geral	34,8	0,183	74,47	5,02	1,04	7,39
C.V (%)	4,1	12,0	10,5	8,6	7,2	4,61

Doses N: Doses de Nitrogênio; Doses RV: Doses de Biorregulador; N x RV: interação entre as doses de Nitrogênio e Biorregulador; C.V: Coeficiente de Variação. * Significativo a $p \geq 0,05$.

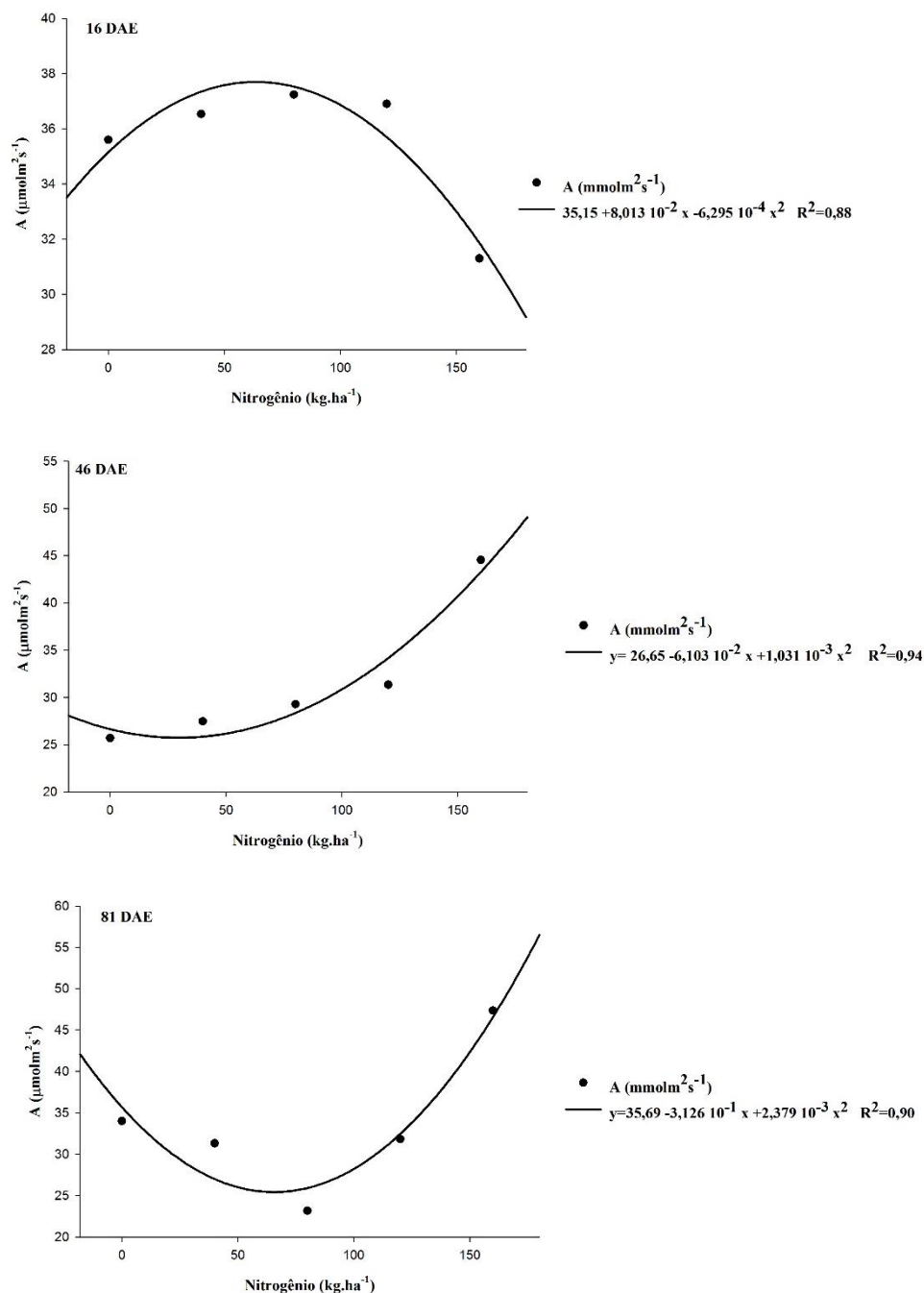


Figura 2. Efeito de concentrações de Nitrogênio (0, 40, 80, 120, 160 kg ha^{-1}) na assimilação de CO_2 (A , $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$) aos 16, 46 e 81 DAE em plantas de sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense* ($*p \leq 0,05$).

Os resultados da assimilação de carbono em plantas inoculadas com *Azospirillum brasilense* e tratadas com o biorregulador, nos três períodos avaliados são apresentados na Figura 3. Nas avaliações aos 16 DAE é possível observar que ocorreu aumento linear na assimilação momentânea de CO_2 nas plantas que não receberam a

adubação nitrogenada com o aumento das concentrações de biorregulador. Esse resultado pode ser considerado expressivo, pois ocorre aumento da carboxilação em função do aumento das doses de biorregulador.

Com o decorrer do desenvolvimento da cultura a resposta da ação do biorregulador na carboxilação apresentou comportamento quadrático, como pode ser observado aos 46 DAE em que a melhor dose do biorregulador foi de 424,9mL ha⁻¹ (estimada) sem a adubação nitrogenada e aos 81 DAE não se observa expressiva ação das doses do regulador quando não ocorreu a adubação com nitrogênio. Nessa análise pode ser observado que a inoculação interagiu com o biorregulador ocorrendo maior eficiência aos 16 DAE.

Contudo para a ação positiva entre o biorregulador e a inoculação, Fagan et al. (2015) descrevem que as citocininas aumentam a expressão gênica para a nodulação, viabilizando o processo da infecção bacteriana nas raízes. O autores ainda relatam que as auxinas estimulam as células do periciclo a se dividirem, aumentando a proporção de raízes laterais, porém obedecendo a concentração máxima exigida pelo órgão.

As citocininas controlam a absorção de nitrogênio (MARTIN et al., 2000; SAKAKIBARA, 2006; FAGAN et al., 2015) indicando o *status* de disponibilidade de nitrogênio apropriado à planta inibindo sistema de absorção de nitrato em raízes (FAGAN et al., 2015).

Resultados similares que condizem à falta de resposta da inoculação com os tratamentos de nitrogênio na adubação foram observados por Rodrigues (2014) que estudando a interação *Azospirillum brasilense* com a cultura do milho, encontrou maiores taxas de assimilação momentânea de CO₂ quando as plantas inoculadas com a estirpe Ab-V5 não receberam adubação nitrogenada. Já, Cechin (1997), estudando o mecanismo fotossintético em dois híbridos de sorgo (C51 e C42) em relação à adubação nitrogenada, não encontrou diferenças da atividade fotossintética com o aumento do fornecimento de nitrogênio no híbrido C51 até o 32 DAE. O autor conclui que a resposta do nitrogênio à atividade fotossintética varia entre híbridos de sorgo.

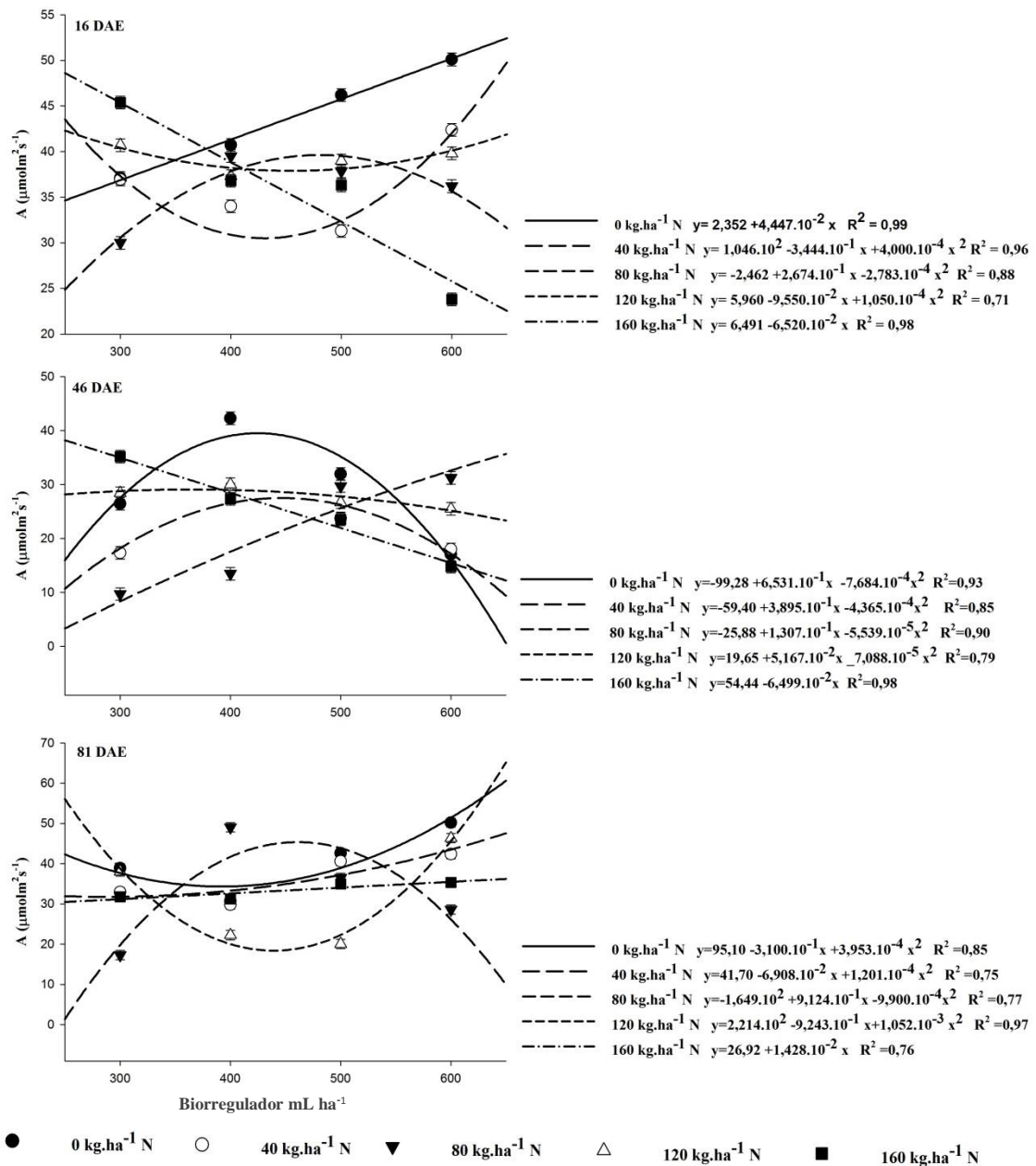


Figura 3. Efeito de concentrações do biorregulador (300, 400, 500 e 600 mL ha^{-1}) na assimilação de CO_2 (A , $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$) aos 16, 46 e 81 DAE em plantas de sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense* submetidas a diferentes concentrações de adubação nitrogenada no solo (0, 40, 80, 120, 160 kg ha^{-1}). Significativo $p \leq 0,05$.

Rodrigues (2008) em avaliação no final do ciclo da cultura, encontrou valores de assimilação líquida de CO₂, condutância estomática, concentração de CO₂ nos espaços intercelulares e transpiração em plantas de milho inoculadas com *Azospirillum brasilense* com adubação de 30 e 60 kg ha⁻¹ de N.

Avaliando a ação de reguladores vegetais em videira, Amaro (2014) verificou que a atividade fotossintética foi favorecida com o uso do Stimulate[®], melhorando também o metabolismo vegetal reduzindo o estresse oxidativo, aumentando a atividade de enzimas antioxidantes, melhorando o acúmulo de reservas e a concentração de pigmentos verdes nas plantas.

Estudando plantas de milho submetidas à deficiência hídrica e luminosa, Baldo (2007) encontrou redução de 50% na taxa de assimilação de CO₂ em plantas estressadas em relação ao controle. Chaves et al. (2009) relatam que o decréscimo da condutância estomática afetaram significativamente a assimilação de CO₂.

O resultado do tratamento nos níveis doses de nitrogênio no parâmetro de condutância estomática nas três épocas avaliadas apresentadas na figura 4 a dose de 72,2 kg ha⁻¹ de N apresentou a maior *gs* aos 16 DAE, contudo no decorrer do desenvolvimento da cultura a resposta das doses de nitrogênio para esse parâmetro mudaram, sendo que a resposta da condutância estomática tornou-se crescente com o aumento da dose de N aos 46 DAE e com resposta mínima na dose estimada de 70,0 kg ha⁻¹ de N aos 81 DAE.

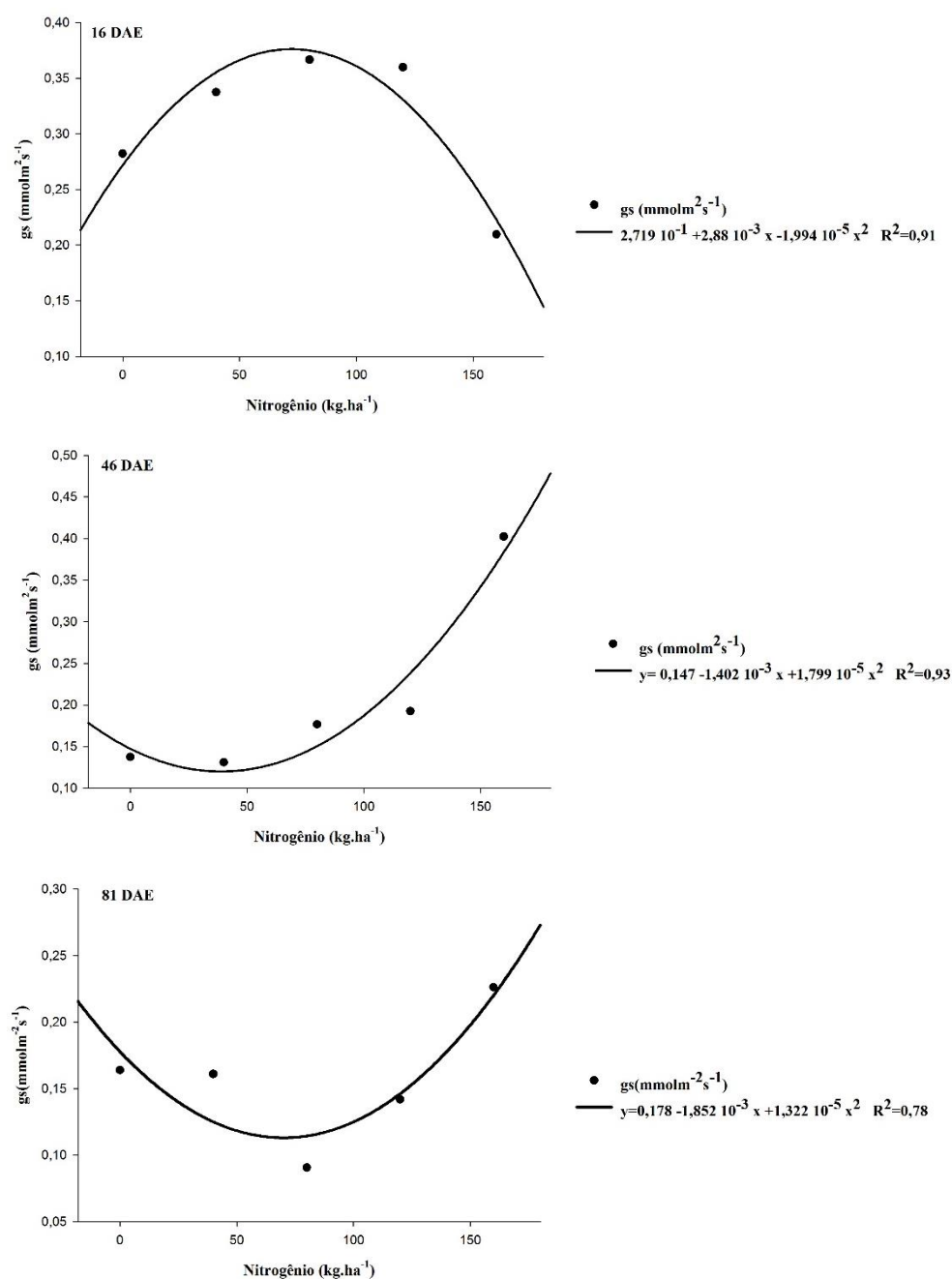


Figura 4. Efeito de concentrações de Nitrogênio (0, 40, 80, 120, 160 kg ha⁻¹) na Condutância estomática (gs, mmol m² s⁻¹) aos 16, 46 e 81 DAE em plantas de sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense* (*p ≤ 0,05).

Os resultados da interação dos tratamentos para a condutância estomática encontram-se na figura 5. Observa-se efeito significativo do biorregulador para este parâmetro aos 16 DAE, que responde de forma linear crescente ao aumento da dose

aplicada às plantas inoculadas que não receberam a adubação nitrogenada. A dose de 419,5 mL ha⁻¹ do biorregulador associada às plantas inoculadas que receberam 40 kg ha⁻¹ de N manteve a menor condutância estomática, contudo para as plantas que receberam 120 kg ha⁻¹ de N a aplicação do biorregulador agiu de forma negativa à condutância estomática (interpretado como indicativo de fechamento estomático) de forma linear à dose, contudo essa resposta está relacionada a um aumento na eficiência do uso da água pelas plantas.

De modo geral, ao se comparar o comportamento das curvas ajustadas aos 16 DAE com as de 46 DAE, percebe-se que os índices de gs tendem a ser maiores em 16 DAE. A maior condutância estomática aos 46DAE em plantas inoculadas e para o tratamento que não recebeu N via adubação, foi observada na dose de 453 mL ha⁻¹ de regulador. Sendo que no tratamento de 40 kg ha⁻¹ de N o valor mais elevado de gs foi na dose de 450,3 ml do biorregulador.

Em plantas que receberam 80 kg ha⁻¹ de N, a resposta ao aumento da dose do regulador refletiu no aumento da gs. Para os tratamentos que receberam 120 e 160 kg ha⁻¹ de N, a resposta do aumento da dose do regulador ocasionou na diminuição da gs para ambas as adubações (figura 5).

Na mesma figura, observa-se que aos 81 DAE os tratamentos com 0 kg e 120 kg ha⁻¹ de N na adubação, apresentaram curvas de regressão com parábola convexa, isto é, a gs diminuiu até o ponto mínimo da curva que apresentou dose de biorregulador de 412,25 e 435,70 mL ha⁻¹ respectivamente nesse ponto, aumentando o valor de gs a partir dessas doses para ambos os tratamentos. As plantas que receberam a adubação nitrogenada de 40kg ha⁻¹ obtiveram aumento dos valores de gs com o aumento da dose aplicada do biorregulador. A adubação de 80 kg ha⁻¹ de N em plantas inoculadas apresentaram condutância estomática máxima estimada com a dose de 460,5 mL ha⁻¹ de biorregulador. Nas plantas que receberam a adubação de 160 kg ha⁻¹ de N ocorreu diminuição gradual de gs com o aumento da dose do biorregulador.

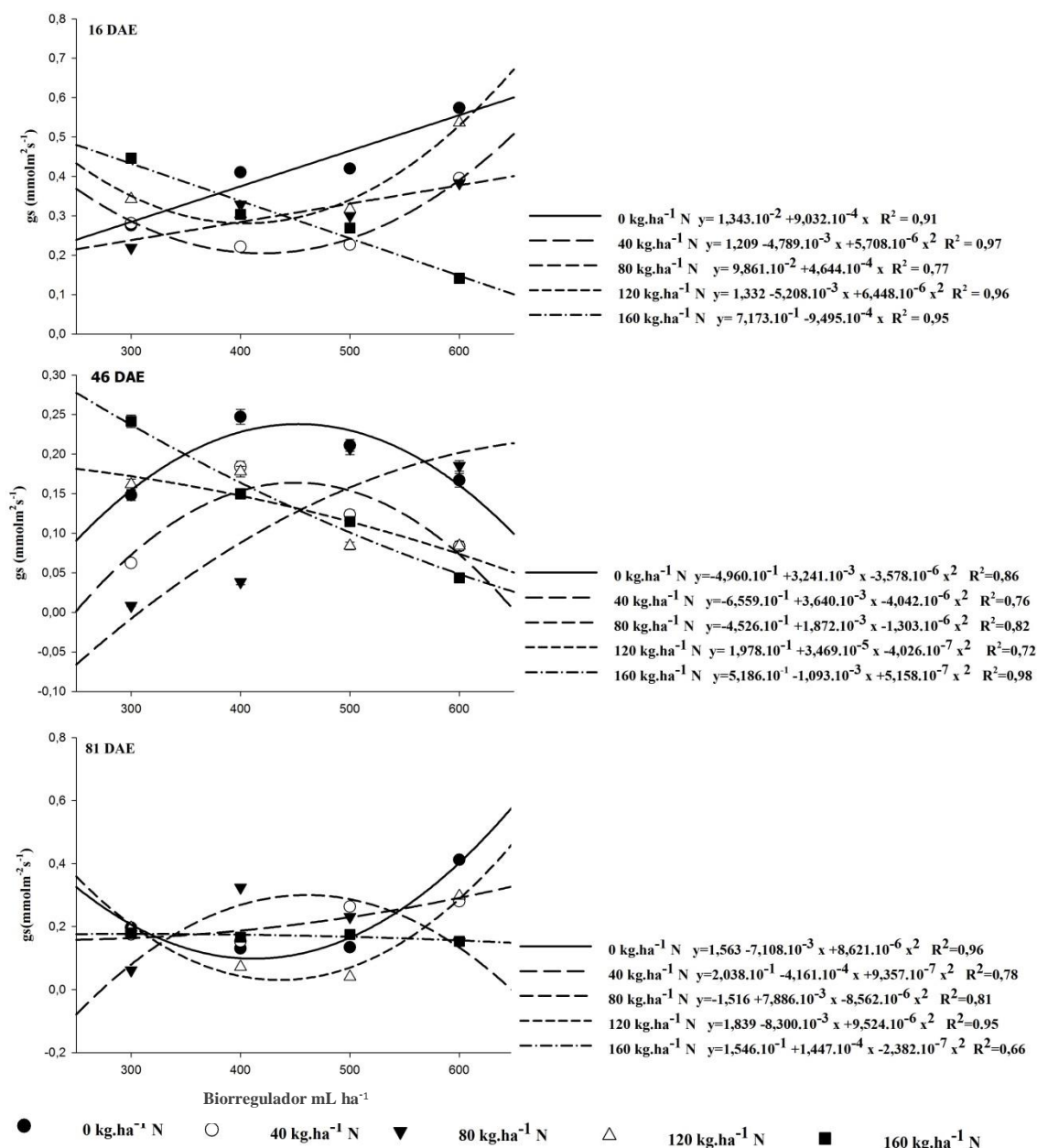


Figura 5. Efeito de concentrações de biorregulador (300, 400, 500 e 600 mL ha⁻¹) na Condutância estomática (gs, mmol m² s⁻¹) aos 16, 46 e 81 DAE em plantas de sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense*, submetidas a diferentes concentrações de adubação nitrogenada no solo (0, 40, 80, 120, 160 kg ha⁻¹). Significativo $p \leq 0,05$.

Para minimizar a perda de água o fechamento do estômato é fundamental, atuando como mecanismo de defesa ao dessecamento, limitando simultaneamente a assimilação de CO₂ (PIMENTEL, 2000), mas também podem fechar quando o déficit de pressão de vapor entre a folha e o ar aumenta (OREN et al., 2001).

Em estudo com quatro genótipos de cana-de-açúcar Gonçalves et al. (2010) constataram que há tendência de redução da condutância estomática com o desenvolvimento da cultura.

No estudo de Rodrigues (2014) as maiores condutâncias estomáticas foram encontradas em plantas de milho inoculado com *Azospirillum brasilense* que receberam a estirpe Ab-V5, que promoveram elevados valores na concentração de CO₂ nos espaços intercelulares e na taxa de transpiração foliar.

Em sua pesquisa Cechin (1997), verificou a condutância estomática de dois híbridos de sorgo, e notou que a característica avaliada aumentou em ambos os híbridos com o aumento da adubação nitrogenada, contudo o aumento da condutância no híbrido C42 acarretou na maior taxa fotossintética do mesmo.

A resposta da Ci em função das doses de nitrogênio são apresentados na figura 6. A máxima Ci encontrada aos 16 DAE foi na dose estimada de 82,2 kg ha⁻¹ de N, contudo o resultado da Ci aos 46 DAE decresceu com o aumento de dose de nitrogênio e aos 81 DAE a Ci máxima ocorreu com a dose de 107,9 kg ha⁻¹ de N.

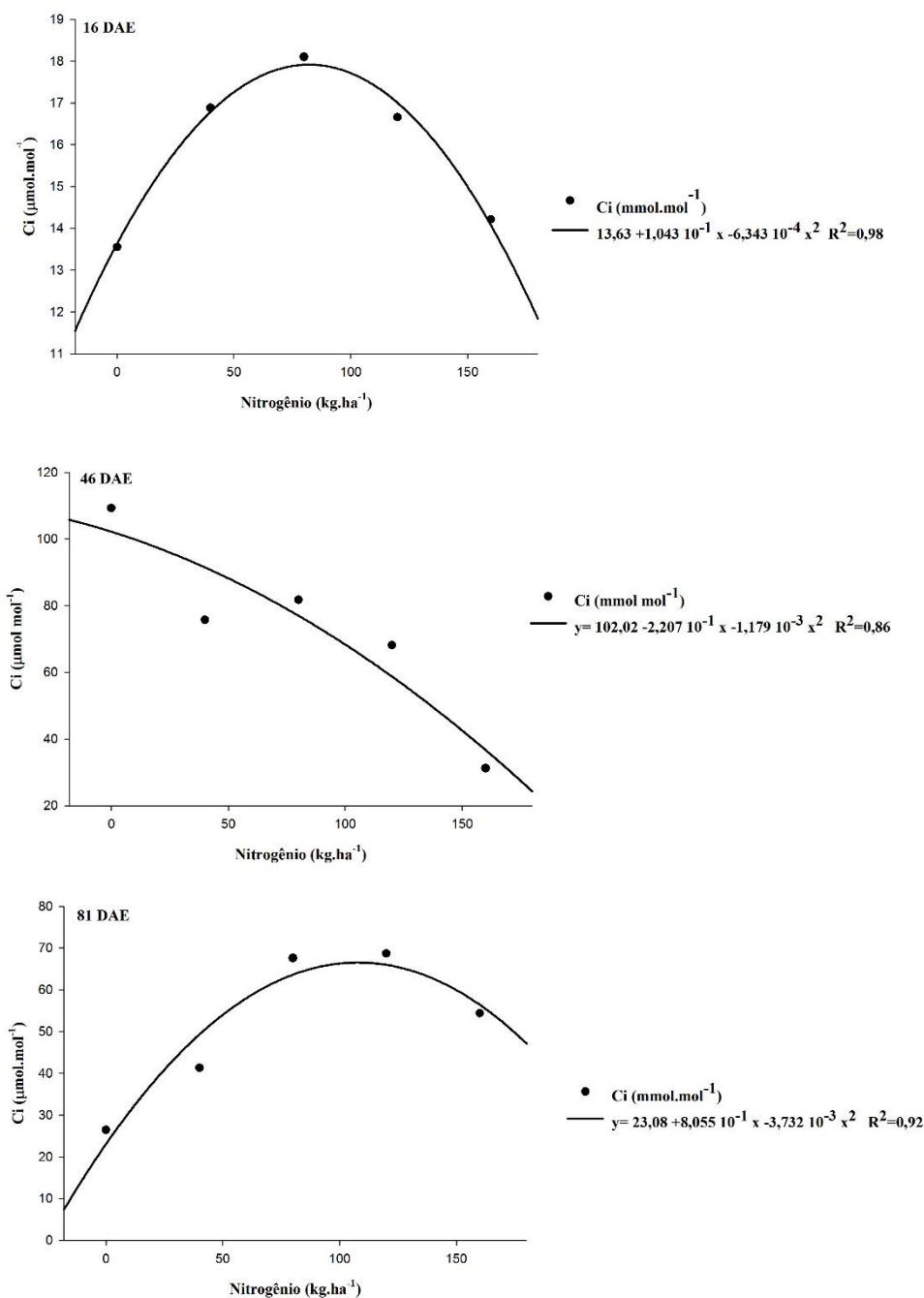


Figura 6. Efeito de níveis doses de Nitrogênio ($0, 40, 80, 120, 160 \text{ kg ha}^{-1}$) na Concentração interna de CO_2 ($Ci, \mu\text{molmol}^{-1}$) aos 16, 46 e 81 DAE em plantas de sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense* ($*p \leq 0,05$).

A partir da avaliação das curvas de regressão entre os diferentes tratamentos com a adubação de N em plantas inoculadas e as doses aplicadas do biorregulador (figura 7), verifica-se que aos 16 DAE ocorre diminuição da Ci com o aumento da dose do biorregulador no tratamento sem aplicação de N, que quando

comparado com a assimilação momentânea de CO₂ seria refletido em uma dose do regulador que desencadeia um efeito na eficiência fotossintética para esse período (466mL ha⁻¹), ou seja, em sinergia com a simbiose, que promoveu maior atividade da enzima rubisco. Porém o tratamento onde as plantas foram adubadas com 40 kg ha⁻¹ apresentou a curva de regressão convexa com ocorrência de maior *Ci* na dose de 418,84 mL ha⁻¹ de biorregulador, contudo esse dado não refletiu na maior eficiência de carboxilação, o que pode ser o resultado de uma menor quantidade da enzima rubisco capturando CO₂. A *Ci* apresentou queda com o aumento da dose de nitrogênio aos 46 DAE, no entanto aos índices de *Ci* apresentados nesse período, apresentam-se mais elevados em comparação aos 16 DAE. Aos 81 DAE a *Ci* torna-se a aumentar nos tratamentos mais elevados de nitrogênio.

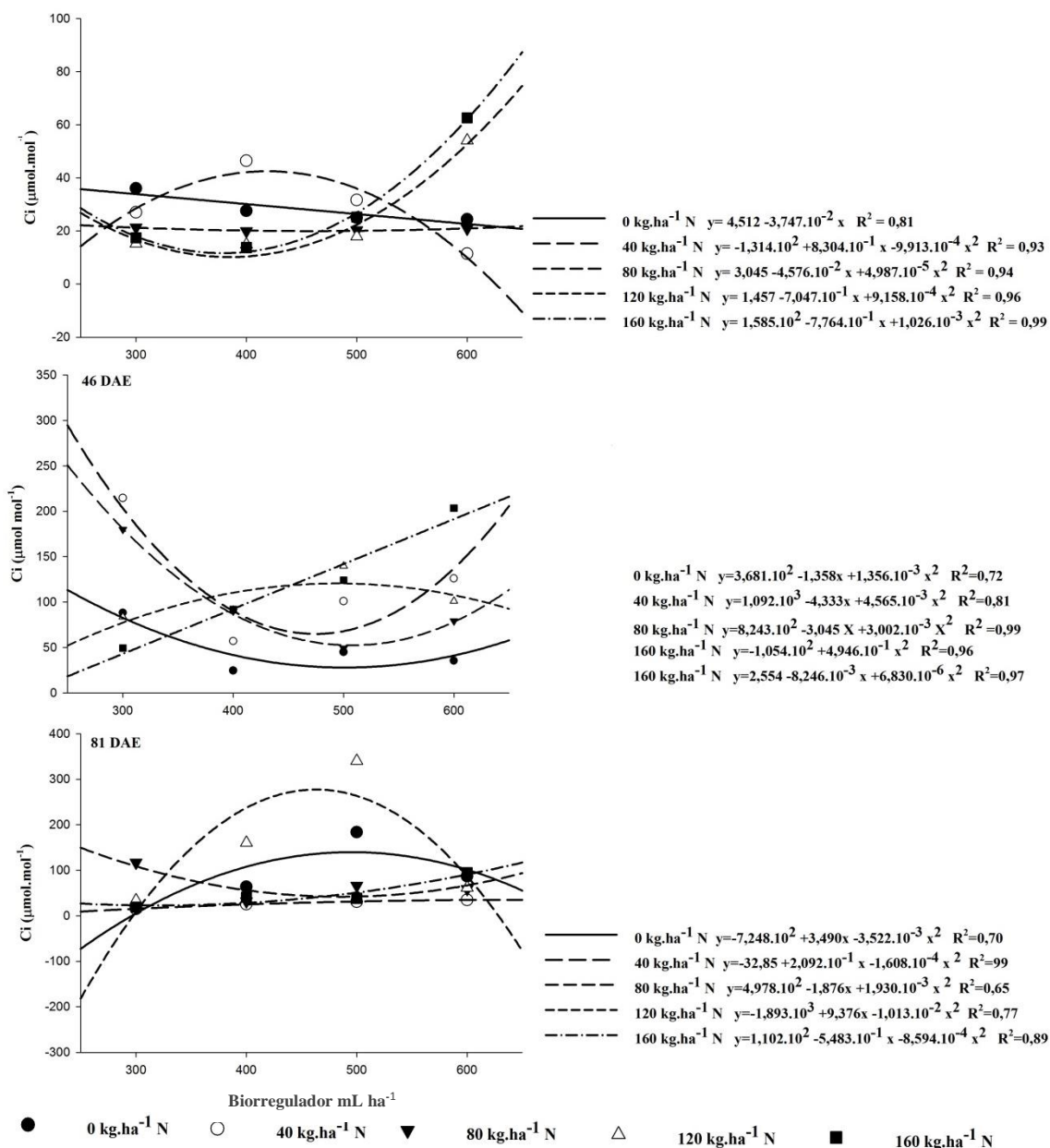


Figura 7. Efeito de concentrações de biorregulador (300, 400, 500 e 600 mL ha⁻¹) na Concentração interna de CO₂ (C_i , $\mu\text{mol mol}^{-1}$) aos 16, 46 e 81 DAE em plantas de sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense* submetidas a diferentes doses de níveis adubação nitrogenada no solo (0, 40, 80, 120, 160 kg ha⁻¹). Significativo $p \leq 0,05$.

Os resultados obtidos de C_i e suas implicações na atividade fotossintética podem ser melhor compreendidos considerando Grossmann e Retzlaff (1997) no qual relatam que o aumento na fotossíntese líquida está ligado às alterações no

ponto de compensação de CO₂, o que favorece a absorção de CO₂ em oposto à sua liberação pela respiração.

Ainda neste contexto Farquhar e Sharkey (1982) discutem em seu trabalho que durante as trocas gasosas, os estômatos regulam a concentração subestomática de CO₂ (C_i), mantendo o C_i relativamente constante, desse modo, o C_i reflete a disponibilidade de substrato para a fotossíntese, podendo indicar se o fechamento estomático está restringindo a atividade fotossintética. Os autores relatam ainda que o aumento em concentração de CO₂ no interior da câmara subestomática proporciona uma elevação na taxa de assimilação líquida de CO₂ pela planta, porém, em um determinado momento, a entrada do CO₂ na folha não interfere diretamente em aumento da taxa de assimilação líquida, sendo então esse ponto definido como o de máxima eficiência de carboxilação.

Hikosaka (2004) relata que o conteúdo de nitrogênio é fortemente correlacionado com a capacidade fotossintética e suas características, bem como a capacidade de carboxilação e a taxa de transporte de elétron. Já Lawson et al. (2012) acrescentam que os estômatos respondem aos fatores ambientais, atendendo à demanda de CO₂. Entretanto, essas repostas são mais lentas que o processo da fotossíntese, o que pode causar desbalanço entre a condutância estomática e a assimilação de carbono.

A eficiência de carboxilação é uma estimativa entre a Carboxilação de CO₂ e a concentração interna de CO₂ presente no mesofilo. O resultado da eficiência da carboxilação encontram se na figura 8. Aos 16 DAE há diminuição da eficiência carboxilativa com o aumento da dose de nitrogênio, aos 46 DAE a resposta a eficiência aumentou com o aumento da dose do tratamento de N e aos 81 DAE o resultado do aumento da dose de N fez diminuir a eficiência fotossintética.

Em estudos de interação entre a disponibilidade de nitrogênio e o fracionamento isotópico de carbono 13 (¹³C) na produtividade de plantas com metabolismo C₄, constatou-se que, a deficiência de nitrogênio reduz drasticamente a capacidade fotossintética em cana-de-açúcar e milho, pois a atividade da PEPC e da rubisco são diretamente afetados (RANJITH et al., 1995; MEIZER; ZHU, 1998). Kölln (2012) estudando o metabolismo fotossintético da cana-de-açúcar, encontrou reduções do isótopo ¹³C com o aumento da disponibilidade de nitrogênio, ou autor relata que essa redução

provavelmente ocorreu devido à maior atividade da fosfenol-enovil-carboxilase (PEPC) e da rubisco nos tratamentos com maior disponibilidade de N.

A eficiência carboxilativa em plantas inoculadas com *Azospirillum brasilense* apresentou diferentes respostas em relação ao nível de biorregulador aplicado influenciado à adubação nitrogenada e também a época da avaliação (Figura 9).

Os resultados de regressão mostram que aos 16 DAE a aplicação do biorregulador foi mais eficiente com a dose estimada de 466,6 mL ha⁻¹ nas plantas que não receberam a adubação nitrogenada (0 kg ha⁻¹ de N) onde a relação A/Ci chegou a 8,00 $\mu\text{mol}(\text{CO}_2) \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} / \mu\text{mol}(\text{CO}_2) \text{ mol}^{-1}$, isso devido à maior assimilação líquida de CO₂ e diminuição da concentração interna de CO₂.

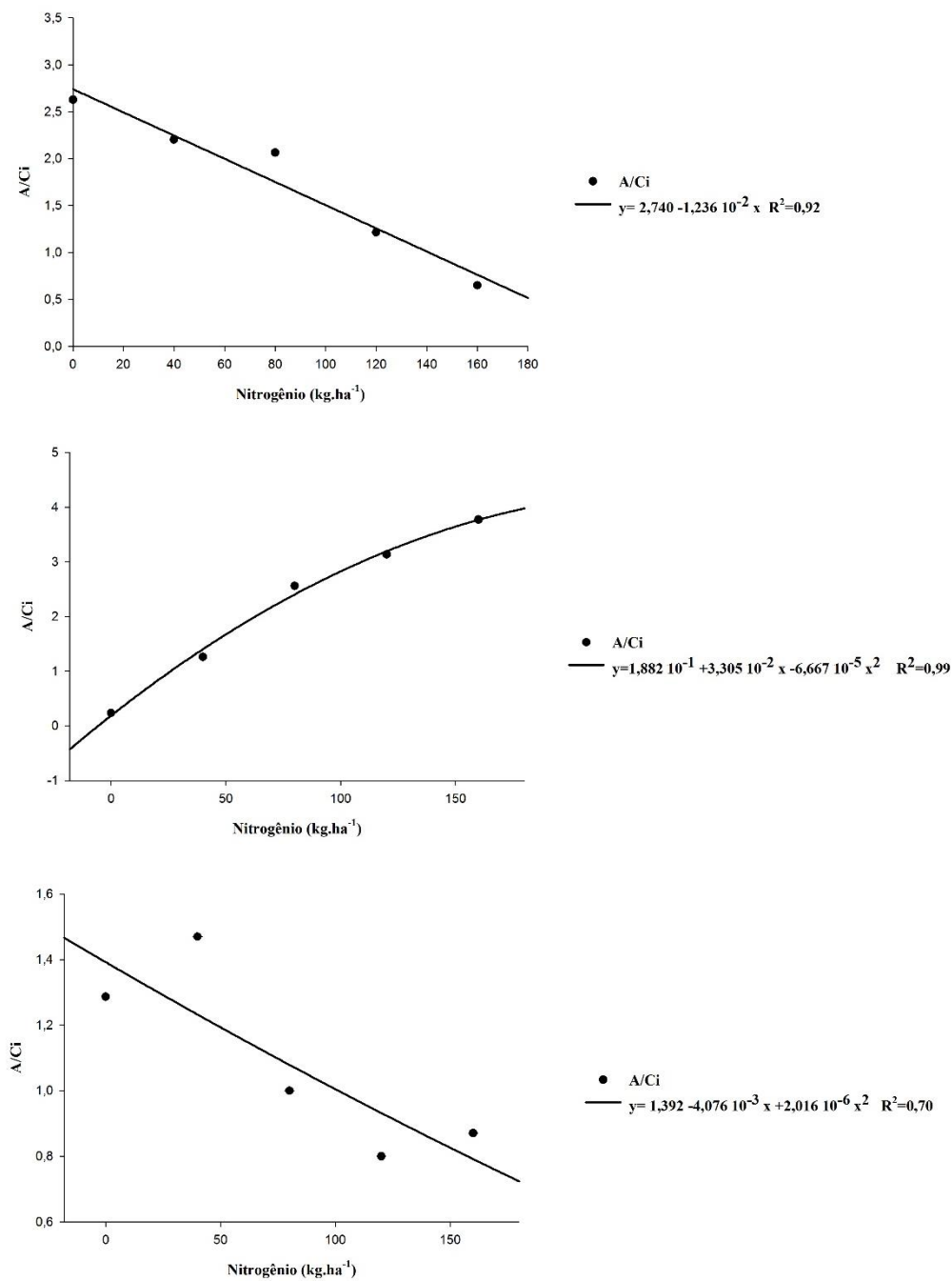


Figura 8. Efeito de concentrações de Nitrogênio (0, 40, 80, 120, 160 kg ha⁻¹) na Eficiência Carboxilativa (A/Ci) aos 16, 46 e 81 DAE em plantas de sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense* (* $p \leq 0,05$).

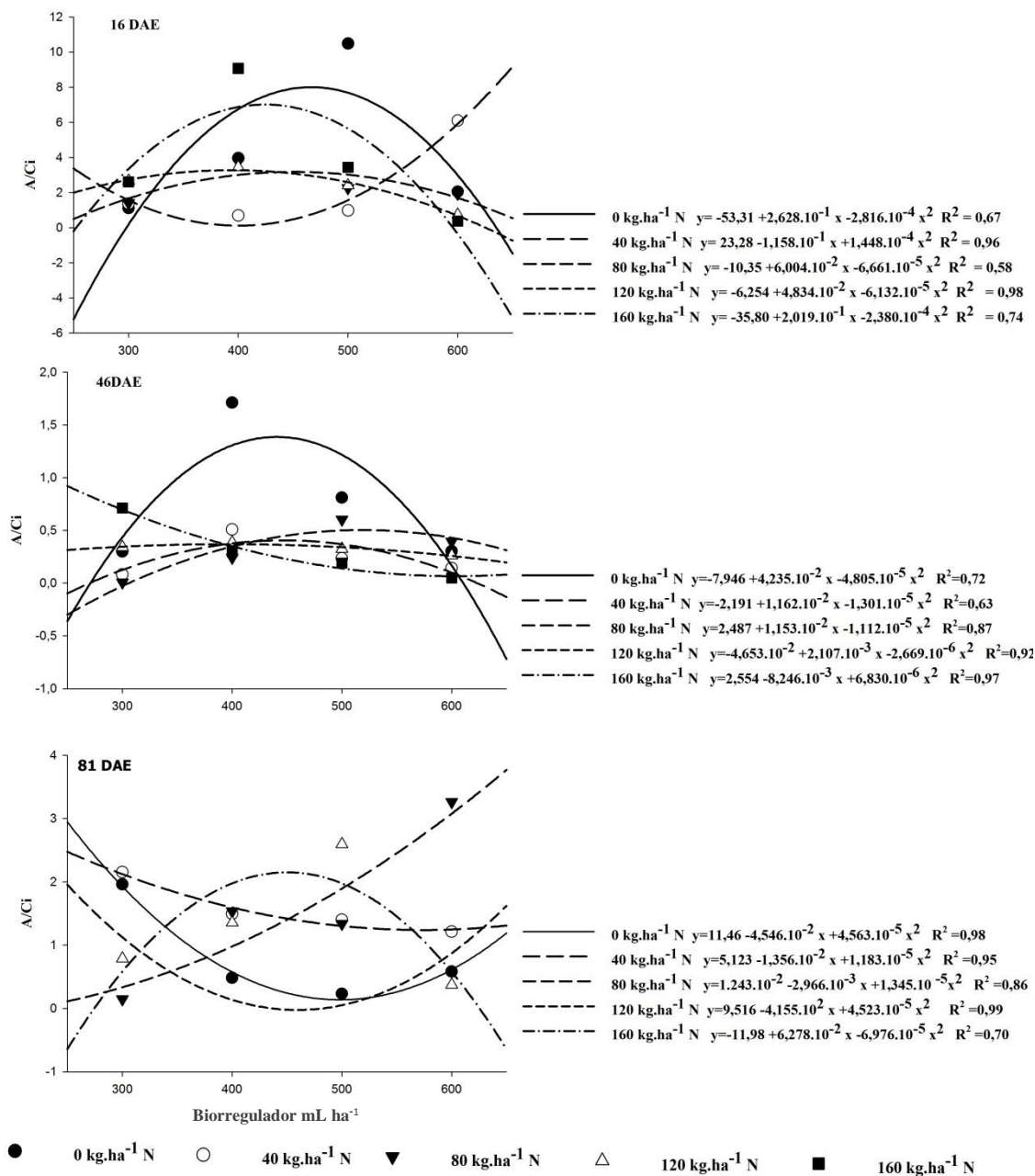


Figura 9. Efeito de concentrações de biorregulador (300, 400, 500 e 600 mL ha⁻¹) na Eficiência Carboxilativa (A/Ci), aos 16, 46 e 81 DAE em plantas de sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense* submetidas a diferentes concentrações de adubação nitrogenada no solo (0, 40, 80, 120, 160 kg ha⁻¹). Significativo $p \leq 0,05$.

Observa-se que há melhoria carboxilativa relacionada à inoculação com a bactéria fixadora de nitrogênio e a aplicação do biorregulador dos 16 DAE até 46 DAE onde a eficiência carboxilativa foi menor em comparação ao período anterior, porém foi maior em relação aos tratamentos e a dose de 440,68 mL do biorregulador

proporcionou eficiência de 1,38 ($\mu\text{mol}(\text{CO}_2) \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} / \mu\text{mol}(\text{CO}_2) \text{ mol}^{-1}$) em plantas não adubadas com nitrogênio.

A eficiência de carboxilação, segundo Larcher (2006), Barbosa e Gonzaga (2012), é definida como a velocidade com que o CO_2 fixado é processado. Essa velocidade de fixação depende principalmente, da quantidade, atividade enzimática e disponibilidade de CO_2 , podendo ser influenciada ainda pela concentração do aceptor (RuBisCo), temperatura, grau de hidratação do protoplasma, suprimento de substâncias minerais (especialmente fosfato), grau de desenvolvimento e atividade da planta.

Também pode estar relacionado à maior eficiência de carboxilação a permanência da abertura dos estômatos por um período maior de tempo (LARCHER, 2000, Castro et al., 2005).

Segundo Criado et al. (2009) a aplicação exógena de citocininas aumenta a atividade da enzima rubisco, otimizando a eficiência de carboxilação e a giberelina, aumentando a área foliar e ainda pode influenciar nas trocas gasosas. Nesse sentido, citocininas e giberelinas agem de forma positiva no crescimento e produção de plantas (ALBACETE; PÉREZ-ALFOCEA, 2013; CRIADO et al., 2009).

Segundo Werner e Schmölling (2009) à aplicação de citocinina aumenta a atividade da enzima nitrato redutase, isto indica que a citocinina também interfere na capacidade de assimilação de nitrogênio pelas plantas. Segundo Farquar e Sharkey (1982) um alto valor de C_i associado a baixas condutâncias estomáticas indicariam um decréscimo na eficiência de carboxilação. Saikia et al. (2007) observaram que plantas de trigo inoculadas com *Azospirillum spp*, apresentaram maior taxa de fotossíntese e maior condutância estomática, resultando em maior rendimento de sementes em comparação com às plantas não-inoculadas.

Barros Neto (2008) não observaram influência dos níveis de N na resposta a inoculação. Assim como Barraco et al. (2009), em seus estudos em milho tratado com *Azospirillum*, detectaram uma melhoria de 6% na produção de grãos em relação ao controle sem inoculação. Sala et al. (2008) inocularam sementes de trigo e trataram com diferentes doses de nitrogênio (0, 60 e 120 kg ha^{-1} de uréia) encontrando respostas da adubação e bactérias endofíticas. Relataram também que ao aumentar a dose do nitrogênio de 60 para 120 kg ha^{-1} ocorreu o decréscimo linear no índice de eficiência no

uso desse nutriente refletindo nos componentes de crescimento da cultura, afetando a produção fotossintética.

Assim como para os demais componentes fotossintéticos, o biorregulador apresentou efeito fisiológico na transpiração das plantas em sinergia com os tratamentos nitrogênio (tabela 4). Observa-se que, a interação dos tratamentos de concentrações de nitrogênio e de biorregulador apresentaram concentração interna de CO₂ menores em comparação da ação isolada do biorregulador (nível 0 kg ha⁻¹ de N) dos 16 aos 46 DAE. Aos 81 DAE as respostas dos tratamentos à *Ci* mostram que, para o estágio de maturação a concentração interna de CO₂ é maior ao nível de dose de 80 kg ha⁻¹ de nitrogênio na dose de 468,1 mL ha⁻¹ do biorregulador. Resultados que condizem ao fator de carboxilação ativa quando há bases nitrogenadas para a formação de compostos proteicos devido a necessidade de crescimento e desenvolvimento vegetal.

Caracterizando a importância deste parâmetro fisiológico, Marengo e Lopes (2009) ressaltam que a transpiração é a evaporação da água a partir da superfície da folha exposta ao ar, através dos estômatos, pelos quais passam 90% do CO₂ captado.

De acordo com Assis e Verona (1997) a transpiração tem papel importante no crescimento e desenvolvimento da cultura, pois é via de acesso ao dióxido de carbono para a fotossíntese, tornando esses dois parâmetros intimamente associados.

Shimazaki et al. (2007) salientaram que a perda de água pelas plantas é regulada pela atividade das células-guardas. Acrescenta-se que o aumento na transpiração das plantas, no decorrer do dia, se deve, sobretudo, à inabilidade de alguns vegetais em absorver água suficiente para repor aquela consumida no processo transpiratório (PIMENTEL; PERES 2000). Ressalte-se que, em condições naturais, à medida em que a temperatura se eleva, a umidade relativa do ar diminui e as respostas dos diversos processos metabólicos das plantas refletem na interação entre estes fatores (MEDINA et al., 1999).

Tabela 4. Análise de regressão para o componente de transpiração E em concentrações de biorregulador através diferentes níveis de adubação nitrogenada, aos 16, 46 e 81 DAE em plantas de sorgo sacarino inoculadas com *Azospirillum brasilense*. Campo Grande, MS, 2014/15.

kg ha ⁻¹ de N	16 DAE	Biorregulador mL ha ⁻¹	E	R^2
0	$Y_0 = 21,83 + 1,300 \cdot 10^{-1}x - 1,358 \cdot 10^{-4}x^2$	478,6	52,90	0,94*
40	$Y_0 = 17,27 - 3,692 \cdot 10^{-2}x + 3,342 \cdot 10^{-5}x^2$	552,3	7,07	0,75*
80	$Y_0 = 33,00 - 1,036 \cdot 10^{-1}x + 1,063 \cdot 10^{-4}x^2$	487,3	7,75	0,85*
120	$Y_0 = 20,54 + 3,535 \cdot 10^{-2}x - 5,173 \cdot 10^{-5}x^2$	341,7	26,57	0,60*
160	$Y_0 = 27,67 - 1,002 \cdot 10^{-1}x + 1,126 \cdot 10^{-4}x^2$	444,9	5,30	0,91*
46 DAE				
0	$Y_0 = -20,03 + 1,240 \cdot 10^{-1}x - 1,289 \cdot 10^{-4}x^2$	480,0	9,80	0,74*
40	$Y_0 = -17,74 + 1,029 \cdot 10^{-1}x - 1,142 \cdot 10^{-4}x^2$	450,5	5,44	0,94*
80	$Y_0 = -12,86 + 5,296 \cdot 10^{-2}x - 3,302 \cdot 10^{-5}x^2$	802,0	8,37	0,90*
120	$Y_0 = 2,613 + 2,292 \cdot 10^{-2}x - 3,639 \cdot 10^{-5}x^2$	314,9	6,22	0,85*
160	$Y_0 = 12,13 + 1,461 \cdot 10^{-2}x - 28,82 \cdot 10^{-6}x^2$	253,4	30,6	0,90*
81 DAE				
0	$Y_0 = 22,61 - 9,448 \cdot 10^{-2}x + 1,174 \cdot 10^{-4}x^2$	402,4	3,60	0,91*
40	$Y_0 = 11,86 - 4,128 \cdot 10^{-2}x + 5,840 \cdot 10^{-2}x^2$	-	-	0,91*
80	$Y_0 = -27,27 + 1,468 \cdot 10^{-1}x - 1,568 \cdot 10^{-4}x^2$	468,1	61,63	0,74*
120	$Y_0 = 49,10 - 2,138 \cdot 10^{12}x + 2,402 \cdot 10^{-4}x^2$	-	-	0,97*
160	$Y_0 = 21,29 - 7,905 \cdot 10^{-2}x + 9,135 \cdot 10^{-5}x^2$	432,7	4,18	0,80*

Significativo $p \leq 0,05$

Assim, com o aumento da transpiração, aumenta-se o substrato da carboxilação no interior da folha, sendo que esse aumento somente será efetivo para a fotossíntese se a carboxilação estiver ativa. Dessa maneira, espera-se que ocorra alta relação entre carboxilação e perda de água pelo estômato otimizando a produção vegetal final.

Observando o comportamento dos tratamentos de nitrogênio na EUA (figura 10) constata-se que aos 16 DAE a curva de resposta foi convexa com ponto de mínimo na dose de 64,6 kg ha⁻¹ de N (tratamento 0 kg ha⁻¹ de N) contudo, com a aplicação do tratamento de nitrogênio o metabolismo vegetal passou a assimilar o nitrogênio prontamente disponível, sendo que a carboxilação em relação a transpiração diminuiu a partir do tratamento de 40 kg ha⁻¹ até e o ponto de mínimo (dose de 64,6 kg ha⁻¹ de N), no qual a resposta da *EUA* passou a ser maior com o aumento da disponibilidade de nitrogênio.

Aos 46 DAE ao resultado da *EUA* nas doses de nitrogênio mostram que com o aumento do nível de dose de N a eficiência diminui. Aos 81 DAE a *EUA* chegou a 8 $\mu\text{mol CO}_2$ (mol H_2O) ao nível de 63,3 kg ha^{-1} de nitrogênio, diminuindo a eficiência em dosagens maiores. Essa baixa eficiência está intrinsecamente ligada à resposta de *A* e *gs* que se apresentaram elevadas a partir dos níveis de dose de 80 kg ha^{-1} e a correlação entre esses componentes de forma negativa com a *Ci*.

Serraj e Sinclair (2002) descrevem em seu trabalho que a diminuição da *EUA* com o aumento da adubação nitrogenada pode estar associada ao ajustamento osmótico das células, isto é, à diminuição do potencial hídrico celular ocasionado pelo acúmulo de solutos orgânicos, o que contribui para a manutenção da absorção de água e turgescência das células, o que permite ao metabolismo fisiológico a manutenção da abertura estomática, fotossíntese expansão celular (LARCHER 2004; TAIZ e ZEIGER, 2013; SOARES et al., 2013).

As plantas inoculadas que apresentaram a melhor eficiência carboxilativa aos 16 DAE, não apresentaram a mesma eficácia no requisito *EUA*, devido à resposta *Ci* apresentar-se alta.

Observa-se na figura 11 que as melhores respostas de *EUA*, ficaram sujeitas às menores níveis do biorregulador na interação com os concentrações de 0, 40 e 80 kg ha^{-1} de N. As plantas que receberam 120 e 160 kg ha^{-1} apresentaram as curvas de regressão de *EUA* com pontos de máxima de 4,91 e 5,51 $\mu\text{mol CO}_2$ (mol H_2O) nas doses estimadas de 475,56 e 472,53 mL ha^{-1} do biorregulador, respectivamente, níveis de regulador que otimizaram a relação de substrato (*gs* e CO_2) e a atividade da rubisco, efetivando a carboxilação.

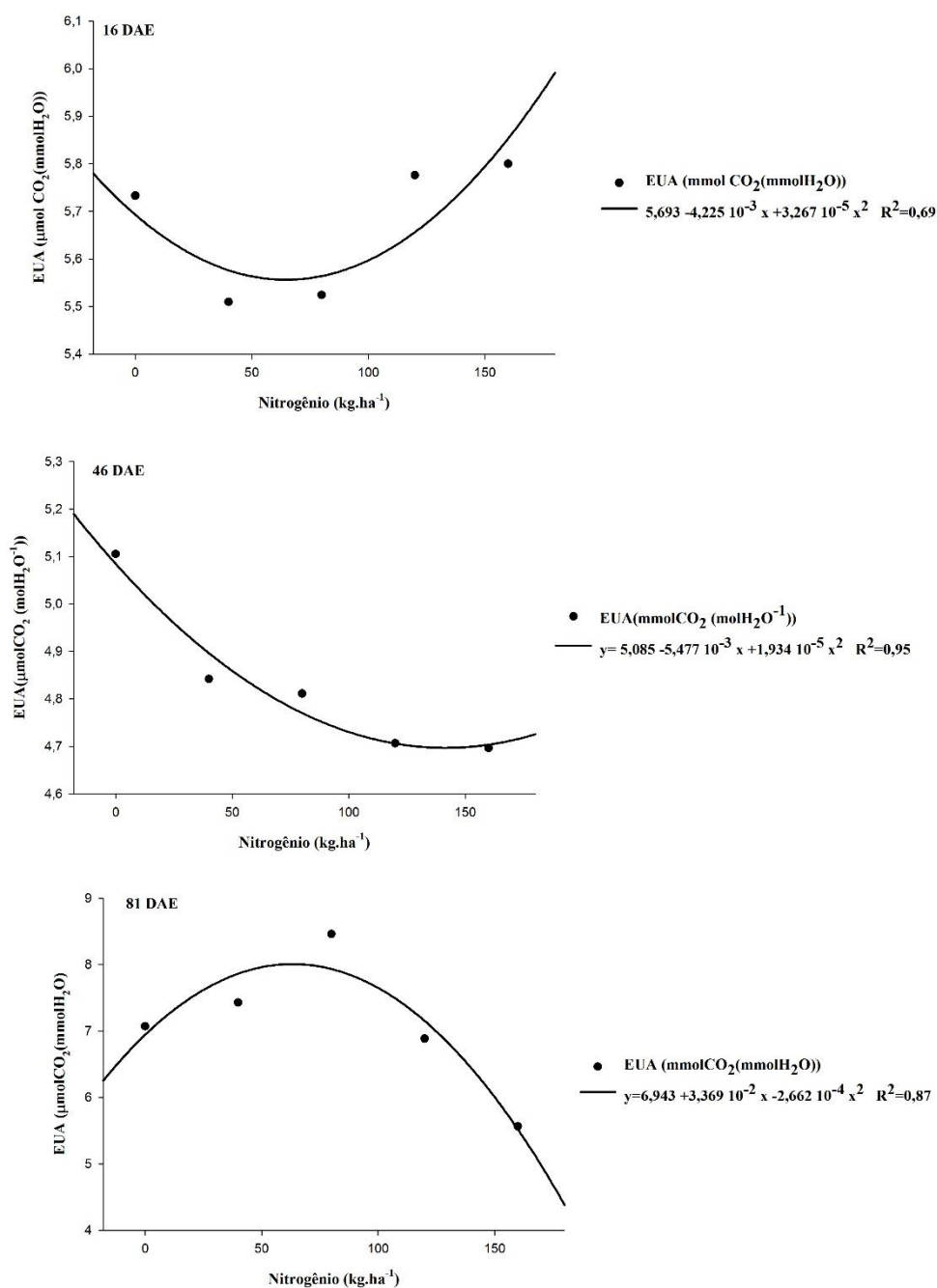


Figura 10. Efeito de concentrações de Nitrogênio (0, 40, 80, 120, 160 kg ha^{-1}) na Eficiência do Uso da Água (EUA($\mu\text{molCO}_2(\text{molH}_2\text{O}^{-1})$)), aos 16, 46 e 81 DAE em plantas de sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense* (* $p \leq 0,05$).

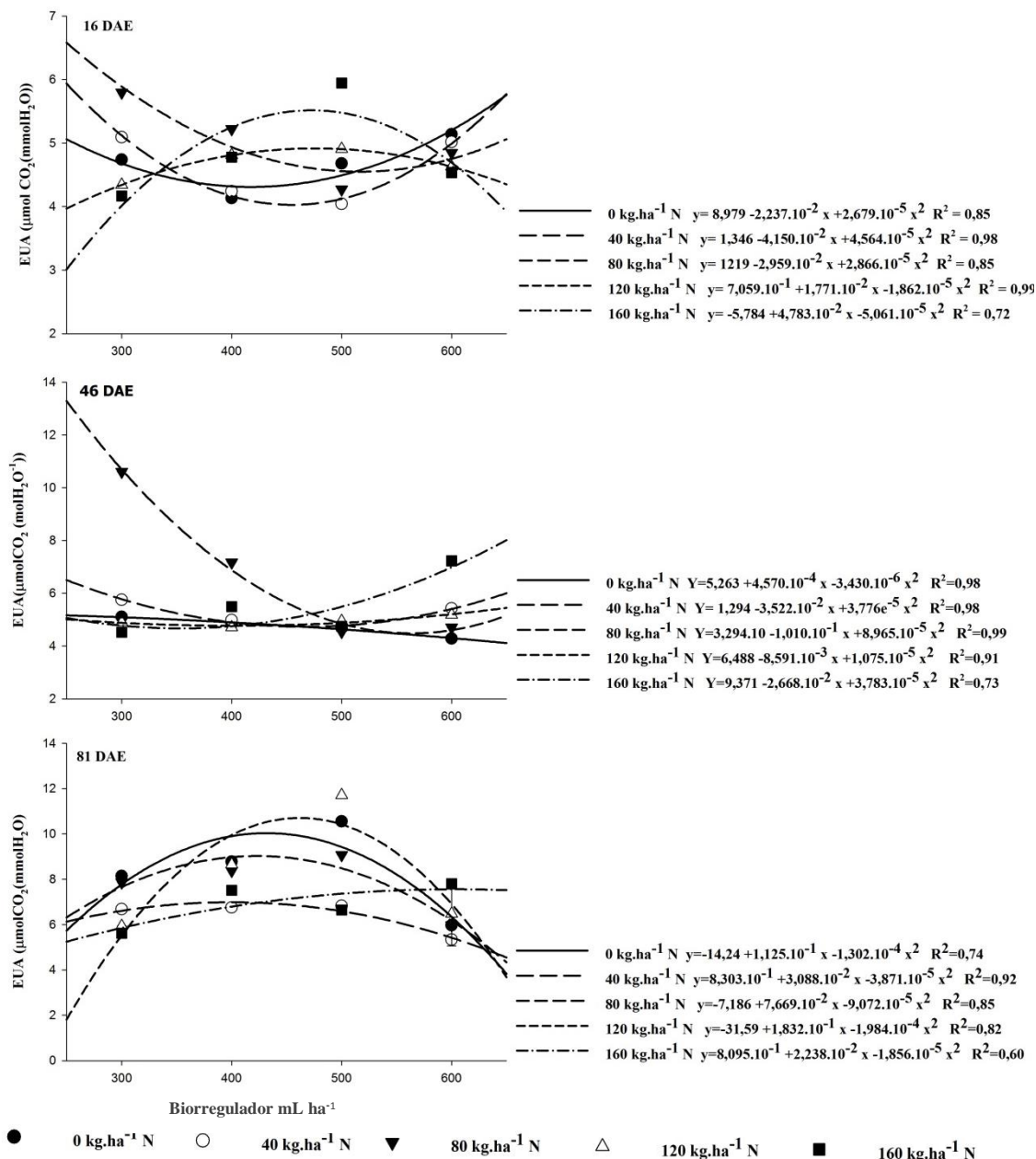


Figura 11. Efeito de concentrações de biorregulador (300, 400, 500 e 600 mL ha⁻¹) na Eficiência do Uso da Água ($EUA(\mu\text{mol CO}_2(\text{mol H}_2\text{O}))$), aos 16, 46 e 81 DAE em plantas de sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense* submetidas a diferentes concentrações de adubação nitrogenada no solo (0, 40, 80, 120, 160 kg ha⁻¹). Significativo $p \leq 0,05$.

Aos 81 DAE o melhor resultado para a EUA ocorreu na interação dos tratamentos de adubação nitrogenada de 120 kg ha⁻¹, em dose estimada de 461,7 mL ha⁻¹ de biorregulador (10,70 $\mu\text{mol CO}_2(\text{mm H}_2\text{O})$). Observa-se que também ocorreu melhoras da eficiência do uso da água nos tratamentos que receberam somente o regulador.

Assim, com a estimativa de dose de 432 mL ha⁻¹ a *EUA* atinge de 10,07 $\mu\text{molCO}_2(\text{mmH}_2\text{O})$.

Estima-se que nos tratamentos cuja eficiência apresentou-se menor, seja devido ao aumento da transpiração ou a menor atividade da enzima rubisco. Outra evidência pode estar relacionada, nos parâmetros carboxilativos no momento em que a concentração interna de CO₂ encontra-se na capacidade máxima, fator este que juntamente com a abertura estomática permitiria apenas o fluxo de moléculas de água pelo poro estomático, diminuindo assim a eficiência (FARQUHAR; SHARKEY, 1982).

5.2 Índice Spad

A intensidade do verde das folhas analisado através do índice Spad, foi significativo entre os tratamentos (tabela 5) e também houve interação entre os tratamentos de doses do biorregulador em doses de nitrogênio (tabela 6).

A resposta da análise de regressão no tratamento de doses de nitrogênio no índice Spad apresentada na tabela 6, mostra que aos 16 DAE o teor de clorofila (cor verde) aumenta com o aumento da dose de N. Aos 46 DAE a coloração verde torna-se mais intensa com N estimado a 135 kg ha⁻¹. Aos 81 DAE o teor de verde das plantas torna-se maior com o aumento da dose de N.

Tabela 5. Quadrados médios das análises de variância e níveis de significância, médias e coeficientes de variação referentes ao índice Spad aos 16,46 e 81 DAE, foliar em função dos tratamentos de concentrações de N e concentrações de biorregulador, em sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense*. Campo Grande, MS, 2014/15.

Causa da variação	Índice Spad		
	16 DAE	46 DAE	81 DAE
Doses N	32,05*	34,40*	47,58*
Doses RV	30,20*	43,94*	28,01*
N x RV	16,55*	49,90*	27,74*
Resíduo	0,14	0,96	1,11
Média Geral	42,55	37,98	36,63
C.V (%)	0,93	2,64	2,89

Doses N: Doses de Nitrogênio; Doses RV: Doses de Biorregulador; N x RV: interação entre as doses de Nitrogênio e Biorregulador; C.V: Coeficiente de Variação; DAE: dias após a emergência. * $p \leq 0,05$.

Esses resultados demonstram que as plantas próximas da maturação, permanecem verdes com o aumento da disponibilidade de N. Segundo Fagan et al, (2015) a manutenção da coloração verde das folhas está ligada a produção de citocininas, que mantém o aparelho fotossintético ativo, podendo atrasar a senescência e promover o maior desenvolvimento das gemas laterais.

Tabela 6. Coeficiente de regressão entre os tratamentos de concentrações de Nitrogênio aos 16, 46 e 81 DAE em plantas de sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense* para o índice Spad. Campo Garnde, MS, 2014/15.

Equações ajustadas	Índice Spad	N kg ha⁻¹	R²
16 DAE			
$Y_0 = 47,88 - 0,2112x + 0,001x^2$	36,72	105,5	0,93*
46 DAE			
$Y_0 = 40,947 + 0,0081x^2 - 3,0 \cdot 10^{-5}x^3$	41,5	135	0,89*
81 DAE			
$Y_0 = 37,105 - 0,0158x$	-	-	0,17 ^{ns}

* Significativo $p \leq 0,05$

Na tabela 7, a partir da avaliação dos resultados da análise de regressão aos 16 DAE, verifica-se que as plantas inoculadas com *Azospirillum brasilense* obtiveram maior intensidade da cor verde nos tratamentos com o biorregulador nas doses de 40 e 80 kg ha⁻¹ de N.

Aos 46 DAE, observa-se nesse estágio, que o índice Spad apresentou pico na dose de 458,0 mL ha⁻¹ de biorregulador quando interagiu no tratamento de 0 kg ha⁻¹ de N, o que também ocorreu com a dose de 120 kg ha⁻¹ de nitrogênio (tabela 7).

Tabela 7. Índice Spad em função do coeficiente de regressão entre os tratamentos de concentrações de Nitrogênio e de concentrações de biorregulador aos 16, 46 e 81 DAE em plantas de sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense*. Campo Grande, MS, 2014/15.

Kg ha-1 de N	16 DAE	Biorregulador mL ha⁻¹	Índice Spad	R²
0	$Y_0 = 21,19 + 9,845 \cdot 10^{-2}x - 1,075 \cdot 10^{-4}x^2$	458,0	43,7	0,53*
40	$Y_0 = 43,43 + 1,607 \cdot 10^{-2}x - 3,625 \cdot 10^{-5}x^2$	221,5	45,21	0,98*
80	$Y_0 = 14,71 + 1,395 \cdot 10^{-1}x - 1,650 \cdot 10^{-4}x^2$	422,7	44,2	0,98*
120	$Y_0 = 51,12 - 5,245 \cdot 10^{-2}x + 6,750 \cdot 10^{-5}x^2$	388,5	41,0	0,69*
160	$Y_0 = 53,20 - 5,370 \cdot 10^{-2}x + 6,500 \cdot 10^{-5}x^2$	413,0	42,1	0,96*
46 DAE				
0	$Y_0 = -48,25 + 4,083 \cdot 10^{-1}x - 4,550 \cdot 10^{-4}x^2$	448,7	139,8	0,83*
40	$Y_0 = 49,94 + 1,590 \cdot 10^{-2}x - 2,500 \cdot 10^{-5}x^2$	318,0	52,5	0,99*
80	$Y_0 = 76,09 - 1,864 \cdot 10^{-1}x + 2,100 \cdot 10^{-4}x^2$	443,8	117,5	0,99*
120	$Y_0 = 37,15 + 1,637 \cdot 10^{-1}x + 1,850 \cdot 10^{-3}x^2$	44,2	33,5	0,97*
160	$Y_0 = 52,89 - 9,105 \cdot 10^{-2}x + 1,175 \cdot 10^{-4}x^2$	387,5	35,3	0,65*
81 DAE				
0	$Y_0 = 73,50 - 1,699 \cdot 10^{-1}x + 1,775 \cdot 10^{-4}x^2$	478,6	32,8	0,72*
40	$Y_0 = 10,33 + 9,440 \cdot 10^{-2}x - 9,000 \cdot 10^{-5}x^2$	524,6	35,1	0,84*
80	$Y_0 = 42,06 - 1,515 \cdot 10^{-2}x + 2,500 \cdot 10^{-6}x^2$	53,2	41,7	0,79*
120	$Y_0 = 59,83 - 1,178 \cdot 10^{-1}x + 1,425 \cdot 10^{-4}x^2$	413,3	35,5	0,99*
160	$Y_0 = 36,27 - 1,105 \cdot 10^{-2}x + 1,750 \cdot 10^{-5}x^2$	315,7	34,5	0,60*

* Significativo $p \leq 0,05$

O índice Spad apresentou valores menores aos 81 DAE, possivelmente seja devido ao estágio de desenvolvimento da cultura que estava próxima da maturação. Porém nesse período a interação do biorregulador nos tratamento de 80 kg ha⁻¹ de N foi maior, promovendo a manutenção da intensidade da coloração.

Segundo Markwell et al. (1995) e Guimarães et al. (1999) o índice Spad é altamente correlacionado com o teor de clorofila das folhas (a 650 nm onde ocorre absorção de luz pelas clorofilas e a 940nm, onde não ocorre) e pode identificar deficiência de N além do potencial de identificar situações onde a aplicação adicional de N não seja necessária.

Trabalhando com o Spad para o diagnóstico do estado do nitrogênio na produtividade de batata, Gil et al. (2002) demonstraram que o índice Spad foi eficiente na determinação do teor de N das plantas. Os autores demonstraram que o

aumento linear de N na adubação, aumentou linearmente o intensidade da coloração verde e o teor de nitrogênio das plantas. Rocha et al. (2005) constataram correlações positivas entre o índice Spad e o teor de N nas folhas de três híbridos de milho. Godoy et al. (2008) verificaram correlação positiva entre o índice Spad e o teor de N em folhas de café.

De acordo com Silva et al. (2013) o índice Spad é um dos principais parâmetros fisiológicos que deve ser considerado como prioridade em programas de melhoramento de cana-de-açúcar com o objetivo de obter cultivares tolerantes à seca e mais produtivas.

5.3 Área foliar e massa de matéria seca

Na tabela 8 observa-se que ocorreu efeito significativo entre os tratamentos para os parâmetros fenológicos área foliar e massa de matéria seca, assim como ocorreu interação entre os tratamentos em função das doses do biorregulador em cada nível de dose de nitrogênio.

Tabela 8. Quadrados médios das análises de variância e níveis de significância, médias e coeficientes de variação referentes a área foliar determinado aos 70 DAE, em função dos tratamentos de concentrações de N e concentrações de biorregulador, em sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense*. Campo Grande, MS, 2014/15.

Causas da Variação	Área Foliar cm²	Massa de Matéria Seca kg ha⁻¹
Doses N	1203434,13*	149784276,76*
Doses RV	1152633,06*	1280245,66*
N x RV	411408,02*	154562,46*
Resíduo	8544,60	91456,27
Média Geral	2086,26	23211,28
C.V (%)	4,43	1,30

Doses N: Doses de Nitrogênio; Doses RV: Doses de Biorregulador; N x RV: interação entre as doses de Nitrogênio e Biorregulador; C.V: Coeficiente de Variação. * Significativo a $p \geq 0,05$.

A área foliar da planta (AF) está intimamente associada à área transpirativa (trocas gasosas) e a interceptação da radiação solar, dois fatores imprescindíveis para a fotossíntese da cultura. O ajuste das curvas de interação das doses do biorregulador com as doses de adubação nitrogenada na AF está na figura 12 e demonstra que o tratamento com o biorregulador influenciou esse parâmetro nos diferentes níveis da adubação nitrogenada, apresentando variadas respostas à expansão foliar influenciado pela interação nas doses do nitrogênio.

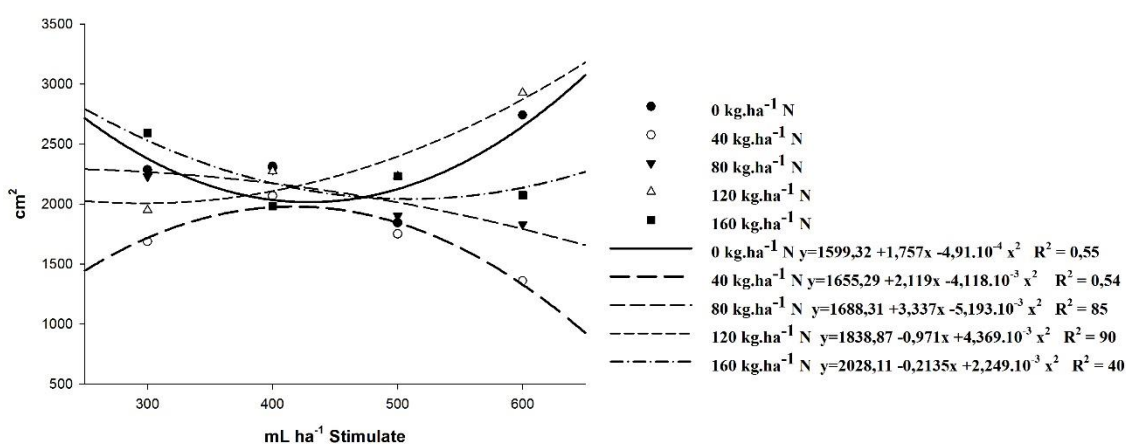


Figura 12. Efeito de concentrações de biorregulador (300, 400, 500 e 600 mL ha⁻¹) na área foliar determinada aos 70 DAE em plantas de sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense* submetidas a diferentes concentrações de adubação nitrogenada no solo (0, 40, 80, 120, 160 kg ha⁻¹). Significativo $p \leq 0,05$.

O resultado do aumento de doses de nitrogênio para a área foliar respondeu exponencialmente aumentando a AF (Y_0), obedecendo a equação: $Y_0 = 1562,5 + 2,0936x$, $R^2 = 0,94^*$. Em avaliações da área foliar de cana-de-açúcar, Floss (2006) relata que a produtividade não aumenta indefinidamente com a elevação da área foliar (IAF), isso se deve ao fato que a partir de um determinado IAF tem uma parte das folhas fazendo fotossíntese, porém a grande maioria estará sendo auto sombreada. Em trabalho de fertilização com nitrogênio em cana-de-açúcar, Ng Kee Kwong et al. (1999) observaram que o IAF aumentou com a elevação da dose de N, resultado semelhante foi encontrado por Kölln (2012).

Foram ajustadas equações para o acúmulo de matéria seca total entre os tratamentos (figura 13). Observa-se que o acúmulo de matéria seca nas plantas de sorgo sacarino inoculadas com *Azospirillum brasilense* foi crescente conforme o aumento da dose de nitrogênio que as plantas receberam via adubação ($Y_0=19262 +43,469x$, $R^2=0,97^*$), percebe-se que o acúmulo foi maior na maior dose de nitrogênio. Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Ng Kee Kwong et al. (1999); Thorburn et al. (2003); Dalri e Cruz (2008); Gava et al. (2010) e Kölln (2012).

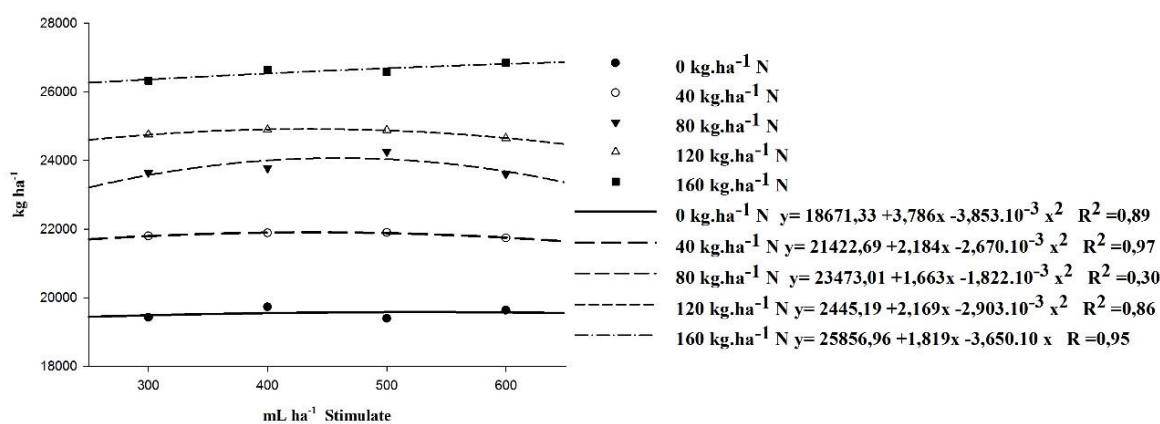


Figura 13. Efeito de concentrações de biorregulador (300, 400, 500 e 600 mL ha⁻¹) na área foliar determinada aos 70 DAE em plantas de sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense* submetidas a diferentes concentrações de adubação nitrogenada no solo (0, 40, 80, 120, 160 kg ha⁻¹). Significativo $p \leq 0,05$.

Resultados semelhantes foram relatados por Silva et al. (2010) que analisando diferentes genótipos de cana-de-açúcar em relação à diferentes formulações de reguladores vegetais, constataram que a formulação condizente ao produto Stimulate[®], aumenta a produção de massa verde quando comparado com a testemunha, contudo não encontrou melhoras na produtividade do açúcar, já que o biorregulador não teve efeito sobre a POL e nem sobre a tonelada de colmo por hectare (TCH).

A deficiência de nitrogênio além de reduzir o crescimento pode afetar a partição de assimilados ocasionando, em geral, aumento na relação entre a massa seca das raízes e a massa seca da parte aérea (CRUZ, 2001).

Estudando os efeitos da adubação nitrogenada, Rodrigues Filho et al. (2006) não encontraram diferenças significativas na produção de matéria seca em função das doses de N nas concentrações de 50 a 100 kg ha⁻¹. Maranville e Madhavan (2002) e Barbanti et al. (2006) relatam que o sorgo pode produzir cerca de 20 t ha⁻¹ de matéria seca, apenas com a reserva de N do solo. Entretanto, dos Santos et al. (2014) relatam que além do N, a semeadura da cultura em climas propícios afeta diretamente a produção de matéria seca.

De acordo com Magalhães et al. (1979), a taxa de produção de matéria seca no sorgo é fortemente afetada pela área foliar a qual, por sua vez e influenciada por fatores outros, como ambiente e manejo aplicado à cultura.

5.4 POL%, AR% e ART kg t⁻¹

Os resultados das análises de variância para os parâmetros tecnológicos POL%, AR% e ATR (kg t⁻¹) estão contidos na tabela 24. Observa-se que dentre os tratamentos para o parâmetro POL% a adubação nitrogenada apresentou diferença estatisticamente significativa, resultado que não foi obtido pela aplicação dos tratamentos de biorregulador. Esses resultados concordam com Silva et al. (2010), que avaliaram a aplicação de Stimulate[®] associado à fertilizantes líquidos na rebrota e na produtividade da soqueira de cinco genótipos de cana-de-açúcar, não encontrando efeitos significativos do biorregulador nas análises de POL% e ATR.

Na mesma tabela observa-se que houve variação significativa para o parâmetro de açúcar redutor (AR) na interação entre os tratamentos de doses do biorregulador e de nitrogênio.

Tabela 9. Quadrados médios das análises de variância e níveis de significância, médias e coeficientes de variação referentes a POL%, AR% e ATR%, em função dos tratamentos de concentrações de N e concentrações de biorregulador, em sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense*. Campo Grande, MS, 2014/15.

Causas da variação	POL%	AR%	ATR kg t ⁻¹
Doses N	3,015*	0,021 ^{ns}	259,43*
Doses RV	0,379 ^{ns}	0,031 ^{ns}	21,95 ^{ns}
N x RV	0,076 ^{ns}	0,033*	3,88 ^{ns}
Resíduo	0,402	0,018	30,62
Média Geral	10,44	0,60	94,0
C.V (%)	6,0	22,5	6,0

Doses N: Doses de Nitrogênio; Doses RV: Doses de Biorregulador; N x RV: interação entre as doses de Nitrogênio e Biorregulador; C.V: Coeficiente de Variação. ^{ns}: não significativo * Significativo a $p \geq 0,05$.

Para os tratamentos de doses de nitrogênio, foi possível estimar a melhor relação da adubação com a POL%. Na figura 14 observa-se que com o aumento da disponibilidade de nitrogênio para a planta ocorre incremento nos valores da POL%.

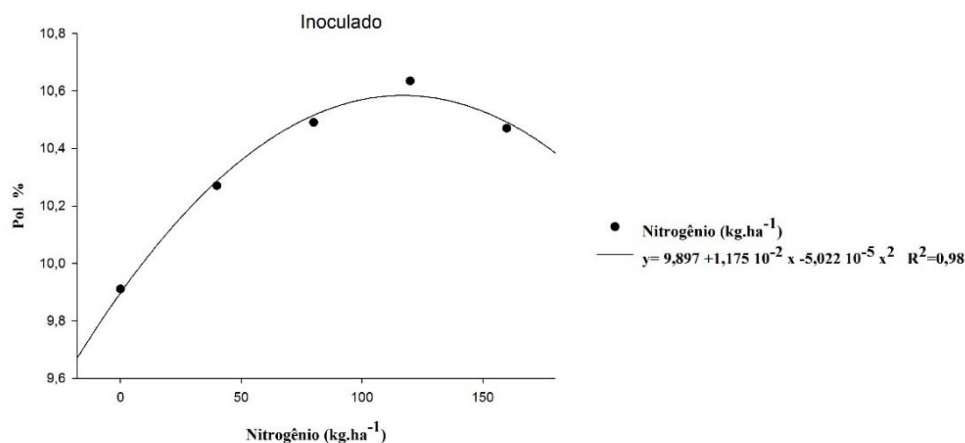


Figura 14. POL % em sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense* em relação aos concentrações de nitrogênio. Significativo $p \leq 0,05$.

Haag et al. (1987), em pesquisa com cana de açúcar, relataram que o nitrogênio aplicado em quantidades inferiores a 50 kg ha⁻¹, causou efeito depressivo e até 120 kg, aumentou a POL e diminuiu a quantidade de açúcares redutores e quantidades de N acima disso, provocou efeitos contrários em ambas as características.

Reduções nos teores de POL% foram observados por Camilotti et al. (2006) quando se aumentou em 100% a dose de N e K fornecidos via lodo de esgoto e via vinhaça, respectivamente, no 4º corte da cana-de-açúcar.

Galani et al. (1991) e Teixeira et al. (1999) relataram em seus trabalhos que o aumento da massa verde do sorgo sacarino é acompanhado pela redução nos teores de açúcares totais presentes nos colmos. Segundo eles, os teores de sacarose e de açúcares redutores totais se elevam até a planta atingir a maturidade fisiológica onde o rendimento de massa verde também é maior quando os colmos atingem a plena maturidade. Observações semelhantes são relatadas por vários trabalhos, entre eles: Broadhead e Dempsey (1969), Webster et al. (1984), Choudhart (1990), Galani et al. (1991) e Naik e Jayakumar (1994).

Segundo Rocha et al. (2014) o maior acúmulo de açúcares solúveis no caule das plantas cultivadas é dada pela maior capacidade de absorção do N na forma amoniacal, sendo essa uma vantagem, em termos fisiológicos, já que os teores de açúcares solúveis nos vegetais são indicadores de energia prontamente disponível para o metabolismo celular.

A resposta do tratamento com nitrogênio para AR% em plantas que não receberam o biorregulador, apresentou a equação: $Y_0 = 0,08202 - 0,0085x + 4,0 \cdot 10^{-5} x^2$, $R^2 = 0,97$ ($p \geq 0,05$).

O tratamento com biorregulador aumentou o teor de AR apresentando valor máximo para 459,5 mL ha⁻¹ no tratamento de 0 kg ha⁻¹ de N e em interação com o tratamento de 80 kg ha⁻¹ de nitrogênio o AR diminuiu, como mostram as equações de regressão na tabela 10.

Tabela 10. Coeficiente de regressão para açúcares redutores (AR%) aos 90 DAE, onde (Y_0) entre os tratamentos concentrações de biorregulador (x) em concentrações de Nitrogênio (kg ha^{-1}) em plantas de sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense*. Campo Grande, MS, 2014/15.

N (kg ha^{-1})	AR	R²
0	$Y_0 = 0,80 + 9,19 \cdot 10^{-4}x - 1,0 \cdot 10^{-6}x^2$	0,60*
80	$Y_0 = 0,398 + 1,151 \cdot 10^{-3}x - 1,0 \cdot 10^{-6}x^2$	0,93*

* Significativo $p \leq 0,05$

Em trabalho com adubação lodo de esgoto, vinhaça e adubos minerais, Junior et al. (2007) relata que o aumento de AR entre os parâmetros tecnológicos da cana-de-açúcar é indicativo da permanência da cultura em estágio vegetativo.

Estudando os efeitos do biorregulador Stimulate[®] aplicado via sulco de plantio em oito cultivares de cana-de-açúcar nas variáveis tecnológicas (POL% AR e ATR), Ferreira et al. (2013) encontraram menores porcentagem de açúcares redutores nas plantas que receberam o tratamento com o biorregulador, o que não influenciou nas demais variáveis. Os autores reiteram que o biorregulador estimulou o aumento do diâmetro dos colmos e as plantas utilizaram os açúcares (glicose e frutose) para o crescimento, o que reduziu os teores desses açúcares.

O açúcar total recuperável não foi influenciado pelos tratamentos das diferentes doses de biorregulador, contudo com o tratamento de diferentes doses de N, estimou-se a melhor resposta à $86,73 \text{ kg ha}^{-1}$ de nitrogênio para o ATR de $96,27 \text{ kg t}^{-1}$ (figura 15).

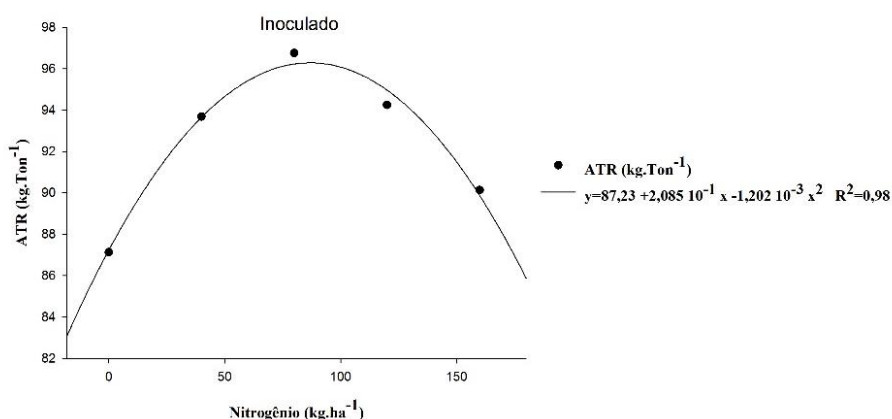


Figura 15. ATR em sorgo sacarino inoculado com *Azospirillum brasilense* em relação à doses de nitrogênio. Significativo $p \leq 0,05$.

Os resultados obtidos pela ação dos tratamentos para a ATR, podem estar relacionados ao fato que atividade fotossintética na folha produz açúcares e açúcares-álcoois, que tendem a acumular, tais carboidratos são osmoticamente ativos e difundem-se em direção ao sistema vascular para serem transportados para o floema, tanto por mecanismos ativos quanto passivos. O mecanismo de carregamento utilizado pelo floema pode aumentar ou restringir a fixação e o fluxo de carbono, em resposta às condições ambientais, podendo limitar a força dos drenos e a produção de carboidratos nas fontes (SLEWINSKI; BRAUN, 2010).

A elevação da dose de N não modificou o ATR em colmos de cana-de-açúcar nos trabalhos de Dalri e Cruz (2008) e Franco (2008). Kölln (2012) encontrou correlação negativa do teor de açúcar do colmo da cana-de-açúcar com o aumento da dose de N. Segundo Sing e Mohan (1994) a redução no teor de açúcar pode estar relacionada ao fato de que doses elevadas de nitrogênio podem elevar a atividade da enzima invertase responsável pela degradação de açúcares redutores convertidos em açúcares (glucose e frutose). O fornecimento de N aumenta a capacidade da planta C4 em produzir carboidratos (biomassa) estimulando o crescimento vegetativo e, assim, diluindo a concentração de açúcares no colmo, com consequente queda na qualidade industrial (MUCHOW et al., 1996; KÖLLN, 2012).

Os açúcares não redutores por serem menos reativos do que seus equivalentes, são translocados a longa distância no floema. Nos açúcares não redutores o grupo cetona ou aldeído é reduzido a um álcool ou combinado com um grupo semelhante

em outro açúcar (VAN BEL; HESS, 2008; DINANT; LEMOINE, 2010). O açúcar predominantemente translocado no floema é a sacarose, contudo também são transportados carboidratos móveis ligados a um número variável de moléculas como: rafinose, estaquiose e verbascose e ainda açúcares-álcoois, como manitol e sorbitol (LALONDE et al.,2003; VAN BEL; HESS, 2008).

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nas condições de desenvolvimento deste trabalho, a associação simbiótica do *Azospirillum brasilense* em plantas do sorgo sacarino mostrou-se efetiva durante o período inicial de desenvolvimento, que perdurou aproximadamente 20 dias. Após esse período percebeu-se que as plantas que receberam os tratamentos com nitrogênio passaram a apresentar maior vigor e velocidade de crescimento.

Entretanto observou-se que aos 16 DAE a assimilação de CO₂ nas plantas inoculadas e que receberam o biorregulador foi maior em relação aos demais. Essa resposta decaiu a partir dos 46 DAE, indicando que os tratamentos com o biorregulador em plantas inoculadas com o *Azospirillum brasilense* otimizou o processo fisiológico fotossintético apenas no início do desenvolvimento das plantas.

Além disso, os resultados desse trabalho sugerem que o período de ação da simbiose do *Azospirillum brasilense* na cultura do sorgo sacarino é curto, e perdura em tempo similar a atividade do sistema radicular primário, ou seja, devido à baixa taxa de multiplicação bacteriana no solo, com o desenvolvimento do sistema secundário e definitivo de raízes, não ocorreu a re-inoculação das bactérias nesse novo sistema, deixando de haver o suprimento de N necessário a partir desse momento. O estágio de formação do sistema radicular secundário é de extrema importância para cultura do sorgo sacarino, pois é nessa fase em que as plantas começam a acumular maiores taxas de massa seca e extrair maiores quantidades de nutrientes do solo, principalmente o nitrogênio.

O aumento da atividade metabólica das plantas ao longo do desenvolvimento podem ser comprovados nas respostas dos componentes fotossintéticos da cultura, uma vez que a atividade carboxilativa é positivamente correlacionada com o crescimento das plantas. Ao observarmos as médias de condutância estomática, concentração interna de CO₂ e carboxilação, percebemos que as mesmas apresentam-se elevadas a partir dos 46 DAE em relação aos 16 DAE em decréscimo aos 81 DAE, período em que a cultura já estabilizou o crescimento e finalizou a partição e alocação dos fotoassimilados.

Ao compararmos as respostas fotossintética entre os tratamentos percebemos que, a partir dos 46 DAE, os tratamentos com o regulador vegetal em associação à adubação nitrogenada, sobressaíram os tratamentos em que a cultura não recebeu nitrogênio, comprovando a baixa eficiência da associação simbiótica para o fornecimento de N para a cultura nesse período.

Convém salientar que o regulador vegetal forneceu melhorias na atividade fotossintética, tanto nos tratamentos com a adubação como somente à inoculação. Contudo o regulador vegetal não apresentou melhorias na produção de açúcares pela planta, mas se mostrou um bom candidato a diminuir os custos na a adubação nitrogenada da cultura, por melhorar a eficiência fotossintética tanto em plantas de sorgo sacarino em que o N metabolizado foi oriundo da inoculação com *Azospirillum brasilense*, ou da adubação nitrogenada.

8 CONCLUSÕES

Pelos resultados obtidos conclui-se que a ação do biorregulador não influenciou na produção de açúcares pela planta, entretanto se mostrou um bom candidato a diminuir os custos na adubação nitrogenada da cultura, por melhorar a eficiência fotossintética tanto em plantas de sorgo sacarino em que o N metabolizado foi oriundo da inoculação com *Azospirillum brasilense* ou da adubação nitrogenada.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRANTES, F. L.; SÁ, M. E.; SOUZA, L. C. D.; SILVA, M. P.; SIMIDU, H. M.; ANDREOTTI, M.; BUZETTI, S.; VALÉRIO FILHO, W. V.; ARRUDA, N. Uso de Regulador de crescimento em cultivares de feijão de inverno. **Pesquisa Agropecuária Tropical**. Goiânia, v.41, n.2, p.148-154, 2011.
- ALBACETE, A. A.; MARTÍNEZ-ANDÚJAR, C.; PÉREZ-ALFOCEA, F. Hormonal and metabolic regulation of source–sink relations under salinity and drought: From plant survival to crop yield stability. *Biotechnology Advances*, (in press), 2013.
- AMARO, A. C. E. Respostas Fisiológicas à aplicação de Reguladores Vegetais e Nutrientes em Videira ‘crimson seedless’. 2014. 142 f. Tese (Doutorado em Agronomia)- Universidade Estadual Paulista. Botucatu. 2014.
- ARAÚJO, F.F.; HUNGRIA, M. Nodulação e rendimento de soja co-infectada com bacillus subtilis e bradyrhizobium japonicum / bradyrhizobium elkanii. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.34, p.1633-1643, 1999.
- ASSIS, F.N.; VERONA, L.A.F. Consumo de água e coeficiente de cultura do sorgo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. n,26, p.665-670. 1997.
- ASSMANN, S.M.; SHYMAZAKI, K. The multisensory guard cell. Stomatal responses to blue light and abscisic acid. **Plant Physiology**, v.119, p.809-815, mar. 1999.
- BACA, B.E.; ELMERICH, C. Microbial production of plant hormones. In: Elmerich C, Newton WE (eds) Associative and endophytic nitrogen-fixing bacteria and cyanobacterial associations. **Springer**, Dordrecht, p 113–143, 2007.
- BACA, B.E.; ELMERICH, C. Microbial production of plant hormones. In: Elmerich C, Newton WE (eds) Associative and endophytic nitrogen-fixing bacteria and cyanobacterial associations. **Springer**, Dordrecht, pp 113–143, 2007.
- BAIRD, C.; CANN, M. *Química Ambiental*. 4. ed. Porto Alegre: Bookman, 2011.

BAJGUZ, A.; PIOTROWSKA, A. Conjugates of auxin and cytokinin. **Phytochemistry**, v. 70, n. 8, p. 957-969, 2009.

BALANDREAU, J. Microbiology of the association. **Canadian Journal Microbiology** v.29 p851–859, 1983.

BALDANI, J.I.; BALDANI, V.L. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: special emphasis on the Brazilian experience. **Anais Academia Brasileira de Ciências**, v.77, p.579-79, 2005.

BALDO, M. N. Comportamento anatômico, fisiológico e agrônomico do milho (*Zea mays* L.) submetido a estresses de ambiente em diferentes estádios fenológicos. 2007. 91p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2007.

BARBANTI, L.; GRANDI, S.; VECCHI, A.; VENTURI, G. Sweet and fibre sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), energy crops in the frame of environmental protection from excessive nitrogen loads. **European Journal of Agronomy**, Amsterdam, v. 25, p. 30-39, 2006.

BARRACO, M.; ÁLVAREZ, C.; SCIANCA, C. Estratégias de fertilización de maíz. General Villegas: INTA, 2009. 7p. (INTA. Jornada Agrofuturo, 2009).

BARBOSA, F.R.; GONZAGA, A.C.O. Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na Região Central-Brasileira: 2012-2014. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2012. 247p.

BARKWORTH, M. *Sorghum* Moench. In: Flora of North America Vol 25 Magnoliophyta: Commelinidae (in part): Poaceae, Part 2. Oxford Univ. Press, New York. p. 626–630. 2003

BARROS NETO, C.R. de. Efeito do nitrogênio e da inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense* no rendimento de grãos de milho. 2008. 29p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Universidade Estadual de Ponta Grossa – UEPG, Ponta Grossa, PR, 2008.

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

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G.; DE-BASHAN, L.E. Review: *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). **Canadian Journal of Microbiology**, v.50 p.521-577, 2004.

BENKOVA, E. et al. Cytokinins in tobacco and wheat chloroplasts. Occurrence and changes due to light/dark treatment. **Plant Physiology**, Waterbury, n. 121, p. 245-252, 1999.

BLUM, A. Sorghum physiology. In: NGUYEN H.T.A. BLUM, A. Physiology and biotechnology integration for plant breeding. Marcel Dekker, New York. p.141-223.2004.

BOCKMAN, O.C; OLFS, H. W. Fertilizers, agronomy and N₂O nutrient cycling in agroecosystems, Kluwer Academic Publishers, the Netherlands. v.52, p.165-170, 1998.

BOYER, M.; BALLY, R.; PERROTTO, S.; CHAINTREUIL, C.; WISNIEWSKI-DYÉ, F. A quorum quenching approach to identify quorumsensing- regulated functions in *Azospirillum lipoferum*. **Res Microbiol** :159 doi:10.1016/j.resmic.2008.08.003, 2008.

BRANDÃO FILHO, J.U.T.; GOTO, R.; GUIMARÃES, V.F.; HABERMANN, G.; RODRIGUES, J.D.; CALLEGARI, O. Influência da enxertia nas trocas gasosas de dois híbridos de berinjela cultivados em ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, v.21, n.3, p. 474-477, 2003.

BROADHEAD, M.; DEMPSEY, M. Sugar production from sweet sorghum as affected by planting date, after-ripe harvesting, and storage. **Agronomy Journal**, v.61, p.811-812, 1969.

BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. Biochemistry and molecular biology of plants. 3rd ed. **Rockville: American Society of Plant Physiologists**, 2000. 1367 p.

CAVALLET, L.E.; PESSOA, A.C. dos Santos; HELMICH, J.J.; HELMICH, P.R.; OST, C.F. Produtividade do Milho à Aplicação de Nitrogênio e Inoculação das Sementes com *Azospirillum* spp. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental (Impresso)**, Campina Grande, v. 4, n.1, p. 129-132, 2000.

CAMPBELL, W.H. Nitrate reductase structure function and regulation on bridging to gap between biochemistry and physiology. **Annual Review Plant Physiology Plant Molecular Biology**. v.50, p.277-303, 1999.

CAÑIZARES, K. A. L.; RODRIGUES, J. D.; GOTO, R. Crescimento e índices de troca gasosas em plantas de pepino irrigadas com água enriquecida com CO₂. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 22, n. 4, p. 706-711, 2004.

CASILLAS, V.J.C. et al. Análisis cuantitativo de la aplicación de cuatro bioestimulantes en el cultivo del rabano (*Raphanus sativus* L.). *Acta Agronomica*, Palmira, v.36, n.32, p.185195, 1986.

CASTRO, P.R.C.; PACHECO, A.C.; MEDINA, C.L. Efeitos de stimulate e de micro-citros no desenvolvimento vegetativo e na produtividade da laranjeira ‘Pera’ (*Citrus sinensis* L. Osbeck). *Scientia Agrícola*, Piracicaba, v. 55, n. 2, p. 338-341, 1998.

CASTRO, C.; FARIAS, J. R. B. Ecofisiologia do Girassol. In: LEITE, R. M. V. B. C.; BRIGHENTI, A. M.; CASTRO, C. de. (ed.). *Girassol no Brasil*. Londrina: Embrapa Soja, Cap.9 p163-210, 2005.

CASTRO, P.R.C., da GLORIA, B. Efeitos de Reguladores vegetais no Desenvolvimento e na Produtividade do Amendoazeiro (*Arachis hypogaea* L.). *Scientia Agrícola*. Piracicaba. v.50, n.2, p.176-484. 1993.

CECHIN, I. Comparison of growth and gas exchange in two hybrids of sorghum in relation to nitrogen supply. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, Campos dos Goytacazes, v.9, n.3, p.151-156, 1997.

CIHACEK, L.J. Alfalfa nutrient needs and fertilization. In: **WORKSHOP SOBRE O POTENCIAL FORRAGEIRO DA ALFAFA (Medicago sativa L.) NOS TRÓPICOS**, Juiz de Fora, 1994. Anais. Juiz de Fora: EMBRAPA, CNPGL, 1994. p.93-97.

CHAVES, M.M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany*, v.103, p.551560, 2009.

CHORY, J.; AGUILAR, N.; PETO, C.A. The phenotype of *Arabidopsis thaliana det1* mutants suggest a role for cytokinins in greening. In: **Molecular Biology of Plant Development**, JENKINS, G.I.; SCHUCH, W. (eds.), p.21-29. The Company of Biologists Ltd: Cambridge, 1991.

CHOUDHART, S.D. Effects of date of harvest on juice yield and Brix of high energy sorghum. **Journal of Maharashtra Agricultural University**, v.15, p. 232-233, 1990.

COSTA, E. M. Efeitos do alumínio, nitrato e amônio sobre a nutrição nitrogenada em *Eucalyptus grandis* Hill (Maiden). Viçosa: UFV, 1986, 50p.

COSTACURTA, A.; VANDERLEYDEN, J. Synthesis of phytohormones by plant-associated bacteria. **Crit Rev Microbiol** v21 p1–18 doi:10.3109/10408419509113531, 1995.

CRIADO, M. V. et al. Cytokinin-induced changes of nitrogen remobilization and chloroplast ultrastructure in wheat (*Triticum aestivum*). *Journal of Plant Physiology*, v. 166, n. 16, p. 1775-1785, 2009.

CRUZ, J. L. Efeitos de níveis de nitrato sobre o metabolismo do nitrogênio, assimilação do CO₂ e fluorescência da clorofila a em mandioca. 2001. 87f. (Tese de doutorado) - UFV, Viçosa.

CRUZ L.M.; SOUZA, E. M.; WEBER, O.B.; BALDANI, J.I.; DÖBEREINER, J.; PEDROSA, F. O. 16S ribosomal DNA characterization of nitrogen-fixing bacteria isolated from banana (*Musa* spp.) and pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merrill). **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, p.2375-9, 2001.

DAMASCENO, C.M.B. Genômica do sorgo sacarino e análise de marcadores genéticos moleculares para características de interesse agrônomo e industrial. *Revista Agroenergia*, Brasília, v.2, n.3, p. 10-13, 2011.

DAVIES, F.S.; ALBRIGO, L.G. **Citrus**. Wallingford: Cab International, 1994. 254 p.

DALRI, A. B.; CRUZ, R. L; Produtividade da cana-de-açúcar fertirrigada com N e K via gotejamento subsuperficial. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 28, n. 3, p. 516-524, 2008.

DE OLIVEIRA, H.; PINHEIRO, R.; BODDEY, L.H.; JAMES, E.K.; SPRENT, J.I.; BODDEY, R.M. Adsorption and anchoring of *Azospirillum strains* to roots of wheat. **Plant Soil**, v.246 p151–166, 2002.

DEKHIL, B.S.; CAHILL, M.; STACKEBRANT, E.; SLY, L.I. Transfer of *Conglomeromonas largomibilis* subsp. *Iargomobilis* to the genus *Azospirillum* as *Azospirillum largomobile* comb Nov., and elevation of *Conglomeromonas largomobilis* subsp. *paroensis* to the new type species of *Conglomeromonas*. **Systematic and Applied Microbiology**, v.20, p.72-77. 1997.

DINANT, S.; LEMOINE, R. The phloem pathway: New issues and old debates. **Comptes Rendus Biologies**, v. 333, n. 4, p. 307-319, 2010.

DOBBELAERE, S.; OKON, Y. The plant growth promoting effect and plant response. In: Elmerich C, Newton WE. (eds) Associative and endophytic nitrogen-fixing bacteria and cyanobacterial associations. **Springer**, Dordrecht, p 145–170, 2007.

DOBBELAERE, S.; VANDERLEYDEN, J. OKON, Y. Plant Growth-Promoting Effects of Diazotrophs in the Rhizosphere. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.22, n.2 p.107-149, 2003.

DOBEREINER, I. Fixação de nitrogénio em gramíneas tropicais. **Interciência**, v.4 p.200-5, 1979.

DOBEREINER, J. The genera *Azospirillum* and *Herbaspirillum*. In: BALLOWS, A., TRUPPER, H.G., DWORKING, M., HARDER, W. (Ed.). **The Prokaryotes**, v.3, p.2236-3353, 1991.

DOBEREINER, J.; DAY, J.M. Associative symbioses in tropical grasses characterization of microorganisms and dinitrogen-fixing sites. In: NEWTON, N.E.; NYMAN, C.J. (Eds). **Proceedings of the 1st International Joint Symposium. Nitrogen fixation. Pullman: Washington Uni. Press**, v.2, p.518-38, 1976.

DÖBEREINER, J., PEDROSA, F.O. In: nonleguminous crop plants. Nitrogen-fixing bacteria Science Tech, Madison, 155p, 1987.

DOGGET, H. Sorghum. 2ed. New York: Willey, 117p. 1988.

DOORENBOS, J.; KASSAM, A.H. Yield response to water. **FAO Irrigation and Drainage Paper**, n. 33. Rome, FAO. 1979

DORNHOFF, G. M.; SHIBLES, R. M. Varietal differences in net photosynthesis of soybean leaves. **Crop Science**, Madison, v. 10, p. 42-45, 1970.

DOS SANTOS, F. C; FILHO, M.R.A; RESENDE, A.V; OLIVEIRA, A.C; GOMES; T.C; OLIVEIRA, M.S. Adubações Nitrogenada e Potássica no Sorgo Biomassa-Produtividade e Qualidade de Fibra. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo. Sete Lagoas** v.13, n.1, p.1-13.2014.

DOURADO NETO, D.; DARIO, G.J.A.; VIEIRA JUNIOR, A.; MANFRON, P.A.; MARTIN, T.; BONNECARRERE, R.A.G.; CRESPO, P. E.N. Aplicação e influência do fitorregulador no crescimento de plantas de milho. *Revista FVZA, Uruguiana*, v.11, n.1, p. 1-9, 2004.

DUBROVSKI, J.G; PUENTE, M.E; BASHAN, Y. *Arabidopsis thaliana* as a model system for the study of the effect of inoculation by *azospirillum brasilense* Sp-245 on root hair growth. *Soil Biology and Biochemistry* v.26, n 12, , p 1657–1664, 1994.

DURÂES, N. N. L. 2014. Heterose em sorgo sacarino. 97p. Tese (Mestrado)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.

ECKERT, B.; WEBER, O.B.; KIRCHHOF, G.; HALBRITTER, A.; STOFFELS, M.; HARTMANN, A. *Azospirillum doebereineriae* sp nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with the C4-grass *Miscanthus*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. V. 51, n.1, p.17-26, 2001.

ELMERICH, C.; ZIMMER, W.; VIEILLE, C. Associative nitrogenfixing bacteria. In: Stacey G, Burris RH, Evans HJ (eds) *Biological nitrogen fixation*. Chapman and Hall Inc, New York, p. 212–258, 1992.

FAGAN, E.B; ONO, E.O; RODRIGUES, J.D; JÚNIOR, A. C; NETO, D.D. *Fisiologia Vegetal: Reguladores vegetais*. São Paulo: Andrei, 2015. 300p.

FALLIK, E., OKON, Y., EPSTEIN, E., GOLDMAN, A. e FISCHER, M. 1989. Identification and quantification of IAA and IBA in *Azospirillum brasilense*-inoculated maize roots. *Soil Biol. Biochem.* 21:147– 53.

FARQUHAR, G.D.; SHARKEY, T.D. Stomatal conductance and photosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 92, p. 696-717, 1982.

FIGUEIREDO, S.L; RODRIGUES, J.D; CARNEIRO, J.P.C; SILVA, A.A; LIMA, M.B. *Fisiologia e Produção da Soja Tratada com Cinetina e Cálcio sob Déficit Hídrico e Sombreamento*. *Pesquisa agropecuária brasileira*, Brasília, v.48, n.11, p.1432-1439. 2013.

FLOSS, E. L. **Fisiologia de plantas cultivadas**. Passo Fundo: UPF, 2006. 751 p.

FOLONI, J. S. S.; BASSOI, M. C. Cultivares de trigo submetidas à inoculação de sementes com *Azospirillum* e doses de nitrogênio em diferentes condições edafoclimáticas do Paraná. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 8º SEMINÁRIO TÉCNICO DE TRIGO, 2014, Canela. Desafios para o trigo brasileiro: construindo uma nova identidade: anais. Passo Fundo: **Embrapa Trigo**, 2014. 5 p.

FOYER, C. H.; GALTIER, N. Source-sink interaction and communication in leaves. In:

ZAMSKI, E.; SCHAFFER, A. A. (Ed.). **Photoassimilate distribution in plants and crops: Source-sink relationships**. New York: Marcel Dekker INC, 1996. cap. 13, p.331-340.

FRANCO, H. C. J. **Eficiência agrônômica da adubação nitrogenada de cana-planta**. 2008. 112 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

FRIML, J. et al. Efflux-dependent auxin gradients stabilish the apical-basal axis of Arabdopsis. **Nature**, London, v. 426, p. 147-153, 2003.

GALANI, N.N.; LOMTE, M.H.; CHOUDHART, S.D. Juice yield and Brix as affected by genotype, plant density and N levels in high energy sorghums. **Bharatiya Sugar**, p. 23-24, Feb. 1991.

GALANI, N.N.; LOMTE, M.H.; CHOUDHART, S.D. Juice yield and Brix as affected by genotype, plant density and N levels in high energy sorghums. **Bharatiya Sugar**, p. 23-24, Feb. 1991.

GAVA, G. J. C.; KÖLLN, O. T.; URIBE, R. A. M.; TRIVELIN, P. C. O.; CANTARELLA, H. Interação entre água e nitrogênio na produtividade de cana-de-açúcar (*Saccharum* sp.). In: CRUSCIOL, C. A. (Org.). **Tópicos em ecofisiologia da cana-de-açúcar**. 1. ed. Botucatu: FEPAF, 2010. v. 1, p. 49-66.

GERHARDT, E.C.M. Regulação Pós-Traducional da Enzima Nitrogenase em *Azospirillum brasilense*. Dissertação (Mestrado em Ciências Bioquímica) Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

GIL, P.T.; FONTES, P.C.R.; CECON, P.R.; FERREIRA, F.A. Índice SPAD para o diagnóstico do estado de nitrogênio e para o prognóstico da produtividade da batata. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 20, n. 4, p. 611-615, dezembro 2002.

GLICK, B.R. Modulation of plant ethylene levels by the bacterial enzyme ACC deaminase. *FEMS Microbiol Lett* 251:1-7 doi:10.1016/j.femsle.2005.07.030, 2005.

GROSSMANN, K.; RETZLAFF, G. Bioregulatory effects of the fungicidal strobirulin kresoxim methyl in wheat (*Triticum aestivum* L.) **Pesticide Science**, Oxford, v. 50, p. 11-20, 1997.

GROSSMANN, K.; RETZLAFF, G. Bioregulatory effects of the fungicidal strobilurin kresoxim methyl in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Pesticide Science**, Oxford, v.50, p.11-20, 1997.

GODOY, L. J. G.; SANTOS, T. S.; VILLAS BOAS, R. L.; LEITE JUNIOR, J. B. Índice relativo de clorofila e o estado nutricional em nitrogênio durante o ciclo do cafeeiro fertirrigado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, p. 217-226, 2008.

GONÇALVES, E. R. et al. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila a em variedade de cana-de-açúcar submetidas à deficiência hídrica. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, Campina Grande, v. 14, n. 4, p. 378-386, 2010.

- GUIMARÃES, T.G.; FONTES, P.C.R.; PEREIRA, P.R.G.; ALVAREZ V., V.H.; MONNERAT, P.H. Teores de clorofila determinados por medidor portátil e sua relação com formas de nitrogênio em folhas de tomateiro cultivado em dois tipos de solo. *Bragantia*, Piracicaba, v. 58, n. 1, p. 209-216, 1999.
- GUNARTO, L.; ADACHI, K.; SENBOKU, T. Isolation and selection of indigenous *Azospirillum* spp. From a subtropical island, and effect of inoculation on growth of lowland rice under several levels of N application. *Biology and Fertility of Soils*. v. 28, p129-136, 1999.
- HAAG, H.P. et. al. Nutrição mineral da cana-de-açúcar. In: PARANHOS, S.B. (Coord.). *Cana-de-açúcar: Cultivo e Utilização*. Campinas:Fundação Cargill, 1987. V.1, p.88-162.
- HABINDAVYI, E.2009. Morphological characterisation of sorghum (*Sorghum bicolor*) diversity in Burundi. 49f. Tese (Mestrado em Agronomia)- Swedish Biodiversity Centre, Uppsala, 2009.
- HARLAN, J.R; DE WET, J.M.J. A simplified classification of cultivated sorghum. *Crop Science*, Madison, v.12, p.172-176, 1972.
- HIKOSAKA, K. Interspecific Difference in the Photosynthesis-Nitrogen Relationship: patterns, physiological causes, and ecological importance. *Journal Plant Research*. Rosemead.v.1, n.17, p.481-494 set/out.2004. Disponível em:<http://www.ink.springer.com/>. Acesso em: 18 ago.2015.
- HOLGUIN, G.; GLICK, B.R. Expression of the ACC deaminase gene from *Enterobacter cloacae* UW4 in *Azospirillum brasilense*. **Microb Ecol** 41:281–288, 2001.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; SOUZA, E.M.; PEDROSA, F.O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat In Brazil. **Plant Soil**, v. 331, p.413-425, 2010.
- KHAMAS, K.M.; AGERON, E; GRIMONT, P.A.O.: KAISER, P. *Azospirillum ira kense* sp nov. a nitrogen-fixing bacterium associated with rice roots and rhizosphere soil. **Research in Microbiology**, v 140, p.45-55, 1989.
- ICRISAT. Sorghum Taxonomy. 2008. Disponível em: <http://www.icrisat.org/sorghum/Taxonomy/Taxonomy.htm>. Acesso em: 20 de ago. 2015.
- ISHERWOOD, K.F. Mineral Fertilizer Use and the Environment. International Fertilizer Industry Association. Paris, 2000.
- KAWAI, H.; KANEGAE, T.; CHRISTENSEN, S.; KIYOSUE, T; SATO, Y.; IMAIZUMI, T.; KADOTA, A.; WADA, M. Responses of ferns to red light are mediated by an unconventional photoreceptor. **Nature**, v.421, p.287-290, jan. 2003.
- KEARNEY, T.H; PEEBLES R.H. Sorghum. In: Arizona flora. University of California Press, Berkeley. p. 142–143, 1969.

KHOKHLOVA, V.A.; SVESHNIKOVA, I.N., KULAEVA, O.N. Effect of phytohormones on the formation of the chloroplast structure isolated pumpkin cotyledons. **Cytology**, Leningrad, n. 13, p. 1074-1078, 1971.

KOGA, J.; ADACHI, T.; HIDAKA, H. Molecular cloning of the gene for indolepyruvate decarboxylase from *Enterobacter cloacae*. **Mol Gen Genet** v.226 p10–16 doi:10.1007/BF00273581, 1991.

KÖLLN, O. T. Interação entre os estresses de nitrogênio e disponibilidade hídrica no fracionamento isotópico de ^{13}C e na produtividade em soqueira de cana-de-açúcar. 2012. 104 p. Dissertação (Mestrado em Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente) -Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

KONCHANKOV, V.G. et al. Effect of gibberellic acid on growth, flowering, and seed production in crisphead lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Folia Horticulturae**, v.8, n.1, p.11-18,1996.

LACA-BUENDIA, J.P. Efeito de reguladores de crescimento no algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.). Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal, Campinas, v.1, n.1, p.109-113, 1989.

LALONDE, S. et al. Phloem loading and unloading of sugars and amino acids. **Plant, Cell & Environment**, v. 26, n. 1, p. 37-56, 2003.

LAMMAUD, E.; BRUNET, Y.; BERBIGIER, P. Radiation and water use efficiencies of twoconiferous forest canopies. **Physics and Chemistry of the Earth**, Great Britain, v. 21, n. 5/6, p. 361-365, 1996.

LARCHER, W. Ecofisiologia Vegetal. Tradução: Prado, C. H. B. A. Ed. Rima, São Carlos, 2000.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**, In: Larcher, W. A planta sob estresses. São Carlos: Rima, 341-448, 2004.

LARCHER, W. Ecofisiologia vegetal. São Carlos: RiMa, 550 p. 2006.

LAVRINENKO, K.; CHERNOUSOVA, E.; GRIDNEVA, E.; DUBININA, G.; AKIMOV, V.; KUEVER, J.; LYSENKO, A.; GRABOVICH, M. *Azospirillum thiphilum* sp. nov., a diazotrophic bacterium isolated from a sulfide spring. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, v.60, p.2832-2837, 2010.

LAWSON, T.; KRAMER, D. M.; RAINES, C. A. Improving yield by exploiting mechanisms underlying natural variation of photosynthesis. Current Opinion in Biotechnology, v. 23, n. 2, p. 215-220, 2012.

LEIDI, E. O. et al. Searching for tolerance to water stress in cotton genotypes: photosynthesis, stomatal conductance and transpiration. **Photosynthetica**, Prague, v. 28 p. 383-390, 1993.

- LEITE, V. M.; ROSOLEM, C. A.; RODRIGUES, J. D. Gibberellin and cytokinin effects on soybean growth. *Scientia Agricola*, Piracicaba, v. 60, n. 3, p. 537-541, 2003.
- LI, T.H.; LI, S.H. Leaf Responses of Micropropagated Apple Plants to Water Stress: Changes in Endogenous Hormones and Their Influence on Carbohydrate Metabolism. **Agricultural Sciences in China**, v. 6, n. 1, p. 58-67, 2007.
- LIN, S.Y.; YOUNG, C.C.; HUPFER, H.; SIERING, C.; ARUN, A.B.; CHEN, W.M.; LAI, W.A.; SHEN, F.T.; REKHA, P.O.; YASSIN, A.F. *Azospirillum picis* sp. nov., isolated from discarded tar. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, v.59, p. 761-5. 2009.
- MAGALHÃES, F.M.; BALDANI, J.I.; SOUTO, S.M., KUYKENDALL, J.R.; DOBEREINER, J. A new acid tolerant *Azospirillum* species. **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**, v.55, p417-430, 1983.
- MAGALHÃES, A. C. N. Análise quantitativa do crescimento In: FERRI, M. G. (Coord.). *Fisiologia vegetal*, v.1. São Paulo: EPV/USP, 1979. p.331- 349.
- MARANVILLE, J. W.; MADHAVAN, S. Physiological adaptations for nitrogen use efficiency in sorghum. **Plant and Soil**, The Hague, v. 245, p. 25-34, 2002.
- MARENCO, R.A.; LOPES, N.F. *Fisiologia vegetal*, 3 ed, UFV. 2009, cap 4, p. 227.
- MARKWELL, J; OSTERMAN, J.C; MITCHELL, J.L. Calibration of the Minolta SPAD-502 leaf chlorophyll meter. *Photosynthesis Research*, v.46, n.3 p.467-472, 1995.
- MARTIN, A.C; DEL POZO, J.C; IGLESIAS, J.C; RUBIO, V; SOLANO, R; DE LA PENÃ, A; LEYVA, A; PAZ-AREZ. Influence of cytokinins on the expression of phosphate starvation responsive genes in *Arabidopsis*. **Plant Journal**. v.24, p.559-576. 2000.
- MEDINA, C. L.; MACHADO, E. C.; GOMES, M. M. A. Condutância estomática, transpiração e fotossíntese em laranja 'Valência' sob deficiência hídrica. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, Londrina, v. 11, n. 1, p. 2934, 1999.
- MEHNAZ. S.; WESELOWSKI, B.; LAZAROVITS, G. *Azospirillum canadense* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium isolated from rhizosphere **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.57, p.620-624, 2007a.
- MEHNAZ. S.; WESELOWSKI, B.; LAZAROVITS, G. *Azospirillum zea* sp. nov., a diazotrophic bacterium isolated from rhizosphere soil of *Zea mays*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.57, p.2805-2809, 2007b.
- MEINZER, F. C.; ZHU, J. Nitrogen stress reduces the efficiency of the C4CO2 concentrating system, and therefore quantum yield, in *Saccharum* (sugarcane) species. **Journal Experimental Botany**, Oxford, v. 49, p. 1227-1234, 1998.

MELÉM JUNIOR, N.J; MAZZA, J.A; DIAS, C.T, BRISKE, E.G. Efeito de Fertilizantes Nitrogenados na Acidificação de um Argissolo Vermelho Amarelo Latossólico Distrófico cultivado com milho. *Ciência e Tecnologia*, Macapá, v.2, n.1, p.75-89. abr, 2001.

MENDEL, R.R.; STALLMEYER, B. Molybdenum cofactor (nitrate reductase) biosynthesis in plants: First molecular analysis. In: *INTERNATIONAL CONGRESS ON PLANT TISSUE AND CELL CULTURE*, 8., Florence, 1994. *Current plant science and biotechnology: proceedIngs.* Kluwer, Dordrecht: Netherlands, 1995. p.577-582.

MERLIN, T.P.A. 2012. 101 P. Uso de Reguladores Vegetais e Bioestimulantes para a abreviação de Produção do porta-enxerto limoeiro. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Estadual Paulista. Botucatu. 2012.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Anuário estatístico da Agroenergia 2014. Disponível em :http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/anuario_agroenergia. Acesso em: 02 de out. 2015.

MONTEITH, J. L. *Principles of environmental physics*. Edward Arnold, London, 241p. 1973.

MORTELE, L.M.; dos SANTOS, R.F.; SCAPIM, C.A.; BRACCINI, A.L.; BONATO, C.M.; CONRADO, T. Efeito de biorregulador na germinação e no vigor de sementes de soja. *Rev. Revista Ceres*, Viçosa, v. 58, n.5, p. 651-660, set/out, 2011.

MOREIRA, L.R. Caracterização morfológica de cultivares de sorgo sacarino em estresse hídrico.2011.75f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Viçosa. Viçosa. 2011.

MOREIRA, M. Emprego de técnicas moleculares na taxonomia e em estudos sobre ecologia e diversidade de fungos micorrízicos arbusculares. In: SILVEIRA, A.P.D; FREITAS, S.S. *Microbiota do solo e qualidade ambiental*. Campinas: Instituto Agronomico de Campinas, 2007.

MOURA, M.V.S; FARIAS, C.H.A; AZEVEDO, J.D.N; AZEVEDO, H.M; PORDEUS, R.V. doses de adubação nitrogenada e potássica em cobertura na cultura da cana-de-açúcar, primeira soca, com e sem irrigação. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v.29, n.4, p. 753-760, 2005.

MUCHOW, R. C.; ROBERTSON, M. J.; WOOD, A. W. Growth of sugarcane under high input conditions in tropical Australia. II. Sucrose accumulation and commercial yield. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 48, p. 26-37, 1996.

NAGAIHAH, D.; SRINIVASA RAO, P.; PRAKASHAM, R. S.; UMA, A.; RADHIKA, K.; BARVE, Y.; UMAKANTH, A. V. High biomass sorghum as a potential raw material for biohydrogen production: a preliminar avaluation. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, Guntur, v. 6. p. 183-189, 2012.

NAIK, D.C.; JAYAKUMAR, B.V. Effect of time of harvest of sweet sorghum (*Sorghum bicolor*) genotypes on its yield and juice quality for jaggery preparation. **Indian Journal of Agronomy**, v.39, p.415-417, 1994.

NELSON, N.A. Photometria adaptation of Somogy method for determination of glucose. **Journal Biological Chemistry**, Baltimore, v. 31, n. 2, p. 159-161, 1944.

NETO, D. D et. al., Aplicação e influência do fitorregulador no crescimento das plantas de milho. *Revista da FZVA*, v.11, n.1, p.1-9. 2004.

NG KEE KWONG, K. F.; PAUL, J. P.; DEVILLE, J. Drip-fertigation - a means for reducing fertilizer nitrogen to sugarcane. **Experimental Agriculture**, Cambridge, v. 35, n. 1, p. 31-37, 1999.

NYITRAI, P. Development of functional thylakoid membranes: regulation light and hormones. In: PESSARAKLI, M. **Handbook of plant and crop physiology**. New York: Marcel Dekker, 1997. p. 391-403.

OAKS, A. Primary nitrogen assimilation in higher plants and its regulation. **Canadian Journal of Botany**, v.72, p.739- 750, 1994.

OKON, Y. Azospirillum as a potential inoculant for agriculture. *Trends Biotechnol* v3 p223–228, 1985.

OKON, Y; LABANDERA-GONZALEZ, C.A. Agronomic applications of Azospirillum: an valuation of 20 years worldwide field inoculation *Soil Biology e Biochemistry*, Amsterdam v.26, p.1591-1601, 1994.

OKON, Y.; LABANDERA-GONZALES, C.A. Agronomic applications of Azospirillum: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. **Soil Biological Biochemical**. V.26 p1591–1601 doi:10.1016/0038-0717(94)90311-5.1994.

PATE, T.S. Transport and partitioning of nitrogenous solutes. **Annual Review of Plant Physiology**, 31:313-340,1980.

PATERSON, A.H. et al. The Sorghum bicolor genome and the diversification of grasses. *Nature*, Hampshire, vol.457, n,29, 2009.

PATRIQUIN, D.G.; DÖBEREINER. J.; JAIN, D.K Sites and processes of association between diazotrophs and grasses. **Canadian Journal of Microbiology**, v.29, p.900-915, 1983.

PARTHIER, B. The role of phytohormones (cytokinin) in chloroplasts development. **Biochem Physiol Pflanz**, Amsterdam, n.174, p.173-214, 1979.

PEDROSA, F.O. Fixação biológica de nitrogênio: fértil idéia. **Ciencia hoje**, v.6, p.12-13, 1987.

PENG, G.; WANG, H.; ZHANG, G.; HOU, W.; LIU, Y.; WANG, E. T.; TAN, Z. *Azospirillum melinis* sp. nov., a group of diazotrophs isolated from tropical molasses grass. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.56. p.1263-1271, 2006.

PIMENTEL, C.; PEREZ, A. J. de L. C. Estabelecimento de parâmetros para avaliação de tolerância à seca em genótipos de feijoeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, DF, v. 35, n. 1, p. 31-39, 2000.

POPOV, E.G.; TALANOV, A.V.; KURETS, V.K.; DROZDOV, S.N. Effect of temperature on diurnal changes in CO₂ Exchange in intact cucumber plants. **Russian Journal of Plant Physiology**, v.50, n.2, p.178-182, 2003.

RANJITH, S. A.; MEIZER, F. C.; PERRY, M. H.; THOM, M. Partitioning of carboxylase activity in nitrogen-stressed sugarcane and its relationship to bundle sheath leakiness to CO₂, photosynthesis and carbon isotope discrimination. **Australian Journal of Plant Physiology**, Melbourne, v. 22, p. 903-911, 1995.

RATNAVATI, C. V.; DAYAKAR, B.; SEETHARAMA, N. Sweet sorghum stalk: a suitable raw material for fuel alcohol production. **Research Bulletin**, New York, v. 17, n. 5, p. 8-11, 2003.

RAVEN, P.H., R.F. Evert e S.E. Eichhorn. 2007. *Biologia vegetal*. Ed. 7. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.

REINHARDT, D., MANDEL, T., AND KUHLEMEIER, C. Auxin regulates the initiation and radial position of plant lateral organs. *Plant Cell* v,12 p 507–518. 2000.

REINHOLD, B.; HUREK, T.; FENDRIK, I.; POT, B.; GIWS, M.; KERSTERS, K; THIELEMANS, S.; de LEY, J. *Azospirillum halopraeferens* sp. nov., a nitrogen-fixing organism associated with roots of kallar grass (*Leptochloa fusca* (L.) Kunth) **International Journal of Systematic Bacteriology**. v.37, p.43-51, 1987.

REGHIN, M.Y.; OTTO, R.F.; SILVA, J.B.C. da. “Stimulate Mo” e proteção com “Tecido não Tecido” no pré-enraizamento de mudas de mandiocinha-salsa. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 18, n. 1, p.53-56, março 2.000.

REIS JUNIOR, F.B.; MACHADO, C.T.T.; MACHADO, A.T.; SODEK, L. Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 1139-1146, 2008.

RENNIE, R.J. Dinitrogen-fixing bacteria: computer-assisted identification of soil isolates. **Canadian Journal Microbiology** v.26 p1275– 1283, 1980.

ROCHA, J.G; FERREIRA, M.L; TAVARES, O.C.H; dos SANTOS, A.M; DOUZA, S.R. Cinética de Absorção de Nitrogênio e Acúmulo de Frações Solúveis Nitrogenadas e Açúcares em Girassol. *Pesquisa Agropecuária Tropical*. Goiânia. v.44, n.4, p.381-390. 2014.

ROCHA, R. N. C.; GALVÃO, J. C. C.; TEIXEIRA, P. C.; MIRANDA, G. V.; AGNES, E. L.; PEREIRA, P. R. G.; LEITE, U. T. Relação do índice spad, determinado pelo clorofilômetro, com teor de nitrogênio na folha e rendimento de grãos em três genótipos de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete lagoas, v. 4, p. 161-171, 2005.

RODRIGUES FILHO, O.; FRANÇA, A. F. de S.; OLIVEIRA R. de P.; OLIVEIRA, E. R.de; ROSA, B. SOARES T. V.; MELLO S. Q. S. Produção e composição bromatológica de quatro híbridos de sorgo forrageiro [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] submetidos a três doses de nitrogênio. *Ciência Animal Brasileira*, Goiânia, v. 7, n. 1, p. 37-48, 2006.

RODRIGUES, L.F.O.S.; GUIMARÃES, F.; DA SILVA, M.B.; PINTO, J.A.S.; KLEIN, J.; DA COSTA, A.C.P.R. Características agronômicas do trigo em função de *Azospirillum brasilense*, ácidos húmicos e nitrogênio em casa de vegetação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental (Online)**, v. 18, p. 31-37, 2014.

RÓS, A.B.; NARITA, N.; de ARAÚJO, H.S. Uso de regulador na cultura da batata-doce. *Científica*, Jaboticabal, v.43, n.2, p.135-142, 2015.

ROTHBALLER, M.; ECKERT, B.; SCHMID, M.; FEKETE, A.; SCHOLTER, M.; LEHNER, A.; POLLMANN, S.; HARTMANN, A. Endophytic root colonization of gramineous plants by *Herbaspirillum frisingense*. **FEMS Microbiol Ecol** 66:85–95 doi:10.1111/j.1574-6941.2008.00582.x, 2008.

REPKE, R.A.; VELOZZO, M.R.; DOMINGUES, M.C.S.; RODRIGUES, J.D. Efeito da aplicação de reguladores vegetais na cultura da alface (*Lactuca sativa*) crespa var. verônica e americana var. Lucy brow. *Nucleus*, v.6, n.2, out. 2009.

RODRIGUES, L. F. O. S. Características Fisiológicas e Agronômicas do trigo em função da combinação da matéria orgânica estabilizada, *Azospirillum brasilense* e doses de nitrogênio.2014.74f.Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Marechal Cândido Rondon. 2014.

RUFTY, B.; THOMAS, J.E.; REMMLER, J.L. et al. Intracellular localization of nitrate reductase in roots. **Plant Physiology**, v.82, p.675-680, 1986.

SAIKIA, S.P.; JAIN, V.; SANGEETA, K.; SAMITHA, A. Dinitrogen fixation activity of *Azospirillum brasilense* in maize (*Zea mays*). *Current Science*, v.93, p.1296-1300, 2007.

SAKAKIBARA, H. Cytokinins: activity, biosynthesis, and translocation. **Annual Review of Plant Biology**, v.57, p.431-449, 2006.

SALA, V.M.R.; CARDOSO, E.J.B.N.; FREITAS, J.G.; SILVEIRA, A.P.D. da. Novas bactérias diazotróficas endofíticas na cultura do trigo em interação com a adubação nitrogenada, no campo. *Biologia do Solo*. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa. v.32, n.3, mai./jun. 2008.

SALISBURY, F.B. e ROSS, C.W. *Plant physiology*. Wadsworth, Inc., 2013. 773p.

SANTOS, F.C.DOS; FILHO, M,R,A; RESENDE; A. V; OLIVEIRA, A.C; GOMES T.C; OLIVEIRA, M.S. Adubações nitrogenada e potássica no sorgo biomassa-productividade e qualidade de fibra. Revista Brasileira de Milho e Sorgo. Sete Lagoas, v.13, n.1, p. 1-13, 2014.

SEGATO, S.V; PINTO, A.S; JENDIROBA, E; NÓBREGA, J.C.M. Atualização em produção de cana-de-açúcar. Piracicaba: CP 2. p. 19-36. 2006

SERRAJ, R.; SINCLAIR, T.R. Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions? **Plant Cell and Environment**, v.25, p.333-341. 2002.

SERNA-SALDÍVAR, S. O.; CHUCKHERNÁNDEZ, C.; PÉREZ-CARRILLO,E.; EREDIA-OLEA, E. Sorghum as a Multifunctional Crop for the Production of Fuel Ethanol: Current Status and Future Trends. In: LIMA, M. A. P. (Ed.). Bioethanol. 2012. Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/bioethanol/sorghum-as-a-multifunctional-crop-for-the-production-of-fuel-ethanol-current-status-and-future-trend>>. Acesso em: 14 jun 2014.

SCHANK, S.C.; SMITH, R.L.; WEISER, G.C.; ZUBERER, D.A.; BOUTON, J.H.; QUESENBERRY, K.H.; TYLER, M.E.; MILAM, J.R.; LITTLE, R.C. Fluorescent antibody technique to identify *Azospirillum brasilense* associated with roots of grasses. Soil Biology and Biochemistry, v.11 p.287–295 doi:10.1016/0038-0717(79)90074-9, 1979.

SHIMAZAKI, K. I. et al. Light regulation of stomatal movement. Annual Review of Plant Biology, Gainesville, v. 58, n. 1, p. 219-247, 2007.

SILVA, M.A; CATO, E.C; COSTA, A. G. F. Produtividade e Qualidade Tecnológica da soqueira de cana-de-açúcar submetida à aplicação de biorregulador e fertilizantes líquidos. Ciencia Rural. Santa Maria. v.40, n.4, p.774-780. 2010.

SILVA, M.A. et al. Relationships between physiological traits and productivity of sugarcane in response to water deficit. The Journal of Agricultural Science, Cambridge, n.15, v.1, p 1-15, 2013.

SINGH, P. N.; MOHAN, S. C. Water use and yield response of sugarcane under different irrigation schedules and nitrogen levels in a subtropical region. **Agricultural Water Management**, Amsterdam, v. 26, p. 253-264, 1994.

SMITH, K.A; MCTAGGART, I.P; TSURUTA, H. Emissions of N₂O and NO associated with nitrogen fertilization in intensive agriculture, and the potential for mitigation, Soil Use and Management. CAB International, Wallingford, v.13, p.296- 304, 1997.

SOARES, L. A. dos A., et. al. Troca de CO₂ do feijão-caupi irrigado com água salina e fertilização nitrogenada. Agropecuária Científica no Semiárido. V. 9, n. 3, p. 30-37. 2013.

SOUTHGATE, D.A.T. **Determination of food carbohydrates**. London. Ed. Applied Science Publishers LTD. 1991, 177p.

SRIVASTAVA, L. M. Auxins. In: SRIVASTAVA, L. M. (Ed.). **Plant Growth and Development**. San Diego: Academic Press, 2002. cap.6, p.155-169.

STEENHOUDT, O.; VANDERLEYDEN, J. *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. **FEMS Microbiology Reviews**, v.24, p.487-506, 2000.

STICKLER, F.C. et al. Leaf area determination in grain sorghum. *Agronomy Journal*, Madison, v.53, p.187-188, 1961.

SUMMERFIELD, R.J. et al. The physiology cowpea. In: SINGH, S.R.; RACHIE, K.O. (Eds). **Cowpea research, production and utilization**. Chichester, 1985. p.66-101.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia vegetal*. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2011. 820 p.

TARRANT, J.J.; KRIEG, N.R.; DOBEREINER, J. A taxonomic study of the Spirillum lipoferum group, with descriptions of a new genus, Azospirillum gen. nov. and two species, Azospirillum lipoferum (Beijerinck) comb. nov. and Azospirillum brasilense sp. nov. *Can. Journal of Microbiology*. v. 24, n. 8, p. 967-80, 1978.

TEIXEIRA, C. G.; JARDINE, J. G.; NICOLELLA, G.; ZARONI, M. H. Influência da época de corte sobre o teor de açúcares de colmos de sorgo sacarino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 34, n. 9, p. 1601-1606, 1999.

TEIXEIRA, C.G; JARDINE, J.G; NICOLELLA, G. ZARONI, M.H. Influência da Época de Corte sobre o Teor de Açúcares de Colmos de Sorgo Sacarino. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. Brasília. v.34, n.9, p.1601-1606. 1999.

THORBURN, P. J.; DART, I. K.; BIGGS, I. M.; BAILLIE, C. P.; SMITH, M. A.; KEATING, B. A. The fate of nitrogen applied to sugarcane by trickle irrigation. **Irrigation Science**, Heidelberg, v. 22, p. 201-209, 2003.

Torres Netto A, Campostrini E, Oliveira JG, Bressan- Smith RE. Photosynthetic pigments, nitrogen, chlorophyll *a* fluorescence and SPAD-502 readings in coffee leaves. *Science Horticultural*. 2005; 104: 199-209.

ULMASOV, T.; MURFETT, J.; HAGEN, G. GUILFOYLE, T, J. Aux/IAA Proteins Repress Expression of Reporter Genes Containing Natural and Highly Active Synthetic Auxin Response Elements. *The Plant Cell*, Waterbury, v.9, p. 1963-1971. 1997.

UNIÃO DAS INDÚSTRIAS DE FERTILIZANTES. *La fertilization*. 7.ed. Paris, 1997.

USDA. United States Departamento of Agriculture. Classification for Kingdom Plantae Down to Subspecies *Sorghum bicolor* (L.) Moench ssp. bicolor. Disponível em: <http://plants.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=displayclassid=SOBIB> Acesso em: 12 set. 2015.

VAN BEL, A. J. E.; HESS, P. H. Hexoses as phloem transport sugars: the end of a dogma. **Journal of Experimental Botany**, v. 59, n. 2, p. 261-272, 2008.

- VANDERLEYDEN, J. Evaluation of the intrinsic competitiveness and saprophytic competence of *Rhizobium tropic* HB strains. **Biology and Fertility of Soils**, v.24, p. 274-282. 1997.
- VAUGHN, K.C.; CAMPBELL, W.H. Immunogold localization of nitrate reductase in maize leaves. **Plant Physiology**, v.88, p.1354-1 357, 1988.
- VAVASSEUR, A.; RAGHAVENDRA, A.S. Guard cell metabolism and CO₂ sensing. **New Phytologist**, v.165, p.665-682, 2005.
- VENÂNCIO, W.S.; RODRIGUES, M.A.T.; BEGLIOMINI, E.; SOUZA, N.L. Physiological effects of strobilurin fungicides on plants. **Publication UEPG**, Ponta Grossa, v.9, n.3, p.59-68, 2004.
- VIEIRA, E.L.; CASTRO, P.R.C. Ação de bioestimulante na germinação de sementes, vigor de plântulas, crescimento radicular e produtividade de soja. *Revista Brasileira de Sementes*, 23:222- 228.2001.
- VIEIRA E.L e MONTEIRO CA (2002) Hormônios vegetais. In: Introdução à fisiologia vegetal. Maringá, Eduem. p.79-104.
- WEBSTER, J.E.; BENEFIELD, D.; DAVIES, F. Yield and composition of sorghum juice in relation to time of harvest in Oklahoma. **Agronomy Journal**, v.46, p.157-160, 1984.
- WERNER, T.; SCHMÜLLING, T. Cytokinin action in plant development. *Current Opinion in Plant Biology*, v. 12, n. 5, p. 527-538, 2009.
- WISNIEWESKI-DYE *et al.* Azospirillum Genomes Reveal Transition of Bacteria from Aquatic to Terrestrial Environments. **PLOS Genetics**. v.7, 2011.
- WOLSCHICK, D.; MARTINEZ, M.A.; FONTES, P.C.R.; de MATOS, A. Implementação e teste de um modelo mecanístico de simulação do crescimento e desenvolvimento de plantas de milho. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*. Campina Grande. v.11, n.3, p.271–278, 2007.
- XIE, C.H.; YOKOTA, A. *Azospirillum oryzae* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium Isolated from the roots of the rice plant *Oryza sativa*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.55, p.1435-1438, 2005.
- YAN, Y.; YANG, J.; DOU, Y. Nitrogen fixation island and rhizosphere competence traits in the genome of root-associated *Pseudomonas stutzeri* A1501. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* v.105 p7564–7569 doi:10.1073/pnas.0801093105, 2008.
- YANEVA, I. A.; BAYDANOVA, V. D.; VUNKOVA-RADEVA, R. V. Nitrate reductase activation state in leaves of molybdenum-deficient winter wheat. **Journal of Plant Physiology**, v.157, p.495-501, 2000.

YANG, Z.; MIDMORE, D. J. A model for the circadian oscillations in expression and activity of nitrate reductase in higher plants. **Annals of Botany**, London, v. 96, n. 6, p. 1019-1026, 2005.

YOUNG, C.C.; HUPFER, H.; SIERING, C.; HO, M.J.; ARUN, A.B.; LAI, W.A.; REKHA, P.D.; SHEN, F.T.; HUNG, M.H.; CHEN, W.M.; YASSIN, A.F. *Azospirillum rugosum* sp. nov., isolated from oil-contaminated soil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 58, p.959-963, 2008.

YOUNG, J.P.W. Phylogenetic classification of nitrogen-fixing organisms. In: STACEY, G.; BURRIS, R. H.; EVANS, R J. (eds.). **Biological Nitrogen Fixation**. London: Chapman ; Hall, New York, p.43-86, 1992.

ZHOU, Y.; WEP, W.; WANG, X.; XU, L.; LAI, R. *Azospirillum palatum* sp. nov., Isolated from forest soil in Zhejiang province. China. **Journal of General and Applied Microbiology**. v.55, p.1-7, 2009.

ZOTELLI, L.C. Palha e Vinhaça: Emissões de CO₂, N₂O e CH₄ em solo com cana-de-açúcar. 2012. 88 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Instituto Agronômico de Campinas, 2012.