

CRESCIMENTO DE CULTIVARES DE ARROZ (*Oryza sativa* L.) INFLUENCIADO PELA INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS

GROWTH OF RICE CULTIVARS (*Oryza sativa* L.) AS AFFECTED BY INOCULATION WITH PLANT GROWTH-PROMOTING BACTERIA

Enderson Petrônio de Brito FERREIRA¹; Adriano Moreira KNUPP¹;
Claudia Cristina Garcia MARTIN-DIDONET²

1. Embrapa Arroz e Feijão, Rodovia GO-462, Km 12, CEP 75375-000, Santo Antônio de Goiás, Goiás, e-mail: enderson.ferreira@embrapa.br; 2. Unidade Universitária de Ciência Exatas e Tecnológicas - UNUCET, Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, Goiás.

RESUMO: Este trabalho objetivou avaliar o efeito da inoculação de seis estirpes de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), *Burkholderia* spp. (B7 e B16), *Pseudomonas* spp. (P18 e P21) e *Rhizobium* spp. (R65 e R82) e duas misturas contendo uma estirpe de cada gênero no crescimento de seis cultivares de arroz (BRS Bonança, BRS Aimoré, BRS Talento, BRSMG Curinga, Japonês e Bolinha). As características fisiológicas das bactérias foram determinadas em ensaios *in vitro*. Foi conduzido um experimento sob condições de casa de vegetação onde as BPCP foram inoculadas em cultivares de arroz, cultivados em vasos contendo 1 kg de solo, em delineamento de blocos casualizados com 4 repetições. Aos 60 dias após a emergência foram avaliados parâmetros de crescimentos relacionados à parte aérea e ao sistema radicular dos cultivares de arroz. Entre as bactérias, somente duas (B7 e R65) não apresentaram capacidade de produção *in vitro* de auxina. Todas as estirpes apresentaram atividade de catalase e formação de película em meio NFB semi-sólido sem N ou presença de nódulo em feijoeiro, indicando capacidade de fixação biológica de nitrogênio. A inoculação das BPCP em arroz proporcionou aumentos médios de 10% em relação ao controle para a área foliar e massa seca da parte aérea e de 9% para o comprimento e massa seca de raiz. Entre os cultivares, BRS Aimoré apresentou maior interação com as estirpes estudadas e a estirpe P21 de *Pseudomonas* spp. proporcionou diferença significativa em relação ao controle em parâmetros relacionados à parte aérea e ao sistema radicular.

PALAVRAS CHAVE: *Burkholderia*. *Pseudomonas*. *Rhizobium*. Inoculação.

INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) faz parte da dieta de grande parte da população mundial, estando entre as plantas mais cultivadas no mundo (FAGERIA et al., 2011). Seu cultivo acontece em todos os continentes, em dois ecossistemas, o de várzeas sob inundação, e o de terras altas, sendo a Ásia responsável por cerca de 90% do cultivo mundial (FAO, 2011). O Brasil está situado entre os dez maiores produtores mundiais, destacando-se como o maior produtor da América Latina. Na safra 2011 foram cultivados 2.771.681 hectares com a cultura do arroz no Brasil, com uma produção de 13,81 milhões de toneladas (CONAB, 2011).

Cultivado em todos os estados brasileiros, o arroz ocupa uma posição de destaque do ponto de vista econômico dentre as culturas anuais, tendo o Rio Grande do Sul como principal produtor, contribuindo com 63,95% da produção total. Além disso, esse estado influi fortemente no balanço de produtividade anual nacional deste cereal, em função da alta tecnologia empregada e das variedades adotadas, fazendo com que sua produtividade média seja em torno de 7.600 kg ha⁻¹

e a média nacional em torno de 4.800 kg ha⁻¹ (CONAB, 2011). A região Centro Oeste é responsável por 13% da área plantada no país com produtividade média de 4.179 kg ha⁻¹ (CONAB, 2011).

O arroz tem grande importância econômica e cultural no Brasil, uma vez que é consumido pela grande maioria da população, sendo tradicional o consumo de arroz e feijão no país. No contexto atual, de crescente aumento populacional e de demanda por novas tecnologias que visam à sustentabilidade da atividade agrícola, a utilização de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) durante o cultivo como inoculante é uma proposta cada vez mais atual e estratégica em tempos de aquecimento global.

O estudo das interações entre planta e microrganismos vem se intensificando nos últimos anos com o intuito de entender os vários fatores envolvidos para a seleção de estirpes de bactérias eficientes na promoção de crescimento das grandes culturas. A utilização de bactérias na formulação de inoculantes, ou biofertilizantes, vem sendo utilizada e estudada em várias partes do mundo, sendo relatado que estas tecnologias podem reduzir os

custos de produção e impacto ambiental e aumentar a produtividade das culturas (ISAWA et al., 2010; BHATTACHARYYA e JHA, 2012).

Bactérias de diversos gêneros foram identificadas como BPCP, sendo que entre os gêneros de bactérias mais conhecidas estão: *Rhizobium* (WANG e MARTINEZ-ROMERO, 2000), *Burkholderia* (VIDEIRA et al., 2012) e *Pseudomonas* (YAO et al., 2010), entre outros. Os efeitos benéficos causados por estes microrganismos são diversos e bem conhecidos, abrangendo desde a solubilização/fornecimento de nutrientes e síntese de fitormônios, até o controle biológico de patógenos (BABALOLA, 2010; DEY et al., 2004; PATTEN e GLICK, 2002). Contudo, os efeitos da inoculação de bactérias isoladas e em associação com outros gêneros, assim como a interação destas com diferentes genótipos de arroz ainda não estão totalmente esclarecidos.

Desta forma, este trabalho teve como objetivo determinar o efeito da inoculação e coinoculação de bactérias pertencentes a diferentes gêneros e suas interações com diferentes genótipos de arroz para o crescimento e desenvolvimento destas plantas.

MATERIAL E MÉTODOS

As BPCP usadas neste trabalho foram isoladas de raízes de arroz coletadas na Estação Experimental em Agroecologia da Embrapa Arroz e Feijão, em Santo Antônio de Goiás-GO. As raízes foram desinfestadas superficialmente com solução de hipoclorito de sódio (3%) por 10 minutos e lavadas em água estéril 10 vezes e posteriormente, maceradas em água estéril e alíquotas da suspensão foram inoculadas em meios seletivos: meio JMV para *Burkholderia* spp. e YMA para *Rhizobium* spp. (DÖBEREINER et al., 1999) e meio King B para *Pseudomonas* spp. (KING et al., 1954). As colônias obtidas foram coletadas e purificadas e depois foram selecionadas as bactérias para serem utilizadas neste trabalho.

O trabalho foi realizado em duas etapas, sendo que na primeira foi realizada a caracterização de estirpes utilizadas, sendo: duas estirpes de *Burkholderia* spp. (B7 e B16), duas estirpes de *Rhizobium* spp. (R65 e R82) e duas estirpes de *Pseudomonas* spp. (P18 e P21) e, em uma segunda etapa realizada em casa-de-vegetação, estas estirpes foram inoculadas em diferentes cultivares de arroz.

A caracterização das estirpes foi realizada em laboratório baseando-se na produção de ácido indol acético (AIA), segundo procedimento descrito por Marchioro (2005), capacidade de fixação

biológica de nitrogênio (FBN), segundo metodologia descrita por Oliveira et al. (2002), antagonismo a *Rhizoctonia solani*, conforme descrito por Royse e Ries (1978) e presença da atividade de enzimas, como: protease, segundo Stamford et al. (1998), catalase, conforme Yano et al. (1991) e urease, conforme Schaad (2001). A partir destas características foi construída uma matriz binária, usando 0 (zero) para a ausência e 1 (um) para a presença da característica, a partir da qual foi derivada uma matriz de similaridade usando coeficiente de Jaccard para a construção de dendrograma usando o algoritmo UPGMA (Unweighted Pair Group with Arithmetic Means), através do software NTSYS-pc (ROHLF, 1989).

Para o experimento de inoculação, conduzido em casa de vegetação da Embrapa Arroz e Feijão, em Santo Antônio de Goiás-GO, foram preparados os inoculantes usando turfa estéril como carreador, contendo uma concentração de 1×10^9 células g^{-1} de inoculante de cada uma das estirpes (B7, B16, R65, R82, P18 e P21) e duas combinações das estirpes (B7+P21+R65 e B16+P18+R82), totalizando oito inoculantes.

O experimento foi conduzido em delineamento de blocos casualizados com 4 repetições, no qual foram avaliados quatro cultivares de arroz de terras altas (BRS Bonança, BRS Aimoré, BRS Talento e BRSMG Curinga) e dois cultivares de arroz cateto (Japonês e Bolinha). Os tratamentos consistiram da inoculação das sementes de cada cultivar com os inoculantes descritos acima e de controle absoluto, totalizando nove tratamentos. As sementes inoculadas foram colocadas em vasos contendo 1 kg de solo, de modo que cada vaso recebeu quatro sementes e após a germinação foi feito desbaste, deixando-se duas plantas por vaso.

Aos 60 dias após a emergência (DAE), as plantas foram colhidas, sendo cortadas na altura do solo. A parte aérea foi separada medida com auxílio de uma trena para determinação da altura da planta (AP), seguida da determinação da área foliar (AF) em medidor da marca LI-COR, modelo LI3000 e pesagem para determinar a massa fresca da parte aérea (MFPA). O solo contendo as raízes foi cuidadosamente retirado do vaso e as raízes cuidadosamente separadas do solo, lavadas e medidas com auxílio de uma régua para determinação do comprimento da raiz (CR). Logo após, as raízes foram imersas em uma proveta contendo 700 mL de água, determinando o volume das raízes (VR) pelo deslocamento de água na proveta após a imersão das mesmas. Em seguida as raízes foram secas em papel toalha e pesadas,

determinando a massa fresca das raízes (MFR). Após esses procedimentos, a parte aérea e as raízes foram acondicionadas em sacos de papel e colocadas para secar em estufa com circulação forçada de ar sob temperatura constante (65 °C; 72 h). Parte aérea e raízes foram pesadas para determinação da massa seca da parte aérea (MSPA) e de raízes (MSR).

Os dados foram submetidos a uma análise de variância, onde as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância, com o uso do programa Sisvar (FERREIRA, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A caracterização das BPCP avaliadas neste estudo revelou que a maior parte delas foi capaz de

produzir auxinas em concentrações variando de 12 a 42 $\mu\text{g mL}^{-1}$, e apenas uma estirpe de *Burkholderia* e uma de *Rhizobium* não apresentaram produção deste fitormônio. A capacidade de realizar FBN *in vitro* revelou que as estirpes de *Pseudomonas* apresentaram níveis médios de formação superficial de película em meio de cultura, enquanto que as estirpes de *Burkholderia* apresentaram níveis baixos. Já as estirpes de *Rhizobium* foram capazes de formar nodulação abundante em feijoeiro comum. O antagonismo a *Rhizoctonia solani* foi observado somente com as estirpes P18 e R82. Já a presença de protease e catalase foi observada em todas as estirpes, exceto na R65, que não apresentou atividade de protease. Além disso, as estirpes de *Pseudomonas* e *Rhizobium* apresentaram atividade de urease (Tabela 1).

Tabela 1. Avaliação da produção de ácido indol acético (AIA), fixação biológica de nitrogênio (FBN), antagonismo a *Rhizoctonia solani*, produção de protease, fosfatase, catalase e urease pelos isolados bacterianos obtidos de raízes de arroz.

	<i>Pseudomonas</i> spp.		<i>Burkholderia</i> spp.		<i>Rhizobium</i> spp.	
	P18	P21	B7	B16	R65	R82
AIA ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	15,79	12,32	0	24,50	0	42,35
FBN (<i>in vitro</i>)/Nodulação ¹	++	++	+	+	+++	+++
Antagonismo ²	+	-	-	-	-	+
Protease ³	+	+	+	+	-	+
Catalase	+	+	+	+	+	+
Urease ⁴	+++	+	-	-	+	+

¹Formação de película superficial em meio de cultura (NFb semi-sólido sem N) após incubação (48 h; 25 °C)/presença de nódulos em raízes de feijoeiro comum após 30 dias da inoculação e plantio das sementes em vasos com areia e vermiculita: +++ muito, ++ médio, + pouco, - ausente, ²Confronto de crescimento em meio (BDA) sólido após incubação (72 h; 28 °C), ³Formação de halo em meio mínimo (MM) sólido na presença de 10% (p/v) de caseína após incubação (106 h; 25 °C), ⁴Coloração do meio base vermelho de fenol após a adição de 1 mL de solução de uréia 1% (m/v) com incubação (até 30 minutos; 25 °C): +++ rosa-choque, ++ rosa, + rosa claro, - sem alteração da cor.

Os resultados apresentados na Tabela 1 demonstram o potencial de uso destas bactérias com BPCP, uma vez que elas apresentam vários mecanismos responsáveis pela promoção do crescimento de plantas, tais como: competição por nutrientes através da produção de sideróforos (CHAKRABORTY et al., 2009), antibiose (CUONG et al., 2011), síntese de hormônios vegetais (ASLANTAS et al., 2007), além do fornecimento de nutrientes às plantas, como o nitrogênio através da fixação biológica de nitrogênio - FBN (JHA et al., 2009). Alguns autores já relacionaram diferentes efeitos positivos na fisiologia do crescimento de cereais quando

associados a estes mesmos gêneros bacterianos (SHAHAROONA et al., 2007; JHA et al., 2009; SINGH et al., 2009).

A análise das características fisiológicas apresentadas pelas estirpes de BPCP (Tabela 1), realizada através do agrupamento em dendrograma de similaridade (Figura 1) revelou a formação de dois grupos contendo, no primeiro as estirpes de *Pseudomonas* (P18 e P21) e uma estirpe de *Rhizobium* (R82). As estirpes deste grupo apresentam características fisiológicas muito semelhantes, exceto pelo antagonismo a *R. solani*, não apresentado pela estirpe P21 (Tabela 1). O segundo foi formado por duas estirpes de

Burkholderia de (B7 e B16) e uma de *Rhizobium* (R65), as quais apresentaram características mais distintas entre si (Tabela 1).

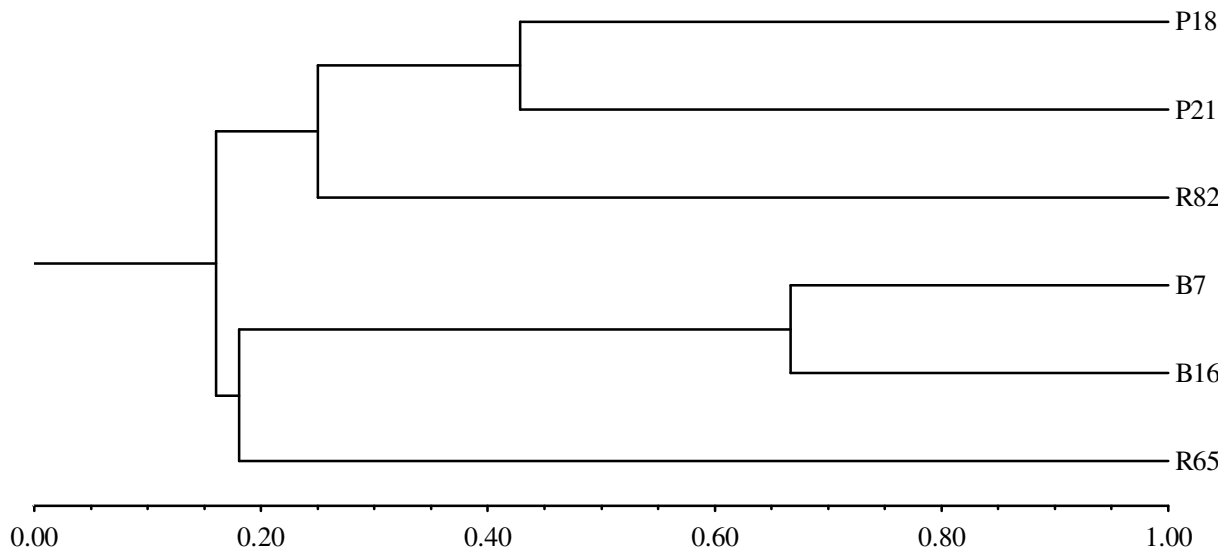


Figura 1. Dendrograma de similaridade construído com base nas características fisiológicas das estirpes de BPCP, usando Jaccard como coeficiente de similaridade e o algoritmo UPGMA como método de agrupamento.

A inoculação dos cultivares de arroz com as BPCP estudadas resultou em diferença significativa para a altura de planta e massa fresca da parte aérea (Figura 2A e B), apresentando em média para a altura de planta valores 9,3% superiores em relação ao controle, com valores médios em torno de 63 cm de altura (Figura 2A) e de massa fresca da parte aérea com valores médios 8,8% superiores ao controle (Figura 2B). Em trabalho realizado com dois cultivares indianas de arroz, Jha et al. (2009)

observaram efeitos da inoculação de BPCP superiores aos encontrados neste trabalho, com aumento de 60% no comprimento da parte aérea. Os resultados observados no aumento do comprimento da parte aérea não se repetiram em relação à área foliar e à massa seca da parte aérea, para as quais efeito significativo da inoculação só foi observado com *Pseudomonas*, resultando em aumento de 8,9% e 9,8%, respectivamente, em relação ao controle (Figura 2A e B).

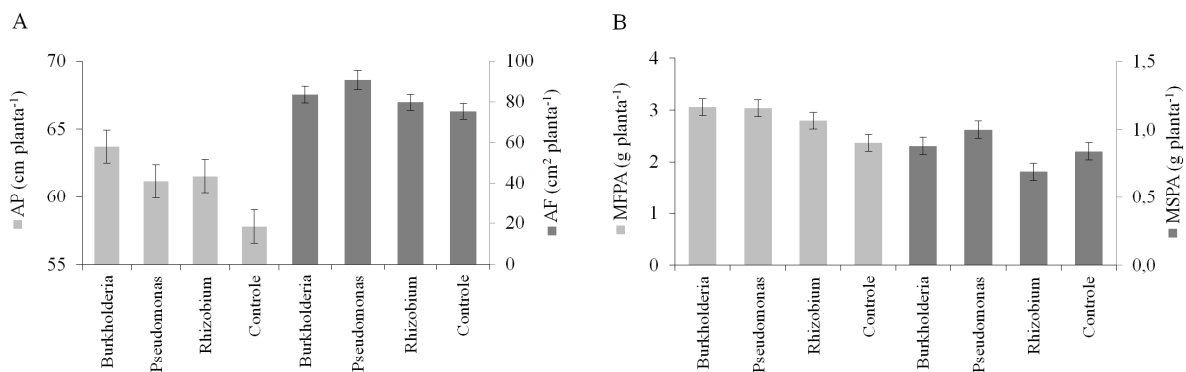


Figura 2: Efeito da inoculação de diferentes gêneros de bactérias promotoras de crescimento de plantas na altura (AP), área foliar (AF), massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa seca da parte aérea (MSPA) em arroz de terras altas.

O efeito da inoculação das BPCP sobre o comprimento de raízes e sobre a massa fresca de raízes foi significativo, com as estirpes dos três gêneros apresentando valores superiores aos observados no tratamento controle (Figura 3A e B).

Para massa seca de raízes, foi observada diferença significativa somente quando os cultivares de arroz foram inoculadas com as estirpes de *Pseudomonas* (Figura 3B).

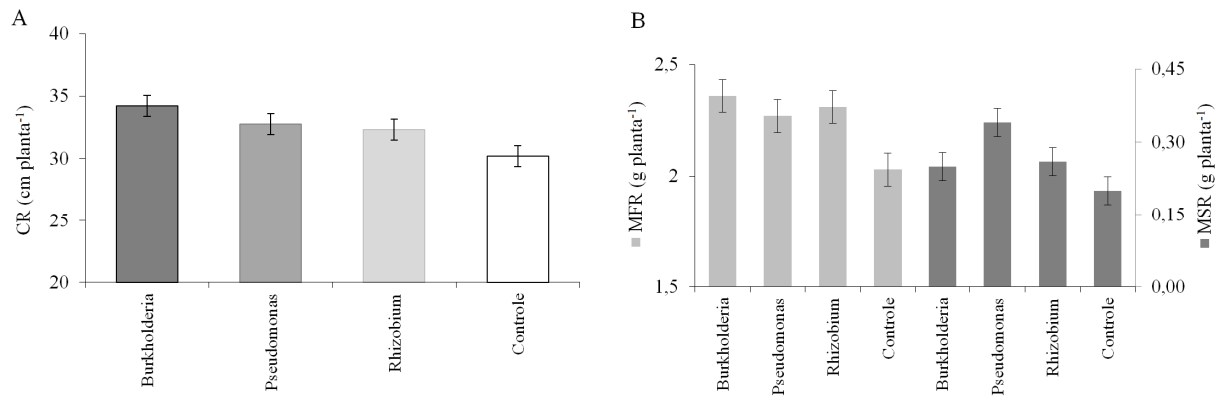


Figura 3. Efeito da inoculação dos diferentes gêneros de bactérias promotoras de crescimento de plantas no comprimento de raiz (CR), massa fresca de raiz (MFR) e massa seca de raiz (MSR) de arroz de terras altas.

Entre os gêneros de BPCP avaliados neste trabalho, *Pseudomonas* foi o único em que ambas as estirpes apresentaram produção de AIA (Tabela 1), além da estirpe P18 ter apresentado resposta positiva ao antagonismo à *Rhizoctonia solani*. A atividade antagonista de *Pseudomonas fluorescens* a *R. solani* já é bem descrita na literatura (KAZEMPOUR, 2004). Além disso, existem relatos de que o gênero *Pseudomonas* pode contribuir para o desenvolvimento de plantas de arroz pela combinação de uma diversidade de fatores de promoção de crescimento de plantas (NAGANANDINI et al., 2011).

Ao se avaliar as interações entre as estirpes e os diferentes cultivares de arroz para as características relacionadas à parte aérea, o cultivar BRS Aimoré apresentou significativas diferenças, com melhores resultados sendo observado com a inoculação das estirpes P18, B7, P21 e B7, respectivamente (Tabela 2).

Diferenças significativas para a massa fresca da parte aérea também foram observadas entre os tratamentos quando o cultivar Bolinha foi inoculado com a mistura B7+P21+R65 e o cultivar Japonês com a mistura B7+P21+R65, além das estirpes B7 e P21; contudo, sem diferença significativa para o tratamento controle (Tabela 2). Em relação à massa seca da parte aérea, a estirpe P21 proporcionou diferenças significativas em relação às outras estirpes e misturas estudadas, em todos os cultivares avaliados; contudo, diferenças significativas em relação ao tratamento controle foram observadas somente nos cultivares BRS Aimoré e Japonês (Tabela 2).

A inoculação das BPCP também proporcionou efeitos significativos na área foliar,

apresentando valores superiores ao tratamento controle quando o cultivar BRS Aimoré foi inoculado com a estirpe B7 e superiores à estirpe P18 com a inoculação do cultivar Bolinha com a mistura B7+P21+R65 (Tabela 2). Os efeitos apresentados pela inoculação das BPCP no crescimento do arroz podem estar relacionados com a capacidade de produção de AIA apresentada pela maior parte das estirpes estudadas (Tabela 1).

Segundo Patten e Glick (1996), a produção de auxinas pode ocorrer pela presença de microrganismos associado às plantas e tem sido sugerido que cerca de 80% das bactérias localizadas na rizosfera produzem auxinas predominantemente do tipo ácido indol-3-acético (AIA). As auxinas produzidas pelas bactérias podem interagir com as plantas e têm possibilidade de interferir em vários processos fisiológicos por alteração das concentrações nas várias partes da planta, e em diferentes momentos das fases de desenvolvimento.

Os efeitos da inoculação da BPCP nos parâmetros avaliados relacionados ao sistema radicular dos diferentes cultivares de arroz ocorreram com menor intensidade do que aqueles observados para os parâmetros da parte aérea. Diferença significativa em relação ao tratamento controle foi observada para o comprimento de raízes, quando o cultivar BRS Bonança foi inoculado com a estirpe R82. A estirpe R82 também proporcionou maiores valores de CR do que as estirpes B16 e P18 e do que a mistura B16+P18+R82. A inoculação do cultivar BRSMG Curinga com a estirpe P21 resultou em maiores valores de MSR em comparação com os demais tratamentos (Tabela 3).

Tabela 2. Efeito da inoculação de diferentes bactérias promotoras de crescimento de planta, e da mistura, na altura da planta (AP), massa fresca de parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA) e área foliar (AF) em diferentes cultivares de arroz de terras altas.

Inoculante	AP (cm planta ⁻¹)					
	BRSMG Curinga	BRS Aimoré	BRS Talento	BRS Bonança	Bolinha	Japonês
Controle	68,43 a	66,37 ab	62,23 a	55,03 a	60,20 a	69,67 a
B7	69,23 a	73,30 ab	58,47 a	57,47 a	59,57 a	64,50 a
B16	59,77 a	65,63 ab	59,17 a	58,57 a	60,27 a	62,13 a
P21	71,43 a	65,20 ab	58,03 a	58,13 a	52,50 a	62,97 a
P18	70,77 a	79,07 a	55,60 a	57,20 a	50,83 a	57,53 a
R65	66,90 a	66,67 ab	58,60 a	54,77 a	60,70 a	59,90 a
R82	65,43 a	58,43 b	62,97 a	56,07 a	56,53 a	58,00 a
B7+P21+R65	75,10 a	62,60 ab	64,47 a	60,27 a	66,43 a	59,93 a
B16+P18+R82	67,50 a	57,83 b	60,60 a	55,13 a	52,30 a	53,40 a
CV (%)	10,46					
	MFPA (g planta ⁻¹)					
Controle	2,14 a	3,32 bc	2,76 a	2,06 a	3,21 ab	4,37 a
B7	2,26 a	5,21 a	2,71 a	2,08 a	2,28 b	4,36 a
B16	2,14 a	3,01 c	2,24 a	2,68 a	2,53 ab	3,79 ab
P21	3,43 a	4,82 ab	2,54 a	2,60 a	2,20 b	4,55 a
P18	2,38 a	5,00 a	2,62 a	2,05 a	1,98 b	2,74 b
R65	2,41 a	2,70 c	1,99 a	2,52 a	3,10 ab	4,15 ab
R82	2,47 a	3,04 c	2,66 a	1,79 a	2,39 b	3,94 ab
B7+P21+R65	2,74 a	3,45 bc	2,81 a	2,88 a	3,96 a	4,57 a
B16+P18+R82	2,54 a	2,10 c	2,34 a	2,26 a	2,30 b	2,68 b
CV (%)	20,04					
	MSPA (g planta ⁻¹)					
Controle	1,22 a	1,02 bc	1,18 a	1,10 ab	1,31 a	1,07 bc
B7	0,45 d	0,77 bc	0,61 ab	0,47 c	0,49 c	0,86 bc
B16	0,44 d	0,87 abc	0,84 ab	0,74 abc	0,52 c	1,16 abc
P21	1,13 abc	1,38 a	1,12 a	1,15 a	1,06 abc	1,61 a
P18	0,60 cd	1,09 abc	0,67 ab	0,52 bc	0,48 c	0,67 c
R65	0,73 abcd	0,64 c	0,45 b	0,76 abc	0,65 bc	1,07 bc
R82	0,62 bcd	0,64 c	0,68 ab	0,41 c	0,57 c	0,99 bc
B7+P21+R65	1,21 ab	1,32 ab	0,95 ab	0,98 abc	1,22 ab	1,45 ab
B16+P18+R82	0,99 abcd	0,74 bc	0,76 ab	0,82 abc	0,87 abc	0,87 bc
CV (%)	26,60					
	AF (cm ²)					
Controle	74,43 a	76,93 bc	87,40 a	57,53 a	96,50 ab	94,63 a
B7	73,97 a	125,77 a	84,73 a	65,77 a	86,37 ab	78,13 a
B16	74,53 a	85,60 abc	72,17 a	94,07 a	83,60 ab	88,67 a
P21	117,10 a	118,10 ab	90,90 a	87,67 a	83,37 ab	92,83 a
P18	70,17 a	105,13 ab	82,80 a	61,93 a	69,70 b	54,40 a
R65	72,90 a	82,83 abc	74,70 a	82,27 a	111,70 ab	88,53 a
R82	72,30 a	83,57 abc	85,10 a	63,10 a	86,43 ab	82,83 a
B7+P21+R65	78,30 a	77,43 bc	97,67 a	97,03 a	121,67 a	85,90 a
B16+P18+R82	88,20 a	46,70 c	90,40 a	73,17 a	83,87 ab	69,40 a
CV (%)	21,81					

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Tabela 3. Efeito da inoculação de diferentes bactérias promotoras de crescimento de planta, e da mistura, no comprimento de raiz (CR), massa fresca de raiz (MFR), volume de raiz (VR) e massa seca de raiz (MSR) em diferentes cultivares de arroz de terras altas.

Inoculante	CR (cm planta ⁻¹)					
	BRSMG Curinga	BRS Aimoré	BRS Talento	BRS Bonança	Bolinha	Japonês
Controle	36,50 a	31,57 a	37,53 a	28,17 bc	32,80 a	31,40 a
B7	36,27 a	30,17 a	41,83 a	38,73 ab	33,57 a	32,10 a
B16	29,77 a	32,40 a	34,63 a	29,97 bc	31,83 a	37,27 a
P21	37,93 a	27,77 a	33,73 a	32,63 abc	32,10 a	33,17 a
P18	30,33 a	30,80 a	33,57 a	27,00 c	35,87 a	34,10 a
R65	31,83 a	27,77 a	34,23 a	35,57 abc	33,77 a	33,00 a
R82	34,43 a	24,67 a	35,90 a	41,07 a	34,83 a	33,93 a
B7+P21+R65	32,47 a	31,20 a	33,33 a	34,83 abc	36,67 a	30,67 a
B16+P18+R82	32,53 a	27,40 a	31,23 a	27,63 c	32,17 a	30,23 a
CV (%)	12,61					
MFR (g planta ⁻¹)						
Controle	2,56 a	2,03 ab	2,42 a	2,00 a	3,33 a	1,60 a
B7	2,60 a	1,77 b	3,22 a	1,94 a	2,52 a	2,28 a
B16	2,31 a	1,84 b	2,76 a	2,11 a	2,41 a	1,61 a
P21	2,84 a	1,76 b	2,86 a	2,27 a	2,37 a	2,13 a
P18	1,98 a	1,74 b	2,62 a	2,37 a	2,30 a	1,53 a
R65	3,56 a	1,24 b	2,15 a	3,22 a	3,00 a	2,09 a
R82	2,96 a	3,94 a	4,00 a	2,22 a	2,83 a	2,02 a
B7+P21+R65	2,54 a	1,35 b	2,91 a	2,56 a	4,02 a	2,40 a
B16+P18+R82	2,39 a	0,74 b	2,68 a	2,37 a	2,76 a	1,25 a
CV (%)	32,31					
VR (cm ³ planta ⁻¹)						
Controle	3,23 a	2,90 a	4,00 a	2,50 a	4,87 ab	2,23 a
B7	3,90 a	1,67 a	3,83 a	2,10 a	3,43 bc	2,93 a
B16	4,00 a	2,63 a	3,87 a	3,87 a	5,33 ab	2,43 a
P21	4,40 a	2,23 a	4,73 a	4,00 a	2,47 c	1,67 a
P18	3,77 a	2,80 a	4,13 a	2,23 a	3,23 bc	1,67 a
R65	4,47 a	2,23 a	3,67 a	4,23 a	5,23 ab	2,33 a
R82	3,33 a	2,23 a	5,23 a	3,87 a	4,30 abc	3,33 a
B7+P21+R65	4,67 a	2,60 a	5,23 a	4,40 a	6,60 a	3,83 a
B16+P18+R82	3,67 a	0,87 a	4,00 a	4,07 a	4,33 abc	1,90 a
CV (%)	25,60					
MSR (g planta ⁻¹)						
Controle	0,20 b	0,18 a	0,38 a	0,28 a	0,46 ab	0,24 a
B7	0,21 b	0,15 a	0,33 a	0,16 a	0,24 b	0,21 a
B16	0,14 b	0,20 a	0,28 a	0,24 a	0,25 ab	0,22 a
P21	0,96 a	0,29 a	0,44 a	0,35 a	0,42 ab	0,34 a
P18	0,25 b	0,24 a	0,35 a	0,30 a	0,31 ab	0,20 a
R65	0,28 b	0,10 a	0,21 a	0,28 a	0,45 ab	0,10 a
R82	0,24 b	0,41 a	0,36 a	0,51 a	0,66 a	0,21 a
B7+P21+R65	0,36 b	0,25 a	0,36 a	0,40 a	0,64 ab	0,32 a
B16+P18+R82	0,20 b	0,14 a	0,27 a	0,20 a	0,23 b	0,15 a
CV (%)	54,60					

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

A inoculação do cultivar BRS Aimoré com a estirpe R82 resultou em valores de massa fresca de raízes maiores que aqueles observados com as demais estirpes e misturas. Já o cultivar Bolinha, quando inoculado com a mistura B7+P21+R65 resultou em valores de volume de raízes superiores aos observados com as estirpes B7, P21 e P18, além de apresentar maiores valores de massa seca de raízes quando inoculado com a estirpe R82, em comparação com a mistura B16+P18+R82 (Tabela 3).

Neste estudo, tanto os parâmetros relacionados com a parte aérea, como os relacionados ao sistema radicular das plantas foram influenciados pela inoculação com as bactérias estudadas (Figuras 2 e 3, Tabelas 2 e 3). Esses efeitos têm sido relatados na literatura em trabalhos desenvolvidos com arroz, sorgo, milho (SINGH et al., 2011; KOCHAR et al., 2011; MEHNAZ e LAZAROVITS, 2006) entre outras plantas.

Os dados obtidos, assim como os parâmetros metabólicos observados para cada estirpe bacteriana (Tabela 1), sugerem que há uma interação entre o genótipo da planta e as estirpes bacterianas em relação às respostas apresentadas perante a inoculação. Apesar disso, como a maior parte das BPCP avaliadas são capazes de produzir AIA e, no geral, as melhores respostas foram observadas com a inoculação de estirpes que produzem AIA, como: P18, P21, B16 e R82, o efeito observado na promoção do crescimento das plantas de arroz pode estar relacionado à produção de AIA por estas estirpes.

Os efeitos do AIA produzido pelas bactérias nas plantas podem ser positivos ou negativos, sendo que as consequências são dependentes da quantidade de AIA produzida e da sensibilidade às mudanças de concentração dos diversos tecidos da planta e genótipos (SPAEPEN et al., 2007), o que explicaria parte das variações observadas entre os compartimentos (parte aérea e raiz) da planta analisados e dos genótipos.

A resposta diferencial de diferentes partes da planta já foi observada em plantas de milho inoculadas com estirpes de *Pseudomonas*, *Gluconacetobacter* e *Azospirillum* (MEHNAZ e LAZAROVITS, 2006). Segundo estes autores, além das diferentes respostas nos quatro genótipos testados, houve respostas diferenciais da inoculação na massa seca da raiz e da parte aérea das plantas. Além disso, sugere-se que a sinalização entre planta/bactéria mediada por AIA é complexa e pode envolver outros fatores, como pH e composição do solo (SPAEPEN et al., 2007).

CONCLUSÕES

As características fisiológicas das bactérias estudadas indicam que todas elas são potenciais BPCP, apresentando mais de um mecanismo de promoção de crescimento de plantas;

Os efeitos da inoculação das BPCP em arroz são mais evidentes nos parâmetros relacionados ao crescimento da parte aérea, com destaque para as bactérias do gênero *Pseudomonas* que provocaram diferenças significativas em todos os parâmetros avaliados, inclusive do sistema radicular;

Os cultivares de arroz respondem diferencialmente à inoculação com BPCP, sendo que o cultivar BRS Aimoré apresenta maior interação com as estirpes bacterianas, com diferença significativa em relação ao crescimento da parte aérea;

A estirpe P21 de *Pseudomonas* spp. apresenta capacidade de produção de ácido indol acético, fixação biológica de nitrogênio, atividades de protease, catalase e urease e, entre as estirpes avaliadas, apresenta maior capacidade de interagir com diferentes genótipos de arroz, tendo proporcionado diferença significativa para o controle em parâmetros relacionados à parte aérea e ao sistema radicular.

ABSTRACT: Aiming to evaluate the effect of the inoculation of six strains of plant growth-promoting bacteria (PGPBs) *Burkholderia* spp. (B7 and B16), *Pseudomonas* spp. (P18 and P21) and *Rhizobium* spp. (R65 and R82) and two mixtures containing one strain of each genera on the growth of six rice cultivars (BRS Bonança, BRS Aimoré, BRS Talento, BRSMG Curinga, Japonês and Bolinha). Physiological characteristics of the bacteria were determined on *in vitro* assays. Rice cultivars were inoculated with PGPB under greenhouse conditions and cultivated on 1 kg pots filled with soil on a randomized block design with four replicates. At 60 days after emergence growth parameters related with the shoot and root were evaluated for rice cultivars. Among the evaluated bacteria only two (B7 and R65) were not able to produce auxin under *in vitro* conditions. All strains showed catalase activity and film formation in semisolid medium NFb without N or nodulation in common bean, indicating the ability of biological nitrogen fixation. Inoculation of PGPBs in rice provided increases of 10% as compared to the control regarding leaf area and dry mass of shoots and 9% for length and root dry weight. Among the cultivars BRS Aimoré showed greater interaction with the strains studied and the strain P21 of

Pseudomonas spp. promoted significant difference compared to the control for the parameters related with the shoot and root system.

KEYWORDS: *Burkholderia*. *Pseudomonas*. *Rhizobium*. Inoculation.

REFERÊNCIAS

- ASLANTAS, R.; ÇAKMAKÇI, R.; SAHIN, F. Effect of plant growth promoting rhizobacteria on young apple tree growth and fruit yield under orchard conditions. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 111, n. 4, p. 371-377, 2007
- BABALOLA, O. O. Beneficial bacteria of agricultural importance. **Biotechnology Letters**, Dordrecht, v. 32, n. 11, p. 1559-1570, 2010.
- BHATTACHARYYA, P. N.; JHA, D. K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. **World Journal Microbiology Biotechnology**, Dordrecht, v. 28, n. 4, p. 1327–1350, 2012
- CHAKRABORTY, U.; CHAKRABORTY, B. N.; BASNET, M.; CHAKRABORTY, A. P. Evaluation of *Ochrobactrum anthropi* TRS-2 and its talc based formulation for enhancement of growth of tea plants and management of brown root rot disease. **Journal of Applied Microbiology**, Malden, v. 107, n. 2, p. 625-634, 2009.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos, nono levantamento, junho 2011**. Brasília: Conab, 2011, 47p.
- CUONG, N. D.; NICOLAISEN, M. H.; SORENSEN, J.; OLSSON, S. Hyphae-colonizing *Burkholderia* sp. - A new source of biological control agents against sheath blight disease (*Rhizoctonia solani* AG1-IA) in rice. **Microbiology Ecology**, New York, v. 62, n. 2, p. 425 – 434, 2011.
- DEY, R.; PAL, K. K.; BHATT, D. M.; CHAUHAN, S. M. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. **Micobiological Research**, Jena, v. 159, n. 4, p. 371-394, 2004.
- DÖBEREINER, J.; ANDRADE, V. O.; BALDANI, V. L. D. **Protocolos para Preparo de Meios de Cultura da Embrapa Agrobiologia**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, dez. 1999. 38p. (Embrapa-CNPAB. Documentos, 110).
- FAGUERIA, N. K.; CARVALHO, G. D.; SANTOS, A. B.; FERREIRA, E. P. B.; KNUPP, A. M. Chemistry of lowland rice soils and nutrient availability. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, Philadelphia, v. 42, n. 16; p. 1913–1933, 2011.
- FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations - **Faostat**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>> Acesso em: 04 de agosto de 2011.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, A.; HEYDRICH-PÉREZ, M.; DIALLO, B.; EL JAZIRI, M.; VANDEPUTTE, O. M. Cell-free culture medium of *Burkholderia cepacia* improves seed germination and seedling growth in maize (*Zea mays*) and rice (*Oryza sativa*). **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 60, n. 3, p. 191-197, 2010.
- ISAWA, T.; YASUDA, M.; AWASAKI, H.; MINAMISAWA, K.; SHINOZAKI, S.; NAKASHITA, H. *Azospirillum* sp. strain B510 enhances rice growth and yield. **Microbes and Environments**, Ibaraki, v. 25, n. 1, p. 58-61, 2010.

- JHA, B.; THAKUR, M. C.; GONTIA, I.; ALBRECHT, V.; STOFFELS, M.; SCHMID, M.; HARTMANN, A. Isolation, partial identification and application of diazotrophic rhizobacteria from traditional Indian rice cultivars. **European Journal of Soil Biology**, Paris, v. 45, n. 1, p. 62-72, 2009.
- KAZEMPOUR, M. N. Biological control of *Rhizoctonia solani*, the causal agent of rice sheath blight by antagonistic bacteria in greenhouse and field conditions. **Plant Pathology Journal**, New York, v. 3, n. 2, p. 88-96, 2004.
- KING, E. O.; WARD, M. K.; RANEY, D. E. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, Saint Louis, v. 44, n. 2, p.301-307, 1954.
- KOCHAR, M.; UPADHYAY, A.; SRIVASTAVA, S. Indole-3-acetic acid biosynthesis in the biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* Psd and plant growth regulation by hormone overexpression. **Research in Microbiology**, Amsterdam, v. 162, n. 4, p. 426-435, 2011.
- MARCHIORO, L. E. T. **Produção de ácido indol acético e derivados por bactérias fixadoras de nitrogênio**. Dissertação (Mestrado Biologia), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005, 75p.
- MEHNAZ, S.; LAZAROVITS, G. Inoculation Effects of *Pseudomonas putida*, *Gluconacetobacter azotocaptans*, and *Azospirillum lipoferum* on corn plant growth under greenhouse conditions. **Microbial Ecology**, New York, v. 51, n. 3, p. 326-335, 2006.
- NAGANANDINI, S.; BALACHANDAR, D.; KUMAR, K. Diversity analysis of *Pseudomonas* in rice rhizosphere for multifaceted plant growth promotion. **Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica**, Budapest, v. 58, n. 4, p. 247-258, 2011.
- NAHAS, E.; CENTURION, J. F.; ASSIS, L. C. Microrganismos solubilizadores de fosfato e produtores de fosfatases de vários solos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.18, n. 1, p. 43-48, 1994.
- OLIVEIRA, A. L. M.; URQUIAGA, S.; DÖBEREINER, J.; BALDANI, J. I. The effect of inoculating endophytic N₂-fixing bacteria on micropropagated sugarcane plants. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 242, n. 2, p. 205-215, 2002.
- PATTEN, C. L.; GLICK, B. R. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 42, n. 3, p. 207-220, 1996.
- PATTEN, C. L.; GLICK, B. R. Role of *Pseudomonas putida* indole-acetic acid in development of the host plant root system. **Applied Environmental Microbiology**, Hamilton, v. 68, n. 8, p. 3795-3801, 2002.
- ROHLF, F. J. NTSYS: numerical taxonomy and multivariate analysis system. New York: Exter Publishers, 1989.
- ROYSE, D. J.; RIES, S. M. Influence of fungi isolated from peach twigs on the pathogenicity of *Cytospora cincta*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 68, n. 4, p. 603-607, 1978.
- SHAHAROONA, B.; JAMRO, G. M.; ZAHIR, Z. A.; ARSHAD, M.; MEMON, K. S. Effectiveness of various *Pseudomonas* spp. and *Burkholderia caryophylli* containing ACC-deaminase for improving growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.). **Journal of Microbiology and Biotechnology**, Seoul, v. 17, n. 8, p. 1300-1307, 2007.
- SCHAAD, N. W.; JONES, J. B.; CHUN, W. **Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria**. 3^a ed., APS: St. Paul, 2001. 373p.

- SINGH, M. K.; KUSHWAHA, C.; SINGH, R. K. Studies on endophytic colonization ability of two upland rice endophytes, *Rhizobium* sp. and *Burkholderia* sp., using green fluorescent protein reporter. **Current Microbiology**, New York, v. 59, n. 3, p. 240-243, 2009.
- SINGH, M. K.; SINGH, D. P.; MESAPOGU, S.; BABU, B. K.; BONTEMPS, C. Concomitant colonization of *nifH* positive endophytic *Burkholderia* sp. In rice (*Oryza sativa* L.) promotes plant growth. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, New York, v. 27, n. 9, p. 2023 – 2031, 2011.
- SPAEPEN, S.; VANDERLEYDEN, J.; REMANS, R. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. **FEMS Microbiology Reviews**, Malden, v. 31, n. 4, p. 425-448, 2007.
- STAMFORD, T. L. M.; ARAÚJO, J. M.; STAMFORD, N. P. Atividade enzimática de microrganismos isolados do jacatupé (*Pachyrhizus erosus* L. Urban). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 4, p. 382-385, 1998.
- VIDEIRA, S. S.; OLIVEIRA, D. M.; MORAIS, R. F.; BORGES, W. L.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. Genetic diversity and plant growth promoting traits of diazotrophic bacteria isolated from two *Pennisetum purpureum* Schum. genotypes grown in the field. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 356, n. 1-2, p. 51-66, 2012.
- YAO, L.; WU, Z.; ZHENG, Y.; KALEEM, I.; LI, C. Growth promotion and protection against salt stress by *Pseudomonas putida* Rs-198 on cotton. **European Journal of Soil Biology**, Paris, v. 46, n. 1, p. 49-54, 2010.
- WANG, E. T.; MARTINEZ-ROMERO, E. *Sesbania herbacea* – *Rhizobium huautlense* nodulation in flooded soils and comparative characterization of *S. herbacea* nodulating rhizobia in different environments. **Microbial Ecology**, New York, v. 41, n. 1, p. 25–32, 2000.
- YANO, D. M. Y.; ATTILI, D. S.; GATTI, M. S. V.; EGUCHI, S. Y.; OLIVEIRA, U. M. Técnicas de microbiologia em controle de qualidade. Campinas: **Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia “André Tosello”**, 1991.