

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
CAMPUS ITAQUI
CURSO DE GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**BACTÉRIA FIXADORA DE NITROGÊNIO
E PRODUTIVIDADE DE ARROZ
IRRIGADO POR INUNDAÇÃO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Evandro Ademir Deak

**Itaqui, RS, Brasil
2013**

EVANDRO ADEMIR DEAK

**BACTÉRIA FIXADORA DE NITROGÊNIO
E PRODUTIVIDADE DE ARROZ
IRRIGADO POR INUNDAÇÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Agronomia da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), como requisito parcial para obtenção do grau de **Engenheiro Agrônomo**.

Orientador: Amauri Nelson Beutler

Itaqui, RS, Brasil
2013

Deak, Evandro Ademir.
Bactéria fixadora de nitrogênio e produtividade de arroz irrigado por inundação. Evandro Ademir Deak. 2013. 28 pg.

Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Agronomia)
Universidade Federal do Pampa, 27/08/2013. Orientação:
Amauri Nelson Beutler.

1. *Azospirillum brasilense*. 2. Produção de grãos. 3. *Oryza sativa*. I. Beutler, Amauri Nelson. II. Bactéria fixadora de nitrogênio e produtividade de arroz irrigado por inundação.

EVANDRO ADEMIR DEAK

**BACTÉRIA FIXADORA DE NITROGÊNIO
E PRODUTIVIDADE DE ARROZ
IRRIGADO POR INUNDAÇÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Agronomia da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), como requisito parcial para obtenção do grau de **Engenheiro Agrônomo**.

Trabalho de conclusão de curso defendido e aprovado em: 27 de agosto de 2013.
Banca examinadora:

Prof. Dr. Amauri Nelson Beutler
Orientador
Curso de Agronomia - UNIPAMPA

Prof. Dra. Vanessa Neumann Silva
Curso de Agronomia – UNIPAMPA

Prof. Dr. Guilherme Ribeiro
Curso de Agronomia – UNIPAMPA

DEDICATÓRIA

Ao meu pai Fredolino Deak (in memorian) que sempre esteve ao meu lado, a minha mãe Elaine Ladi Deak que possibilitou a realização deste sonho, ao meu irmão Ivanir André Deak e a minha namorada Carla Fernanda Lorentz pelo incentivo na minha formação profissional.

Dedico a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste curso.

AGRADECIMENTO

Ao Prof. Dr. Amauri Nelson Beutler pela orientação e pelo apoio durante grande parte do curso.

Aos demais professores, minha gratidão a todos que estão contribuindo na minha formação profissional.

A Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA, pela oportunidade de realização deste curso.

A todos os colegas do curso pelo convívio e pelos momentos de amizade.

Aos colegas do grupo de pesquisa Giovane Matias Burg e Marcelo Raul Schmith.

Ao CNPQ e FAPERGS pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa.

A todas as pessoas que, direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

BACTÉRIA FIXADORA DE NITROGÊNIO E PRODUTIVIDADE DE ARROZ IRRIGADO POR INUNDAÇÃO

Autor: Evandro Ademir Deak

Orientador: Amauri Nelson Beutler

Local e data: Itaquí, 27 de agosto de 2013.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da bactéria fixadora de nitrogênio *Azospirillum brasilense* na produtividade de cultivares de arroz irrigado por inundação. O experimento foi conduzido em viveiro agrícola revestido com sombrite, em Plintossolo Háplico. Utilizaram-se as cultivares de arroz irrigado por inundação INIA Olimar, Puitá Inta-CL, Br Irga 409 e Irga 424, constituindo quatro experimentos em delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5 x 4, com quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos por cinco doses de nitrogênio (0, 40, 80, 120 e 160 kg ha⁻¹ de N), e quatro doses de inoculante líquido composto por bactérias *Azospirillum brasilense* cepas Ab-V5 e Ab-V6 (0, 1, 2 e 4 vezes a recomendação de 100 mL ha⁻¹). No segundo conjunto de experimentos, com as cultivares Puitá Inta-CL e Br Irga 409, utilizou-se o esquema fatorial 4 x 2, quatro doses de *A. brasilense* cepas Ab-V5 e Ab-V6 (0, 1, 2 e 4 vezes a recomendação) e sem e com tratamento das sementes do arroz com inseticidas e fungicidas. Foram avaliados a massa seca da parte aérea, número de panículas e produtividade de grãos de arroz vaso⁻¹. A inoculação das sementes de arroz irrigado por inundação, cultivares INIA Olimar, Puitá Inta-CL, Br Irga 409 e Irga 424, com *A. brasilense* cepas Ab-V5 e Ab-V6 não aumentou a produtividade de grãos de arroz. A aplicação de N aumentou a produtividade de grãos das quatro cultivares de arroz até a dose de 160 kg ha⁻¹.

Palavras-chave: *Azospirillum brasilense*, rendimento de grãos, *Oryza sativa*.

ABSTRACT

BACTERIA FIXATIVE OF NITROGEN AND FLOODED IRRIGATED RICE YIELD

Author: Evandro Ademir Deak

Advisor: Amauri Nelson Beutler

Data: Itaqui, August 27, 2013.

The objective of this work was evaluate the effect of bacteria fixative of nitrogen *Azospirillum brasilense* in flooded irrigated rice yield. The experiment was performed in an agricultural nursery covered with screen, in an Alfisol. They were used flooded irrigated rice cultivars INIA Olimar, Puitá Inta-CL, Br Irga 409 e Irga 424, establish 4 experiments in delineament completely randomized, in factorial scheme 5 x 4, with 4 replications. The treatments were 5 rates of nitrogen (0, 40, 80, 120 e 160 kg ha⁻¹ de N), and 4 rates of liquid inoculant with bacteria *Azospirillum brasilense* strains Ab-V5 and Ab-V6 (0, 1, 2 and 4 times to recommendation). In second set of experiments, with rice cultivars Puitá Inta-CL e Br Irga 409, it was used a factorial scheme 4 x 2. Four rates of *A. brasilense* strains Ab-V5 and Ab-V6 (0, 1, 2 and 4 times to recommendation of 100 mL ha⁻¹) and whit and without rice seed treatment with insecticide and fungicide. It was evaluated dry mass of aerial part, number of panicles and rice grain yield pot⁻¹. The flooded irrigated rice seed inoculation, cultivars INIA Olimar, Puitá Inta-CL, Br Irga 409 e Irga 424, with *A. brasilense* did not increase rice grains yield. The nitrogen application increased the grains yield of four flooded irrigated rice cultivars up to the level of 160 kg ha⁻¹.

Keywords: *Azospirillum brasilense*, grain yield, *Oryza sativa*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Massa seca da parte aérea, número de panículas e produtividade de grãos de arroz irrigado por inundação, cultivares INIA Olimar, Puitá Inta-CL, Br Irga 409 e Irga 424, em função da dose de N (A) e da dose de *A. brasilense* (B).....16

Figura 2: Massa seca da parte aérea, número de panículas e produtividade de grãos de arroz irrigado por inundação, cultivares Puitá Inta-CL e Br Irga 409, em função da dose de *A. brasilense*, na ausência de nitrogênio mineral.....21

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Quadro de análise de variância para a produtividade de grãos vaso^{-1} de arroz irrigado cultivares Olimar, Puitá Inta-CL, Br Irga 409 e Irga 424, em quatro experimentos inteiramente casualizados em esquema fatorial 5 x 4 (5 doses de nitrogênio x 4 doses de bactéria).....15

Tabela 2: Quadro de análise de variância para a produtividade de grãos vaso^{-1} de arroz irrigado cultivares Puitá Inta-CL e Br Irga 409, considerando dois experimentos inteiramente casualizados em esquema fatorial 4 x 2 (4 doses de bactéria e sem e com tratamento de sementes com inseticidas e fungicidas).....19

Tabela 3: Eficiência da bactéria *Azospirillum brasilense* na produção de massa seca, número de panículas e produtividade de grãos vaso^{-1} nas cultivares Puitá Inta-CL e Br Irga 409, sem aplicação de nitrogênio, e sem e com tratamento de sementes com inseticidas e fungicidas.....20

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	13
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	15
4 CONCLUSÃO.....	22
5 REFERÊNCIAS.....	23
6 APÊNDICE	28

1 INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa*) é o segundo cereal mais cultivado no mundo e é um dos cereais mais consumidos e importantes na alimentação humana, com papel estratégico em relação à segurança alimentar. No Brasil, o Estado do Rio Grande do Sul (RS) produz 61% dos grãos de arroz, sendo este cultivado no sistema irrigado por inundação, o qual apresenta elevada produtividade comparada ao arroz de sequeiro (Sosbai, 2012). No RS, a região da Fronteira Oeste, com destaque para os municípios de Uruguaiana e Itaqui, sendo os maiores produtores nacionais deste grão e responsáveis pelas maiores produtividades de arroz no estado, evidenciando o potencial dessa região. As produtividades médias do arroz irrigado nos Estados do RS e Santa Catarina (SC) são de 7.439 kg ha⁻¹ (Sosbai, 2012), porém produtividades superiores a 11.000 kg ha⁻¹ são obtidas quando são utilizadas tecnologias preconizadas para a cultura na Fronteira Oeste do RS (Munareto et al., 2010).

Para aumentar a produtividade de arroz, novas cultivares são anualmente desenvolvidas, porém, requerem grandes quantidades de fertilizantes nitrogenados, que contribuem para a contaminação do solo e mananciais de água por nitratos. Ainda, os adubos nitrogenados apresentam alto custo, visto que a fixação industrial do nitrogênio (N) tem alto consumo energético, que por meio do processo de Haber-Bosch, que utiliza temperaturas em torno de 200 °C e pressões de 200 atm (Taiz e Zeiger, 2013).

O N, embora presente na atmosfera em aproximadamente 78% da constituição gasosa é encontrado na forma molecular (N₂), não absorvível pelas plantas, devido à tripla ligação que existe entre os dois átomos do N₂, que é uma das mais fortes de que se tem conhecimento na natureza (Reis et al., 2006). A maioria das plantas absorve o nitrogênio (N) do solo sob a forma de íon nitrato (NO₃⁻) e/ou amônio (NH₄⁺).

Por essa razão, para que o N₂ possa ser convertido a uma forma assimilável é necessária à fixação industrial ou a fixação biológica de nitrogênio (FBN) por meio de bactérias, que realizam o processo de forma mais econômica, por meio da ação da enzima dinitrogenase, que é capaz de romper a tripla ligação do N₂ e reduzi-lo a amônia, que é a forma obtida no processo industrial (Hungria et al., 2007).

A FBN pode ser vista como um processo de adição de N no solo a baixos custos. Estima-se que a FBN contribui com uma produção mundial de 174×10^6 t/ano, sendo 4,4 vezes maior em relação ao processo industrial que é responsável por 40×10^6 t/ano (Floss, 2011).

Na FBN, as bactérias, também denominadas como diazotróficas ou fixadoras de N_2 , se associam a diversas espécies de plantas em diferentes graus de especificidade, levando à sua classificação como bactérias associativas, endofíticas ou simbióticas (Hungria et al., 2007).

A maior contribuição do processo de FBN ocorre pela associação simbiótica de plantas leguminosas com bactérias pertencentes a diversos gêneros e que são denominadas de rizóbios. A evolução resultou em taxas elevadas de fixação de N por bactérias, que no caso da soja (*Glycine max*), no Brasil, atinge taxas superiores a $300 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ de N, conseguindo suprir as necessidades dessa planta em N (Hungria et al., 2007). Por isso, o inoculante contendo bactérias mais comercializado e facilmente encontrado no país é hoje para a cultura da soja.

Em gramíneas, a FBN da atmosfera por bactérias supre parcialmente a demanda das plantas e, são realizadas por gêneros como *Herbaspirillum*, *Burkholderia* e *Azospirillum*, que têm sido isoladas de plantas como arroz, trigo, milho e sorgo (Hungria, 2011). Em gramíneas, as bactérias têm diferentes mecanismos de fixação, e na grande maioria são de vida livre (Okon e Labandera-Gonzales, 1994) e, tem especificidade entre espécie da bactéria e da planta, além de serem fortemente afetadas pelo ambiente (disponibilidade de nitrogênio, oxigênio e outros microrganismos). Entre as bactérias estudadas destaca-se a *Azospirillum brasilense*, pelos resultados positivos alcançados com sua associação com gramíneas, tais como o milho e trigo (Hungria et al., 2010; Mendes et al., 2011; Novakowski et al., 2011; Piccinin et al., 2013).

Os resultados de inoculação destas bactérias ainda não são muito consistentes, embora, efeitos significativos na produção de grãos tenham sido relatados (Hungria et al., 2010; Hungria, 2011; Mendes et al., 2011). Para o caso do milho e trigo, foram observados aumentos substanciais da produtividade com a utilização de estirpes da bactéria *A. brasilense* (Hungria et al., 2010), cujo inoculante, com estirpes da bactéria, na formulação comercial, já está registrado no ministério da agricultura e disponível no mercado para milho, trigo e arroz. Porém, para obterem-se resultados benéficos torna-se necessária a seleção de estirpes de

bactérias que tenham especificidade com a espécie/cultivar de planta, visto que algumas estirpes têm pouca afinidade e sua inoculação não resulta em benefícios para arroz (Pedraza et al., 2009), trigo e milho (Hungria et al., 2010).

A espécie *A. brasilense* é considerada como bactéria promotora de crescimento das plantas (BPCP) devido à capacidade de colonizar a superfície das raízes, rizosfera, filosfera e tecidos internos das plantas (Kloepper et al., 1989). As BPCP podem estimular o crescimento das plantas por diversas maneiras, sendo as mais relevantes: fixação biológica de nitrogênio (Roesch et al., 2007); aumento na atividade da redutase do nitrato quando crescem endofiticamente nas plantas (Cassán et al., 2008); produção de hormônios como auxinas e citocininas (Perrig et al., 2007) e solubilização de fosfatos (Moreira e Siqueira, 2002).

As bactérias do gênero *Azospirillum* são de ampla ocorrência e podem ser encontradas em densidades populacionais variadas dependendo da sua interação com a cultivar e o ambiente. Em ambientes alagados, como no caso do arroz irrigado, existe um ambiente favorável para bactérias microaerofílicas como as do gênero *Azospirillum*, as quais contribuem para a melhor nutrição e desenvolvimento da cultura (Souza et al., 2000). Estas bactérias ocorrem em regiões produtoras de arroz irrigado e colonizam endofiticamente tanto raízes quanto colmos (Silva et al., 2004; Cardoso et al., 2010). Isto, em virtude de que nesta associação não ocorre a formação de uma estrutura especializada para a fixação do nitrogênio (nódulos) e as bactérias podem invadir ou não o tecido da planta por meio de fissuras provocadas pela emissão de raízes laterais, injúrias mecânicas e por estômatos, sendo distribuídas na planta pelos vasos condutores (Reis et al., 2006).

Silva et al. (2004) verificaram que as bactérias diazotróficas colonizam o solo e as raízes das plantas de arroz irrigado, sendo a população geralmente maior na superfície radicular (rizoplano) em relação ao solo e interior das raízes (endorizosfera) e, que a cultivar de arroz irrigado influenciou a população de bactérias diazotróficas. Além disso, a adubação nitrogenada reduziu a população de bactérias diazotróficas associadas ao interior das raízes de arroz irrigado, e o efeito também variou entre as cultivares de arroz.

Os resultados de experimentos com inoculação de bactérias do gênero *Azospirillum* indicam respostas diferenciadas para as culturas como o trigo, arroz, milho e sorgo, onde a média de incremento na produção de grãos está entre 10 a 30% (Baldani et al., 1999; Ferreira et al., 2003; Hungria et al., 2010). Para arroz de

terras altas, a bactéria *Herbaspirillum seropediceare* aumentou a produção de grãos em até 50% (Guimarães et al., 2003). Entretanto, são escassos os estudos da utilização de bactérias do gênero *A. brasilense* para arroz irrigado por inundação, em razão da seleção recente de estirpes específicas à cultura e a disponibilidade recente do inoculante comercial para a cultura do arroz.

Em busca do aumento da produtividade conciliado com a redução dos custos de produção, é de grande interesse os estudos realizados em relação à eficiência de bactérias do gênero *Azospirillum* em associação com gramíneas, visto que esta tecnologia já está disponível no mercado brasileiro e, pode contribuir com a redução da aplicação de N a estas plantas (Floss, 2011). Esta tecnologia permite a associação das bactérias por meio da inoculação de sementes.

Na Fronteira Oeste do RS, já foram utilizadas na safra 2011/2012 bactérias inoculadas nas sementes de arroz irrigado, porém, sua interação com os fertilizantes nitrogenados, cultivares de arroz, sistemas de manejo e seu benefício no aumento de produtividade ainda é pouco conhecido e documentado.

Em relação as cultivares de arroz irrigado, têm-se várias disponíveis para as diversas condições de clima e manejo no RS e SC (Sosbai, 2012). No entanto, algumas cultivares são mais utilizadas na Fronteira Oeste do RS, em razão de algumas características desejáveis das mesmas, entre estas, destacam-se: 1) Br-Irga 409: cultivar de ciclo médio, com excelente qualidade do grão para indústria e alta produtividade; 2) Irga 424: cultivar de ciclo médio, é indicada às regiões onde é comum a ocorrência de temperaturas baixas durante as fases de desenvolvimento e floração do grão, como ocorre nas regiões da campanha e sudeste do RS e, possui alto potencial produtivo, chegando a 14.000 kg ha⁻¹; 3) Puita Inta CL: é uma cultivar criada para facilitar o controle químico do arroz-vermelho, um dos maiores problemas de lavouras orizícolas do RS, e, é indicado para a semeadura em todas as regiões do RS, com alto rendimento industrial, e produtividade de até 12.000 kg ha⁻¹; 4) INIA Olimar: é uma cultivar de ciclo médio, importada do Uruguai, resistente a baixas temperaturas, e apresenta excelente qualidade industrial.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da bactéria fixadora de nitrogênio *Azospirillum brasilense* na produtividade de cultivares de arroz irrigado por inundação.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em viveiro agrícola revestido com sombrite, na safra 2012/13, nas coordenadas geográficas 29° 12' 28" Sul e 56° 18' 28" Oeste e 64 m de altitude em um Plintossolo Háplico (Embrapa, 2013). O solo foi coletado na camada de 0 - 20 cm e passado em peneira de 4 mm, cujas características químicas foram: pH H₂O= 5,1; P= 12,6 mg dm⁻³; K= 0,153 cmol_c dm⁻³; Ca= 2,7 cmol_c dm⁻³; Mg= 0,7 cmol_c dm⁻³; Al= 0,6 cmol_c dm⁻³; V= 50%; MO= 1,6%. Realizou-se a calagem do solo três meses antes da semeadura, conforme recomendação (Sosbai, 2012).

Utilizaram-se as cultivares de arroz irrigado por inundação INIA Olimar, Puitá Inta-CL, Br Irga 409 e Irga 424, constituindo quatro experimentos em delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5 x 4, com quatro repetições constituídas de vasos de 7,5 L (6 L solo vaso⁻¹). Os tratamentos foram constituídos por cinco doses de nitrogênio (0, 40, 80, 120 e 160 kg ha⁻¹ de N), e quatro doses de inoculante líquido composto por bactérias *Azospirillum brasilense* cepas Ab-V5 e Ab-V6 (0, 1, 2 e 4 vezes a recomendação do produto comercial Masterfix[®] gramíneas), sem tratamento das sementes com inseticidas e fungicidas. A recomendação de N é de 120 kg ha⁻¹ (Sosbai, 2012), e de inoculante com bactéria é de 100 mL ha⁻¹, contendo a concentração de 2 x 10⁸ unidades formadoras de colônia mL⁻¹.

No segundo conjunto de experimentos, utilizaram-se as cultivares de arroz irrigado por inundação Puitá Inta-CL e Br Irga 409, em delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 2, com quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos de quatro doses de bactérias *A. brasilense* cepas Ab-V5 e Ab-V6 (0, 1, 2 e 4 vezes a recomendação) sem e com tratamento das sementes do arroz com inseticidas e fungicidas. No tratamento de sementes do arroz, este foi realizado com os inseticidas e fungicidas: Fipronil (Standak[®] 80 mL 100 kg⁻¹ de semente), imidaclopride (Gaucho[®] 67 mL 100 kg⁻¹ de semente) e Carboxina + Thiran (Vitavax Thiram 200 SC[®] 200 mL 100 kg⁻¹ de semente).

Na semeadura foi realizada a adubação com N (10 kg ha⁻¹), nos tratamentos com N; adubação com 350 kg ha⁻¹ de fósforo (P) na forma de superfosfato triplo; e, 300 kg ha⁻¹ de potássio (K) na forma de cloreto de potássio. A adubação com P e K

foi de cinco vezes a recomendação de campo, e o adubo foi triturado em moinho tipo willey e homogeneizado em todo solo do vaso.

Dia 17/10/2012, as sementes foram inoculadas com *A. brasilense* e foi realizada a semeadura de seis sementes por vaso, na profundidade de 3 cm e, aos 14 dias foi realizado o desbaste, deixando duas plantas eqüidistantes por vaso. Aos 20 dias após a semeadura, no estágio V₃/V₄, foi aplicado 50% do restante do N, em cobertura, e no dia seguinte foi aplicada uma lâmina de água de 4 cm, mantida constante até a colheita do arroz. Aos 40 dias após a semeadura, no estágio de diferenciação da panícula (R₀), foram aplicados os outros 50% de N, na forma de uréia. Durante o cultivo do arroz foram realizados dois rodízios semanais dos vasos.

A colheita foi realizada em 02/2013 e foram avaliadas a massa seca da parte aérea, número de panículas e produtividade de grãos de arroz vaso⁻¹.

Os resultados foram submetidos à análise de variância utilizando o teste F e, quando significativo foram ajustadas equações de regressão.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As cultivares de arroz irrigado INIA Olimar, Puitá Inta-CL, Br Irga 409 e Irga 424 apresentaram resultados semelhantes em relação a massa seca da parte aérea, número de panículas e produtividade de grãos de arroz em resposta a dose de N e de bactéria *A. brasilense* cepas Ab-V5 e Ab-V6 (Tabela 1 e Figura 1).

Tabela 1. Quadro de análise de variância para a produtividade de grãos vaso⁻¹ de arroz irrigado cultivar Olimar, Puitá Inta-CL, Br Irga 409 e Irga 424, em quatro experimentos inteiramente casualizados em esquema fatorial 5 x 4 (5 doses de nitrogênio x 4 doses de bactéria).

Causas de variação	Grau de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F
Olimar				
Fator A (nitrogênio)	4	111970,85	279992,71	856,44 **
Fator B (bactéria)	3	31,11	10,37	0,32 ^{ns}
Fator A x B	12	309,88	25,82	0,79 ^{ns}
Puitá Inta-CL				
Fator A (nitrogênio)	4	25622,87	6405,72	140,26 **
Fator B (bactéria)	3	220,44	73,48	1,61 ^{ns}
Fator A x B	12	420,12	35,01	0,77 ^{ns}
Br Irga 409				
Fator A (nitrogênio)	4	117152,60	29288,15	423,06 **
Fator B (bactéria)	3	82,25	27,42	0,40 ^{ns}
Fator A x B	12	349,40	29,12	0,42 ^{ns}
Irga 424				
Fator A (nitrogênio)	4	146076,82	36519,20	386,44 **
Fator B (bactéria)	3	262,26	87,42	0,92 ^{ns}
Fator A x B	12	967,63	80,64	0,85 ^{ns}

** Significativo a 1% e, ^{ns} não significativo.

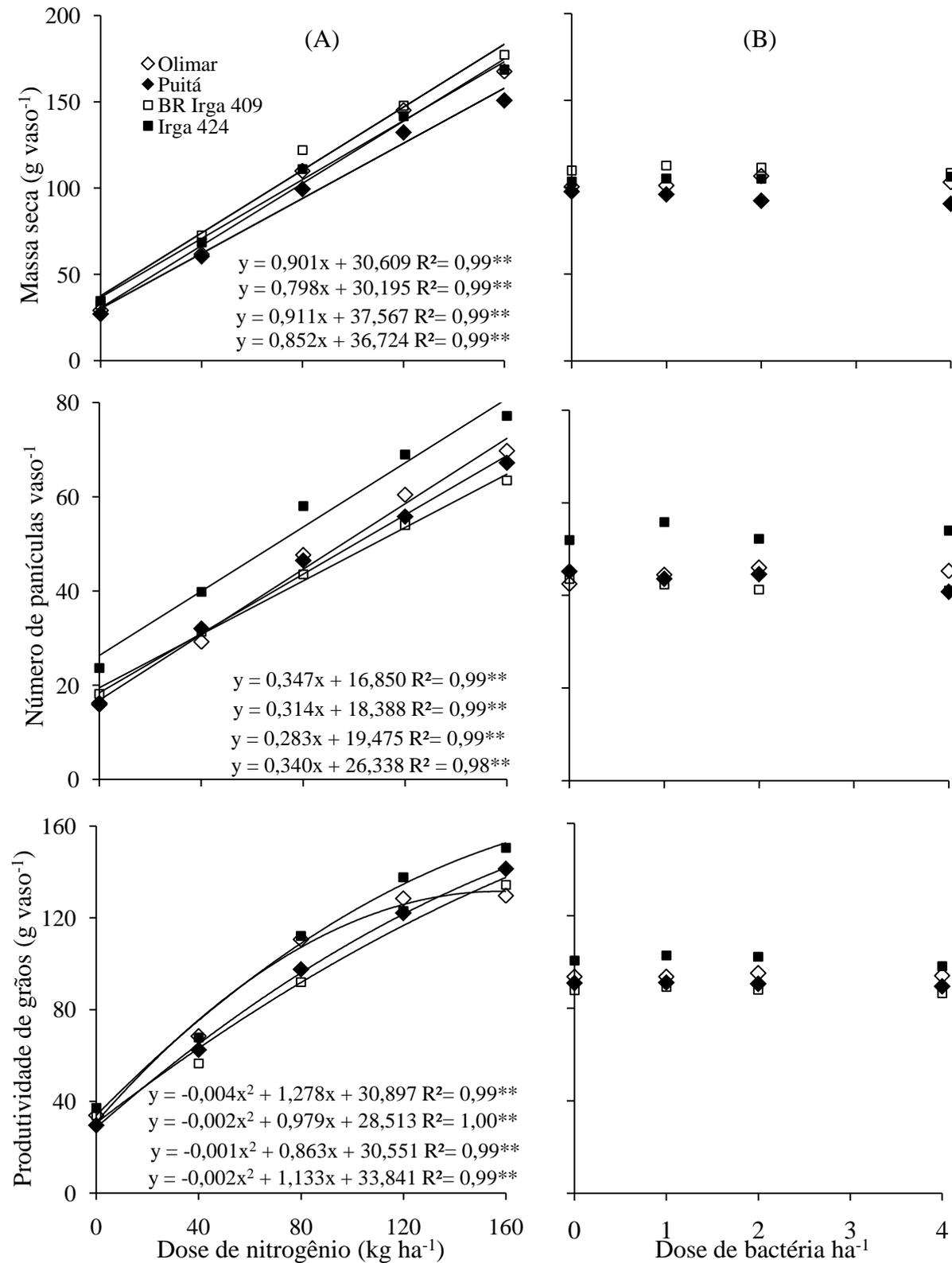


Figura 1. Massa seca da parte aérea, número de panículas e produtividade de grãos de arroz irrigado por inundação, cultivar Olimar, Puitá Inta-CL, Br Irga 409 e Irga 424, em função da dose de N (A) e da dose de *A. brasilense* (B).

** Significativo a 1%.

Nas quatro cultivares de arroz a produção de massa seca da parte aérea, número de panículas e a produtividade de grãos de arroz aumentaram até a dose de 160 kg ha⁻¹ de N, cuja produtividade de grãos foi representada por um ajuste quadrático crescente, nas quatro cultivares avaliadas (Figura 1A). Isto ocorreu em razão do solo ter baixo teor de matéria orgânica (MO) (1,6%) e ter recebido uma adubação adequada de P e K, permitindo ao arroz expressar seu potencial produtivo em resposta à aplicação de N. Estes resultados estão de acordo com os obtidos por Genro Jr. et al. (2010), que verificaram que o arroz responde à doses superiores a 120 kg ha⁻¹ de N, que é a dose recomendada para a cultura e indicada para solos com esse teor de MO (Sosbai, 2012). Segundo Genro Jr. et al. (2010), em cultivos de arroz irrigado por inundação, no sistema de semeadura em solo seco, com alto nível tecnológico e adequadas condições edafoclimáticas, com altas doses de P e K, a produtividade máxima é obtida em doses de até 150 kg ha⁻¹ de N, semelhante ao verificado no presente estudo. Incrementos na produtividade de arroz pela aplicação de N também foram verificados por Barreto et al. (2012), em cultivares de arroz de sequeiro, em decorrência da melhor nutrição e crescimento das plantas.

As quatro cultivares de arroz não aumentaram a produção da massa seca da parte aérea, número de panículas e produtividade de grãos em resposta à aplicação de até quatro vezes a dose de *A. brasilense* recomendada para arroz. Além disso, não houve interação da dose de N de 0 a 160 kg ha⁻¹ com a dose de bactéria *A. brasilense* cepas Ab-V5 e Ab-V6 (Tabela 1 e Figura 1B).

A ausência de resposta das cultivares de arroz irrigado por inundação a inoculação com *A. brasilense* cepas Ab-V5 e Ab-V6, possivelmente está relacionada à afinidade das cepas com as cultivares de arroz irrigado, visto que o produto tem registro no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para arroz, trigo e milho. Em arroz de terras altas, inoculado com *A. brasilense* cepas Ab-V5 e Ab-V6, na cultivar BRS Primavera também não ocorreu aumento da produtividade de grãos (Moura, 2010). Por outro lado, a inoculação das sementes de arroz de terras altas com bactéria *A. brasilense* Sp 245 promoveu melhor crescimento radicular e da parte aérea de plântulas de arroz na maioria das linhagens, entretanto, algumas não apresentaram resposta (Embrapa, 2003). Ainda, para arroz de terras altas, verificou-se que a bactéria *Herbaspirillum seropediceare* aumentou a produtividade de grãos em até 50%, dependendo da estirpe (Guimarães et al., 2003).

Resultados semelhantes aos encontrados nesse estudo foram observados com a inoculação de *A. brasilense* (Graminante[®]) recomendado para milho, em que não houve acréscimo no rendimento de grãos, atribuído à especificidade da bactéria ao híbrido de milho avaliado (Campos et al., 2000).

Segundo Roesch et al. (2007), a interação de bactérias diazotróficas e milho e a fixação de nitrogênio ou promoção do crescimento dependem de muitos fatores bióticos e ambientais, tais como cultivar da planta, comunidade microbiológica do solo e disponibilidade de N. Neste contexto, o presente estudo foi realizado com baixas até altas doses de N no solo, e nenhum resultado positivo foi obtido pela inoculação de *A. brasilense*, sugerindo que outro fator, exceto o N, foi responsável pela falta de resposta da bactéria no crescimento e produtividade de arroz, como por exemplo, a falta de afinidade entre as cultivares de arroz irrigado e *A. brasilense* cepas Ab-V5 e Ab-V6.

A falta de afinidade da *A. brasilense* cepas Ab-V5 e Ab-V6 com as cultivares de arroz possivelmente ocorreu, visto que, a FBN em arroz irrigado por inundação pode contribuir com até 20 a 30% do N acumulado pela planta, porém, varia com o a cultivar de arroz (Campos et al., 2003). Além disso, em condições de clima semelhante ao estudo, bactérias *Azospirillum* spp. ocorrem em densidades populacionais satisfatórias em arroz irrigado e, são encontradas colonizando endofiticamente raízes e colmos das plantas, não sendo afetadas pelos atributos químicos do solo, exceto a adubação nitrogenada com N que reduz a população de bactérias (Silva et al., 2004; Cardoso et al., 2010), contribuindo para melhor nutrição e crescimento da cultura (Souza et al., 2000). Isso evidencia a importância das bactérias na FBN, porém, no caso do arroz irrigado há necessidade de mais estudos visando selecionar estirpes com maior afinidade com as cultivares, visto a ausência de resposta da *A. brasilense* cepas Ab-V5 e Ab-V6.

Por outro lado, na cultura do trigo, a inoculação das sementes com *A. Brasilense* cepas Ab-V5 e Ab-V6 aumentou a produtividade de grãos, permitindo economia de N mineral (Hungria et al., 2010; Piccinin et al., 2013). Em milho, também foram obtidos incrementos de produtividade de grãos com *A. brasilense*, cepa BR 11005 (Sp 245) (Novakoviski et al., 2010), e *A. brasilense* cepas Ab-V5 e Ab-V6 (Hungria et al., 2010; Bracini et al., 2012).

O tratamento de sementes com inseticida e fungicida não influenciou a resposta do arroz a inoculação das sementes com *A. brasilense* cepas Ab-V5 e

Ab-V6, na dose zero de N (Tabela 2, 3 e Figura 2). Apesar do tratamento de sementes resultar em maior produção de massa seca da parte aérea e número de panículas, não aumentou a produtividade de grãos nas cultivares de arroz Puitá Inta-CL e Br Irga 409. Isso decorre em razão de que o tratamento de sementes protege as plântulas de arroz contra o ataque de insetos e de fungos que atacam a cultura no início do ciclo de desenvolvimento (Sosbai, 2012), no entanto, não necessariamente resulta em aumento de produtividade, já que outros fatores estão envolvidos.

Tabela 2. Quadro de análise de variância para a produtividade de grãos vaso⁻¹ de arroz irrigado cultivar Puitá Inta-CL e Br Irga 409, considerando dois experimentos inteiramente casualizados em esquema fatorial 4 x 2 (4 doses de bactéria e com e sem tratamento de sementes com inseticidas e fungicidas).

Causas de variação	Grau de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F
Puitá Inta-CL				
Fator A (bactéria)	3	90,99	30,33	2,11 ^{ns}
Fator B (T.semente)	1	57,67	57,67	4,02 ^{ns}
Fator A x B	3	46,13	15,38	1,07 ^{ns}
Br Irga 409				
Fator A (bactéria)	3	59,81	19,94	1,09 ^{ns}
Fator B (T.semente)	1	0,53	0,53	0,03 ^{ns}
Fator A x B	3	149,61	49,87	2,73 ^{ns}

^{ns} não significativo.

Tabela 3. Eficiência da bactéria *Azospirillum brasilense* na produção de massa seca, número de panículas e produtividade de grãos vaso⁻¹ nas cultivares Puitá Inta-CL e Br Irga 409, sem aplicação de nitrogênio, sem e com o tratamento de sementes com inseticidas e fungicidas.

Tratamento	Massa seca g vaso ⁻¹	Número de panículas vaso ⁻¹	Produtividade de grãos g vaso ⁻¹
Puitá Inta-CL			
Sem tratamento de semente	27,1 b	16,2 b	29,5 a
Com tratamento de semente	34,3 a	20,9 a	32,2 a
Br Irga 409			
Sem tratamento de semente	34,3 b	18,2 b	33,8 a
Com tratamento de semente	40,9 a	20,5 a	33,6 a

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

Por meio desses resultados, verifica-se que *A. brasilense* cepas Ab-V5 e Ab-V6 (Masterfix[®] Gramíneas) não proporciona aumento na produtividade de arroz irrigado por inundação, conforme verificado em outros estudos para trigo e milho, para os quais este produto comercial é recomendado.

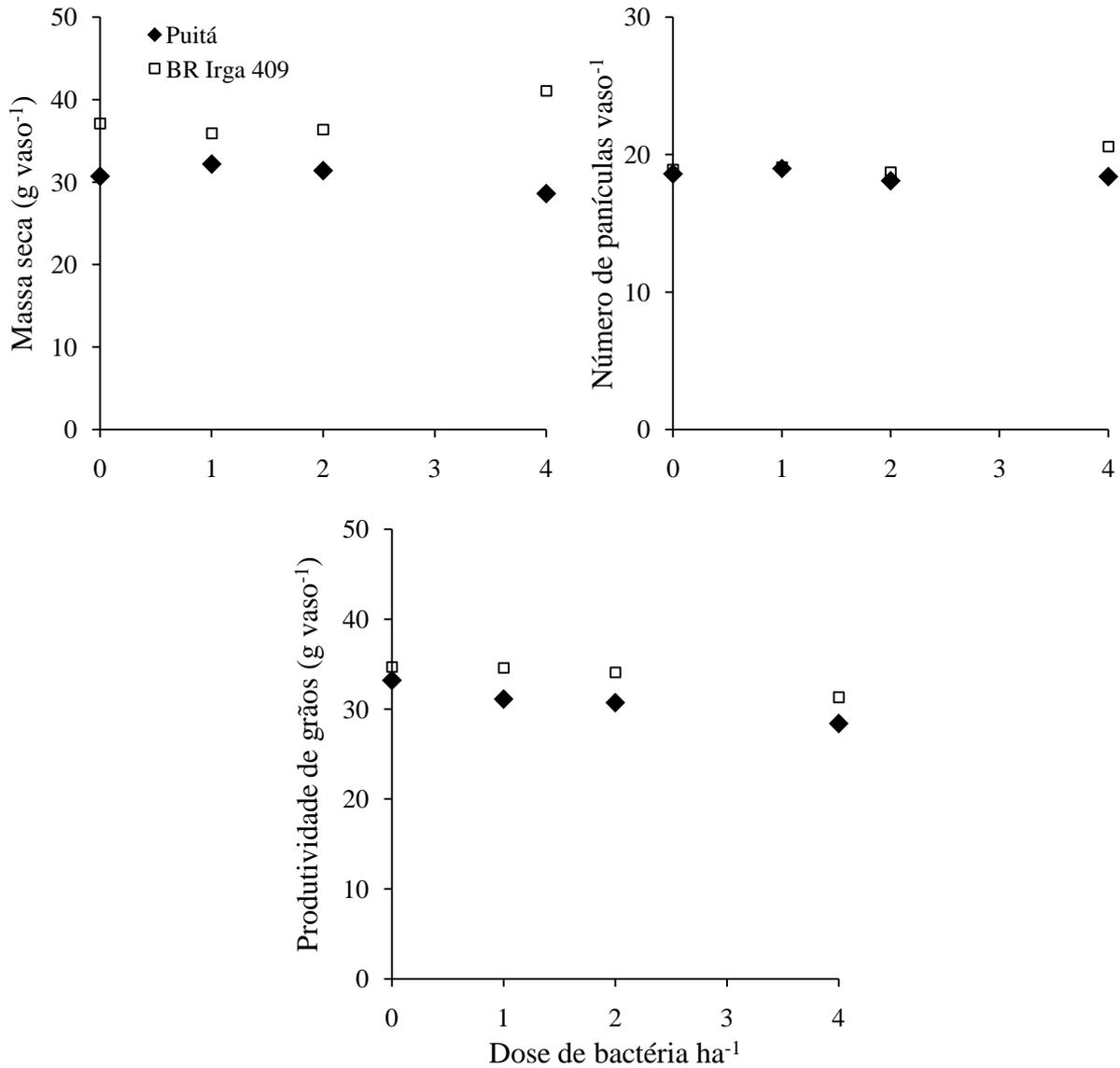


Figura 2. Massa seca da parte aérea, número de panículas e produtividade de grãos de arroz irrigado por inundação vaso, cultivar Puitá Inta-CL e Br Irga 409, em função da dose de *A. brasilense*, na ausência de nitrogênio mineral.

4 CONCLUSÃO

1. A inoculação das sementes de arroz irrigado por inundação com bactéria fixadora de nitrogênio *A. brasilense* cepas Ab-V5 e Ab-V6 (Masterfix[®] Gramíneas), não aumentou a produtividade de grãos de arroz.

2. A aplicação de nitrogênio aumentou a produtividade de grãos das quatro cultivares de arroz irrigado por inundação até a dose de 160 kg ha⁻¹.

3. O tratamento de sementes de arroz com inseticida e fungicida (fipronil, imidaclopride e carboxina + thiran) não influenciou no desempenho de *A. brasilense* cepas Ab-V5 e Ab-V6.

5 REFERÊNCIAS

BALDANI, J.I.; AZEVEDO, M.S. de; REIS, V.M.; TEIXEIRA, K.R. dos S. **Fixação biológica de nitrogênio em gramíneas. Avanços e aplicações.** In: SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; LOPES, A.S.; GUILHERME, L.R.G.; FURTINI NETO, A.E.; CARVALHO, J.G. (Org.). Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas. Viçosa: UFV, 1999. p.621-666.

BARRETO, J.H.B.; SOARES, I.; PEREIRA, J.A.; BEZERRA, A.M.E.; de DEUS, J.A.L. Yield Performance of Upland Rice Cultivars at Different Rates and Times of Nitrogen Application. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.36, p.475-483, 2012.

BRACCINI, A.L.; DAN, L.G.M.; PICCININ, G.G.; ALBRECHT, L.P.; BARBOSA, M.C.; ORTIZ, A.H.T., 2012. Seed inoculation with *Azospirillum brasilense*, associated with the use of bioregulators in maize. **Revista Caatinga**, v.25, p.58–64, 2012.

CAMPOS, B.H.C.; THEISEN, S.; GNATTA, V. Avaliação de inoculante Graminante na cultura do milho. **Ciência Rural**, v.30, p.713-715, 2000.

CAMPOS, D.V.B. de; RESENDE, A.S. de; ALVES, B.J.R.; BODDEY, R.M.; URQUIAGA, S. Contribuição da fixação biológica de nitrogênio para a cultura de arroz sob inundação. **Agronomia**, v.37, p.41-46, 2003.

CARDOSO, I.C.M.; FILHO, O.K.; MARIOTTO, J.R.; MIQUELLUTI, D.J.; VICENTE, D.; NEVES, A.N. Ocorrência de bactérias endofíticas do gênero *Azospirillum* em arroz irrigado no estado de Santa Catarina. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.9, p.178-186, 2010.

CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) ***Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina.** Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. 268p.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Avaliação de Linhagens de Arroz de Terras Altas Inoculadas com *Azospirillum lipoferum* Sp59b e *A. brasilense* Sp245**. Santo Antonio de Goiás: Embrapa, 2003. 4p. (Comunicado Técnico 69).

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 2013. 353p.

FERREIRA, J.S.; SABINO, D.C.C.; GUIMARÃES, S.L.; BALDANI, J.I.; BALDANI, V.L.D. Seleção de veículos para inoculante com bactérias diazotróficas para arroz inundado. **Revista Agronomia**, v.37, p.6-12, 2003.

FLOSS, E.L. Fisiologia das plantas cultivadas. Nutrientes e desenvolvimento das culturas. In: Floss, E. L. **Fisiologia das plantas cultivadas: o estudo que está por trás do que se vê**. 5 ed. Passo Fundo: Universidade de Passo Fundo. 2011. p. 495 – 677.

GENRO JUNIOR, S.A.; MARCOLIN, E.; ANGHINONI, I. Eficácia das recomendações de adubação para diferentes expectativas de produtividade de arroz irrigado por inundação. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v.34, p.1667-1675, 2010.

GUIMARÃES, S.L.; BALDANI, J.I.; BALDANI, V.L.D. Efeito da inoculação de bactérias diazotróficas endofíticas em arroz de sequeiro. **Agronomia**, v.37, p.25-30, 2003.

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

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

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 and Soil**, v.331, p.413-425, 2010.

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

MENDES, M.C.; ROSÁDIRO, J.G. do; FARIA, M.V.; ZOCHE, J.C.; WALTER, A.L.B. Avaliação da eficiência agrônômica de *Azospirillum brasilense* na cultura do trigo e os efeitos na qualidade de farinha. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, v.4, p.95-110, 2011.

MOREIRA, F.S.M.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 2002. 626p.

MOURA, R. da S. **Lâminas de água, inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense* e doses de nitrogênio em arroz terras**. 2010. 31p. Relatório - Universidade Estadual Paulista/Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Ilha Solteira.

MUNARETO, J.D.; BEUTLER, A.N.; RAMÃO, C.J.; DIAS, N.P.; RAMOS, P.V.; POZZEBON, B.C.; ALBERTO, C.M.; HERNANDES, G.C. Propriedades físicas do solo e produtividade de arroz irrigado por inundação no sistema plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, p.1499-1506, 2010.

NOVAKOWISKI, J.H.; SANDINI, I.E.; FALBO, M.K.; MORAES, A. de; NOVAKOWISKI, J.H.; CHENG, N.C. Efeito residual da adubação nitrogenada e inoculação de *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. **Semina: Ciências Agrárias**, v.32, p.1687-1698, 2011.

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

PEDRAZA, R.O.; BELLONE, C.H.; BELLONE, S.C.; BOA SORTE, P.M.F.; TEIXEIRA, K.R.S. *Azospirillum* inoculation and nitrogen fertilization effect on grain yield and on the diversity of endophytic bacteria in the phyllosphere of rice rainfed crop. **European Journal of Soil Biology**, v.45, p.36-43, 2009.

PERRIG, D.; BOIERO, M.L.; MASCIARELLI, O.A.; PENNA, C.; RUIZ, O.A.; CASSÁN, D.D.; LUNA, M.V. Plant-growth-promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and implications for inoculant formulation. **Applied Microbiology Biotechnology**, v.75, p.1143–1150, 2007.

PICCININ, G.G.; BRACCINI, A.L.; DAN, L.G.M.; SCAPIM, C.A. Efficiency of seed inoculation with *Azospirillum brasilense* on agronomic characteristics and yield of wheat. **Industrial Crops and Products**, v.43, p.393-397, 2013.

REIS, V.M.; OLIVEIRA, A.L.M.; BALDANI, V.L.D.; OLIVARES, F.L.; BALDANI, J.I. **Fixação Biológica de Nitrogênio Simbiótica e Associativa**. In: FERNANDES, M.S. (Ed) *Nutrição Mineral de Plantas*. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p.153-174.

ROESCH, L.F.W.; QUADROS, P.D. de; CAMARGO, F.A.O.; TRIPLETT, E.W. Screening of diazotrophic bacteria *Azospirillum* spp. for nitrogen fixation and auxin production in multiple field sites in southern Brazil. **World Journal of Microbiology Biotechnology**, v.23, p.1377-1383, 2007.

SILVA, D.M. da; FRIES, M.R.; ANTONIOLLI, Z.I.; AITA, C.; VOSS, M.; JACQUES, R.; SEMINOTTI, J.; CARVALHO, C.A. de. Bactérias diazotróficas em solo cultivado com arroz irrigado (*Oryza sativa* L.). **Revista Brasileira de Agrociência**, v.10, p.467-474, 2004.

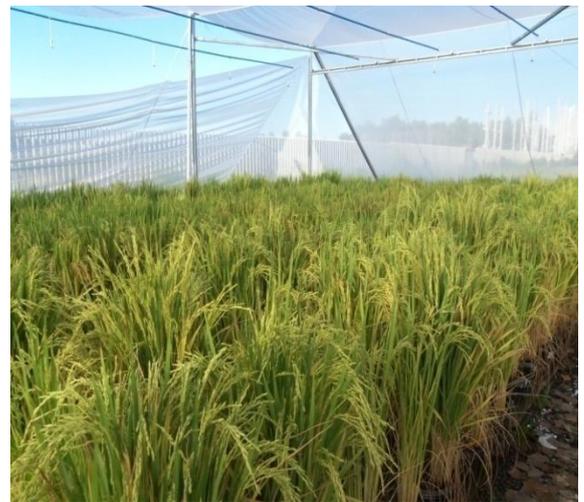
SOSBAI: Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado. **Arroz irrigado: Recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil**. Porto Alegre: SOSBAI, 2012. 177p.

SOUZA, R.O.; CAMARGO, F.A.O.; VAHL, L.C. **Solos alagados** In: Meurer, E.J. Fundamentos de química do solo. Porto Alegre: Genesis, Cap.7, 2000. p.126-149.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Assimilação de Nutrientes**. In: TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia Vegetal. 3. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. p.286-298.

APÊNDICE A

Experimento A - Doses de bactéria x doses de N em diferentes estádios de crescimento do arroz irrigado.



Experimento B - Doses de bactéria, sem e com tratamento das sementes com fungicidas e inseticidas, sem aplicação de N.

