

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

**SELEÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS PARA O
TRATAMENTO DE SEMENTES DE ARROZ**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Caroline Carvalho Aguirre Calvano

**Itaqui, RS, Brasil
2014**

CAROLINE CARVALHO AGUIRRE CALVANO

**SELEÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS PARA O TRATAMENTO DE
SEMENTES DE ARROZ**

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 **Engenheira Agrônoma**.

Orientadora: Renata Silva Canuto de Pinho

2014

CALVANO, Caroline Carvalho Aguirre.

Seleção de rizobactérias para o tratamento de sementes de arroz / Caroline Carvalho Aguirre Calvano. 20 de agosto de 2014.

Número de folhas : 33

Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Agronomia)

Universidade Federal do Pampa, 20 de agosto de 2014.

Orientação: Renata Silva Canuto de Pinho.

1. *Oryza sativa*. 2. Controle Biológico. 3. Promoção de Crescimento. I. PINHO, Renata Silva Canuto de. II. Seleção de Rizobactérias para o tratamento de sementes de Arroz.

CAROLINE CARVALHO AGUIRRE CALVANO

**SELEÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS PARA O TRATAMENTO DE
SEMENTES DE ARROZ**

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 **Engenheira Agrônoma.**

Trabalho de conclusão de curso defendido e aprovado em: 20 de Agosto de 2014.
Banca examinadora:

Prof^a. Dr^a. Renata Silva Canuto de Pinho
Orientadora
Curso de Agronomia - UNIPAMPA

Prof^a. Dr^a. Luciana Zago Ethur
Curso de Agronomia - UNIPAMPA

Prof^a. Dr^a. Adriana Pires Soares Bresolin
Curso de Agronomia - UNIPAMPA

Dedico este trabalho aos meus amados avós, José Moraes Aguirre e Dalva Carvalho Aguirre, e minha mãe, Carolina Carvalho Aguirre, maiores incentivadores e fontes inesgotáveis de apoio, amor e compreensão.

AGRADECIMENTO

Agradeço primeiramente a Deus, por me guiar e não me deixar desistir nos momentos mais difíceis, e por permitir a realização de mais um sonho.

Aos meus avós, José Moraes Aguirre e Dalva Carvalho Aguirre, que sempre me apoiaram, me incentivaram em estudar e hoje sei que estou realizando o sonho deles, concluindo a graduação.

À minha mãe, Carolina de Fátima Carvalho Aguirre, pelo amor e carinho inesgotável e pela fé depositada em mim, que com todas as dificuldades, sempre me apoiou.

À Prof^a. Dr^a. Renata Silva Canuto de Pinho, minha orientadora, pela orientação, apoio, amizade, estímulo, dedicação, paciência, preocupação e disposição dispensadas a mim.

À Prof^a. Dr^a. Luciana Zago Ethur, minha primeira orientadora, por sua amizade e incentivo. Pelo conhecimento passado e auxílio em diversas atividades.

Aos professores, que me proporcionaram conhecimento durante toda a graduação, seguirei seus ensinamentos para tentar encontrar soluções para problemas encontrados na minha atuação como profissional.

Às minhas colegas do grupo de pesquisa de Fitopatologia, Amanda Hajar, Morgana Stella, Rosana Vey e Ester Sena pelo auxílio na execução deste e outros projetos.

Aos meus colegas, pela amizade, companheirismo e carinho durante o correr dos semestres letivos.

Às técnicas de laboratório Franciele Pinheiro, Fabiani Moro, Carjone e Giovana Soares pela amizade e auxílio na execução deste e outros projetos.

Ao meu namorado Juliano de Moura Borges, pelo carinho, dedicação e apoio incondicional em todos os momentos.

A todas as pessoas que, direta ou indiretamente contribuíram para a realização desta pesquisa e conclusão deste sonho.

.

Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades;
lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram
conquistadas do que parecia impossível.

Charles Chaplin

RESUMO

SELEÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS PARA O TRATAMENTO DE SEMENTES DE ARROZ

Autor: Caroline Carvalho Aguirre Calvano

Orientador: Prof^a. Dr^a. Renata Silva Canuto de Pinho

Local e data: Itaqui, 20 de Agosto de 2014.

O uso de sementes tratadas ou sadias é importante para evitar a introdução de novos patógenos em novas áreas. O tratamento com fungicidas é o método mais utilizado, no entanto, também aumenta os riscos de contaminação ambiental. Uma alternativa ao controle químico é o controle biológico com uso de rizobactérias que apresentam potencial na redução de fitopatógenos. Este trabalho teve como objetivos selecionar rizobactérias para o controle de fungos veiculados pelas sementes e para a promoção de germinação e crescimento de plântulas de arroz. O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA/ Campus Itaqui. Para a execução deste trabalho foi utilizado a cultivar de arroz PUITÁ INTA-CL. Sementes de arroz foram tratadas com 21 rizobactérias isoladas de raízes de arroz, que encontram-se depositados em *freezer* à temperatura de -20° C no Laboratório de Fitopatologia. As suspensões rizobacterianas foram preparadas com solução salina de NaCl a 0,85%, e as concentrações foram ajustadas para $A_{540} = 0,5$. Para a microbiolização, as sementes foram imersas nas suspensões bacterianas, durante 30 minutos sob agitação, a 25°C. Após a microbiolização, 25 sementes foram colocadas em caixas de plástico transparente sobre duas folhas papel de germinação. O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado, com 4 repetições de 25 sementes. A avaliação de incidência e identificação dos patógenos foi realizada após sete dias, examinando-se individualmente as sementes em lupa. A avaliação de germinação das sementes foi realizada no 5º e 14º dias. Para a avaliação do Índice de Velocidade de Germinação (IVG), as sementes foram avaliadas diariamente até o 14º dia. A avaliação de promoção de crescimento foi realizada no 14º dia, onde foram realizadas medições de comprimento de raiz e parte aérea. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de

Scott & Knott a 5% de probabilidade. Todos os isolados testados reduziram a incidência de fungos nas sementes. Todos os isolados rizobacterianos testados não aumentaram o índice de velocidade de germinação e germinação. Os isolados BAC 06, BAC 28, BAC 40.1 e BAC 40.2 promoveram a redução da incidência de *Pyricularia grisea*, *Phoma* sp. e *Bipolaris oryzae* e o maior crescimento da parte aérea e raiz de plântulas de arroz, concomitantemente. Portanto, as rizobactérias testadas apresentam potencial para o controle de fitopatógenos em sementes e na promoção de crescimento de plântulas de arroz.

Palavras-chave: *Oryza sativa*; Controle Biológico; Promoção de Crescimento.

ABSTRACT

RHIZOBACTERIA SELECTION FOR SEED TREATMENT OF RICE

Author: Caroline Carvalho Aguirre Calvano

Advisor: Prof^a. Dr^a. Renata Silva Canuto de Pinho

Data: Itaqui, August 20, 2014.

The use of treated or healthy seeds is important to avoid introducing new pathogens into new areas. Treatment with fungicides is the most used method, however, also increases the risk of environmental contamination. An alternative to chemical control is biological control using rhizobacteria that have potential in reducing pathogens. This study aimed to select rhizobacteria to fungi control transmitted by seeds and to promote germination and seedling growth of rice. The experiment was conducted at the Laboratory of Plant Pathology, Federal University of Pampa - UNIPAMPA / Campus Itaqui. For the execution of this work was used to cultivate the puita INTA-CL rice. Rice seeds were treated with 21 rhizobacteria isolated from rice roots, which are deposited in a freezer at temperature of -20 °C in the Laboratory of Phytopathology. The rhizobacterianas suspensions were prepared with NaCl solution at 0.85%, and the concentrations were adjusted to $A_{540} = 0.5$. For microbiolization, seeds were immersed in the bacterial suspension for 30 minutes under stirring at 25° C. After microbiolization, 25 seeds were placed in clear plastic boxes on two sheets of paper germination. The experimental design was completely randomized, with four replicates of 25 seeds. The evaluation of incidence and identification of pathogens was performed after seven days individually by examining the seeds in magnifier. Evaluation of seed germination was held on the 5th and 14th days. For assessing the Germination Speed Index (GSI), the seeds were evaluated daily until day 14th. The evaluation of growth promotion was held on the 14th day, where measurements of roots length and shoots were held. The results were subjected to analysis of variance and means were compared by the Scott & Knott test at 5% probability. All isolates tested reduced the incidence of fungi in seeds. However, only 14 isolates concomitantly reduced the incidence of the fungus *Pyricularia grisea*, *Phoma* sp. and *Bipolaris oryzae* in rice seeds. All isolates tested reduced the incidence of fungi in seeds. All rhizobacterianas isolates tested not

increased the rate of germination speed and germination. The BAC 06, BAC 28, BAC 40.1 and BAC 40.2 isolates promoted the reduction of the incidence of *Pyricularia grisea*, *Phoma* sp. and *Bipolaris oryzae* and the highest growth of shoots and roots of rice seedlings, concomitantly. Therefore, the tested rhizobacteria have the potential to control pathogens in seeds and promote growth of rice seedlings.

Keywords: *Oryza sativa*; Biological Control; Promoting Growth.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Preparação das suspensões rizobacterianas (A); Agitação das sementes tratadas com as rizobactérias em agitador orbital (B); Sementes de arroz tratadas com rizobactérias (C); Sementes tratadas sendo colocadas nas caixas gerbox (D).....	21
FIGURA 2 – Plântulas de arroz com 14 dias (A); Avaliação de comprimento de parte aérea (B); Avaliação de comprimento de raiz (C).....	22

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Isolados rizobacterianos obtidos da rizosfera de plantas de arroz dos municípios de Itaqui/RS e Maçambará/RS.....	20
TABELA 2: Efeito de rizobactérias no índice de Velocidade de Germinação (IVG), e na porcentagem de germinação aos 5 dias e aos 14 dias.....	24
TABELA 3: Efeito de rizobactérias na incidência de fungos em sementes de arroz.....	25
TABELA 4: Porcentagem dos principais fungos analisados nas sementes de arroz.	26
TABELA 5: Comprimento de raiz e parte aérea de plântulas de arroz após tratamento com rizobactérias.....	27

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 A cultura do arroz.....	16
2.2 Principais doenças que podem ser transmitidas via sementes.....	17
2.3 Uso de Rizobactérias no tratamento de sementes.....	18
2.4 Uso de Rizobactérias na promoção de crescimento.....	18
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	20
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
5 CONCLUSÃO	28
6 REFERÊNCIAS.....	29

1 INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) está entre os cereais mais consumidos do mundo, sendo considerado um dos alimentos mais importantes para a alimentação humana. É o segundo cereal mais cultivado no mundo, ocupando área aproximada de 158 milhões de hectares, estando o Brasil como o nono maior produtor mundial (MAPA, 2013). A cultura do arroz se destaca pela produção e área de cultivo, desempenhando papel estratégico tanto no aspecto econômico quanto social. (EMBRAPA, 2005).

No Brasil, a Região Sul se destaca por apresentar cerca de 73,5% da produção nacional. Isso se deve ao fato do cultivo ser realizado quase que exclusivamente na forma irrigada, obtendo produtividade maior que a de sequeiro (EPAGRI, 2012).

A sanidade de sementes é muito importante, pois aproximadamente, 90% das culturas utilizadas para a alimentação, tanto humana como animal, são propagadas por sementes e o inóculo presente nelas poderá resultar em aumento das doenças no campo e sua introdução em áreas livres de patógenos (HENNING, 2005). Além de aumentar os custos de produção, o controle por meio de fungicidas também aumenta os riscos de contaminação ambiental. Para isso, uma alternativa que vem sendo estudada é o controle biológico de doenças do arroz pelo uso de rizobactérias que apresentam potencial na redução de fitopatógenos (ANACKER, 2010).

No solo existe um grande número de bactérias que se localizam na rizosfera, e aproximadamente cerca de 7 a 15% da superfície total das raízes é ocupada por estas células microbianas (GRAY & SMITH, 2005). Bactérias saprófitas da rizosfera, também conhecidas como rizobactérias, têm grande potencial na redução de fitopatógenos do solo além de proporcionar promoção de crescimento à diversas espécies de plantas (SOUZA JUNIOR et al., 2010; MARCUZZO, 2010).

Este trabalho teve como objetivos selecionar rizobactérias para o controle de fungos veiculados pelas sementes e para a promoção de germinação e crescimento de plântulas de arroz.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A cultura do arroz

O arroz (*Oryza sativa* L.) é cultivado e consumido em todos os continentes, destaca-se pela produção e área de cultivo, desempenhando papel estratégico tanto no aspecto econômico quanto social (FERREIRA; VILLAR, 2004). O Estado do Rio Grande do Sul, maior produtor nacional (67,7% do total), aguarda para esta safra uma produção de 8.342.704 toneladas, em uma área a ser colhida de 1.114.327 hectares, com um rendimento médio esperado de 7.487 kg/ha (IBGE, 2014).

Caracteriza-se por ser uma espécie hidrófila, cujo processo evolutivo tem levado à sua adaptação as mais variadas condições ambientais. De uma maneira mais abrangente, são considerados dois grandes ecossistemas para a cultura, que são o de várzeas e de terras altas, englobando todos os sistemas de cultivo de arroz no país (VIEIRA et al. 2005).

No Brasil, o ecossistema de várzeas é o que predomina nas áreas de produção, onde a orizicultura irrigada é responsável por 69% da produção nacional, uma vez que não é tão dependente das condições climáticas em relação ao cultivo de terras altas (GUIMARÃES et al., 2006).

As doenças de importância econômica no Brasil são relativamente poucas, mas bastante prejudiciais, tanto em arroz de sequeiro como em irrigado, e variam de acordo com o clima e com o solo (EMBRAPA, 2005).

Várias doenças, principalmente as causadas por fungos, incidem na cultura do arroz nos sistemas de plantios de terras altas, várzea e irrigado. A incidência e severidade de cada doença variam em função do manejo da água, da adubação, da resistência das cultivares e das condições ambientais. As principais doenças da cultura no Brasil são a brusone, mancha-de-grãos, mancha-parda e escaldadura das folhas (CORNÉLIO et al., 2004).

2.2 Principais doenças que podem ser transmitidas via sementes

A brusone, causada pelo fungo *Pyricularia grisea*, é considerada a doença mais importante do arroz no Brasil e em diversas partes do mundo. Os danos são variáveis em função da variedade e dos fatores climáticos nas áreas de cultivo (KIMATI et al., 2005).

A severidade da brusone nas folhas é altamente influenciada pelo grau de resistência da cultivar, pela quantidade de inóculo inicial e pelas condições climáticas (SILVA et al., 2002). O potencial destrutivo desta doença é tão grande, que as lavouras de arroz que apresentam incidência acima de 30%, geralmente são abandonadas, devido à perda de potenciais benefícios em relação aos danos econômicos causados (LUCAS et al., 2009).

A mancha parda, causada pelo fungo *Bipolaris oryzae*, causa grandes danos nas lavouras gaúchas, especialmente durante a germinação das sementes, levando as plântulas à morte, resultando em redução no estande de plantas (RIBEIRO, 2004). Nos últimos anos, a ocorrência da doença vem crescendo devido ao uso de cultivares suscetíveis, tendo assumido posição de principal doença em algumas regiões (NUNES et al., 2004).

Os danos associados à mancha parda são decorrentes da infecção dos grãos, da redução na germinação das sementes, da morte de plântulas originadas de sementes infectadas e da destruição da área foliar (KIMATI et al., 2005).

A escaldadura do arroz, causada pelo fungo *Gerlachia oryzae*, reduz significativamente a produção através da podridão das raízes e do coleótilo, da redução da área fotossintetizante, da esterilidade de flores. A doença além de afetar folhas, ataca colmo e panículas, manifestando-se também nas fases de perfilhamento e emborrachamento (ANACKER et al, 2004).

A queima das glumelas, causada pelo fungo *Phoma* sp., tem sido registradas em vários países e pode causar perdas significativas. A sobrevivência do fungo pode ocorrer em restos de cultura e sementes contaminadas. As sementes constituem-se na principal via de disseminação do patógeno, além de atuarem como fonte de inóculo primário (KIMATI et al., 2005).

2.3 Uso de rizobactérias no tratamento de sementes

O uso de sementes tratadas ou sadias é importante para evitar a introdução de novos patógenos em novas áreas. O tratamento de sementes é considerado uma das práticas culturais de baixo custo, para proteger as culturas contra pragas e doenças em arroz (LOBO, 2008). Limitações no controle químico e a inexistência de cultivares resistentes incentivou o estudo do controle biológico.

Uma das formas para aumentar o controle biológico de doenças, utilizada atualmente, é a combinação de micro-organismos. Essa combinação pode ampliar o espectro de ação sobre diferentes patógenos e estabilizar o efeito controlador sob diferentes condições de ambiente e cultivo (BOER et al., 2003).

A microbiolização das sementes com agentes de controle biológico tem mostrado seu potencial como estratégia de controle. Resultados promissores para o biocontrole de doenças do arroz são relatados como isolados de *Pseudomonas* e *Bacillus* para brusone (LUDWIG, 2009).

As rizobactérias são capazes de colonizar as raízes, estimulando-as diretamente ou beneficiando o crescimento e o desenvolvimento de diversas plantas, além de controle de doenças causadas por fitopatógenos. Sua aplicação em solos agricultáveis tem benefícios diretos e indiretos para a produção agrícola e o uso criterioso de insumos (FILIPPI et al., 2011).

Resultados obtidos por Ludwig & Moura (2007) e por Ludwig (2009) apontaram para o controle potencial de *Rhizoctonia solani* e de *Meloidogyne graminicola*, quando foram utilizadas individualmente as rizobactérias DFs185 (*Pseudomonas synxantha*), DFs223 (*P. fluorescens*), DFs306 (não identificado), DFs416 e DFs418 (*Bacillus sp.*). Em geral, os níveis de controle alcançados foram significativos, porém, a eficiência propiciada pelos diferentes tratamentos variou entre os ensaios realizados (LUDWIG & MOURA, 2007).

2.4 Uso de rizobactérias na promoção de crescimento

Na natureza existem micro-organismos que interagem com as plantas e causam efeitos diretos em seu desenvolvimento e no aumento da produção. Dentre esses, têm-se as bactérias que convivem com o sistema radicular, denominadas Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas – PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) (MARCUSOZZO, 2010).

Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (PGPR) são conhecidas por estimularem o crescimento vegetal, além de serem eficientes competidoras com organismos deletérios na região da rizosfera. Como consequência, as PGPR podem ser empregadas no controle biológico de fitopatógenos, no aproveitamento mais eficiente de fertilizantes e como rizoremediadoras, pela degradação de compostos nocivos às plantas (BAKKER et al., 2007).

O interesse pelo estudo das PGPRs também tem aumentado, em decorrência de sua capacidade de promover o crescimento vegetal por meio da solubilização de fosfatos inorgânicos, da produção de fitohormônio, da fixação de nitrogênio atmosférico (N_2) em vida livre e da produção de sideróforos, entre outros processos (LONGATTI et al., 2013). As PGPR podem ser de vida livre, associativas ou endofíticas. Estas últimas são capazes de colonizar as raízes das plantas (KAN et al., 2007).

Alguns trabalhos têm demonstrado o potencial de rizobactérias na promoção de crescimento de plantas. Em experimento realizado por Deuner et al. (2001) em casa de vegetação, três rizobactérias apresentaram superioridades em todos os parâmetros avaliados em relação ao incremento de altura de plantas, número de folhas, número de folíolos e peso fresco e seco da parte aérea e alguns tratamentos resultaram em maior número de botões florais e de flores. Porém, este efeito não foi duradouro o suficiente para resultar em aumento do número de frutos aos 129 dias.

Mafia et al. (2002) utilizando o sistema de colonização *in vitro* de rizobactérias para raízes de eucalipto, observaram que dos 50 isolados testados, 32% deles apresentaram colonização. Em teste *in vivo*, uma rizobactéria foi selecionada por promover ganho de 13% em média para enraizamento e 51% de massa de novas raízes, além de diminuir a incidência de podridões radiculares em mini estacas de eucalipto (MAFIA, 2004).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA/ Campus Itaqui. Para a execução deste trabalho foi utilizada a cultivar de arroz PUITÁ INTA-CL, com média suscetibilidade a brusone e média suscetibilidade a mancha dos grãos.

Sementes de arroz foram tratadas com 21 rizobactérias (Tabela 1) isoladas de raízes de arroz (POZZEBON, 2012), que encontram-se depositadas em *freezer* à temperatura de -20° C, no laboratório de Fitopatologia.

TABELA 1 – Isolados rizobacterianos obtidos da rizosfera de plantas de arroz dos municípios de Itaqui/RS e Maçambará/RS.

Município	Isolado
Maçambará/RS	BAC6; BAC8;
Itaqui/RS	BAC18; BAC22; BAC23; BAC24; BAC25; BAC27; BAC28; BAC29; BAC30; BAC31; BAC32; BAC33; BAC35; BAC37; BAC38; BAC39; BAC 40; BAC 42

Fonte: POZZEBON, 2012.

Os isolados bacterianos foram repicados para placas de Petri contendo meio de cultura MB1 (MB1 - sacarose 10,0g, caseína hidrolisada 8,0g, extrato de levedura 4,0g, K₂HPO₄ 2,0g, MgSO₄ 0,3g, ágar 10g/L).

As suspensões rizobacterianas foram preparadas com solução salina de NaCl a 0,85%, e as concentrações foram ajustadas para $A_{540} = 0,5$ em espectrofotômetro. Para a microbiolização, as sementes de arroz foram imersas nas suspensões, durante 30 minutos sob agitação, a 25°C (Figura 1). A testemunha foi constituída de sementes tratadas apenas com solução salina.

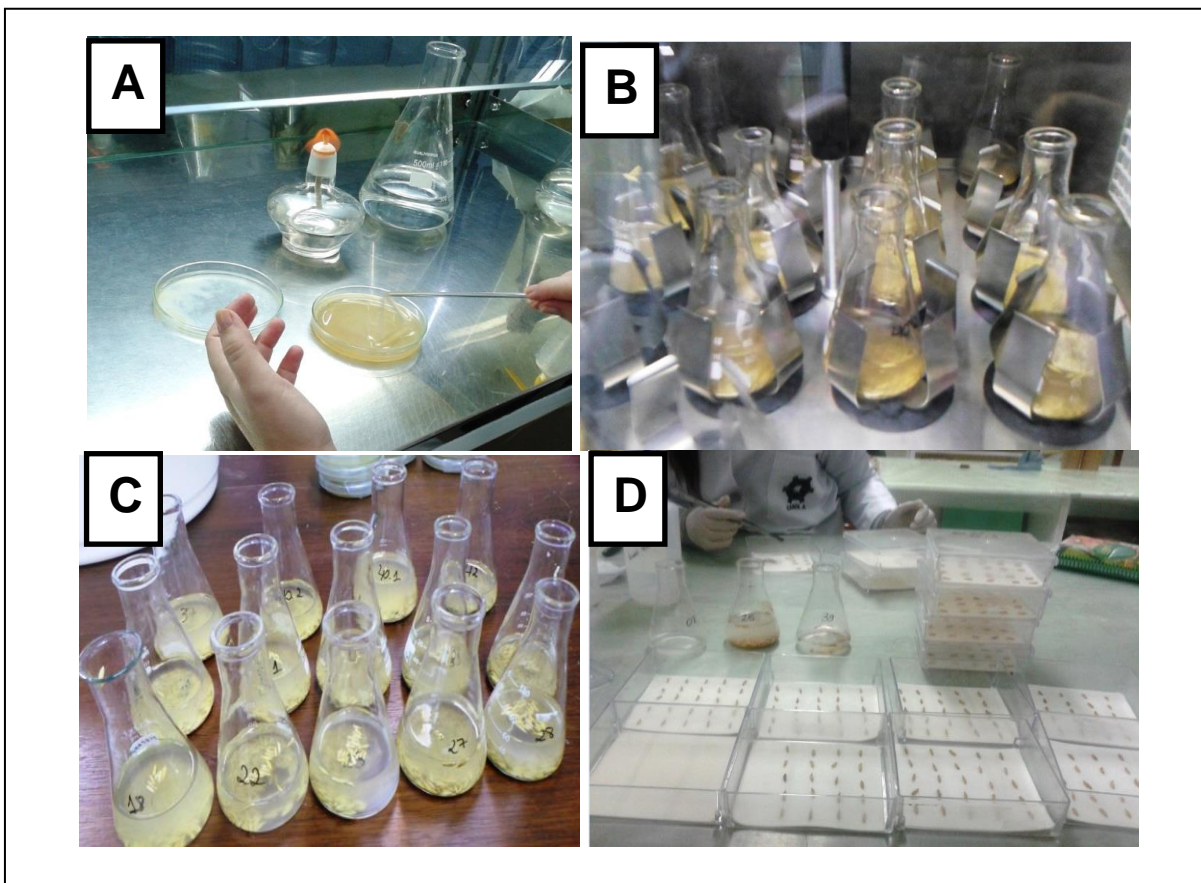


FIGURA 1 – Preparação das suspensões rizobacterianas (A); Agitação das sementes tratadas com as rizobactérias em agitador orbital (B); Sementes de arroz tratadas com rizobactérias (C); Sementes tratadas sendo colocadas nas caixas gerbox (D).

Após a microbiolização, 25 sementes foram colocadas em caixas de plástico transparente sobre duas folhas de papel de germinação, previamente umedecidas com água destilada esterilizada, em quantidade equivalente a 2,5 vezes a massa do papel. As caixas foram incubadas em câmara B.O.D à temperatura de 25°C.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 22 tratamentos e com 4 repetições de 25 sementes.

A avaliação de incidência e identificação dos fungos veiculados pelas sementes foi realizada após sete dias, examinando-se individualmente as sementes em lupa. Os dados de incidência foram transformados para porcentagem.

A avaliação de germinação das sementes foi realizada no 5º e 14º dias conforme as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). O critério adotado para avaliação baseou-se nas recomendações das Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), considerando-se germinadas as sementes que

originaram plântulas normais, com todas as estruturas essenciais, com capacidade de produzirem plantas normais sob condições favoráveis.

Para a avaliação do Índice de Velocidade de Germinação (IVG), as sementes foram avaliadas diariamente até o 14º dia e calculado o índice de acordo com a fórmula de Maguire (1962):

$$IVG = (G1/N1) + (G2/N2) + (G3/N3) + \dots + (Gn/Nn), \text{ em que:}$$

IVG = índice de velocidade de germinação;

G1, G2, G3, ..., Gn = número de plântulas computadas na primeira, segunda, terceira e última contagem;

N1, N2, N3, ..., Nn = número de dias da semeadura à primeira, segunda, terceira e última contagem.

A avaliação de promoção de crescimento foi realizada no 14º dia, onde foram realizadas medições de comprimento de raiz e parte aérea (Figura 2).

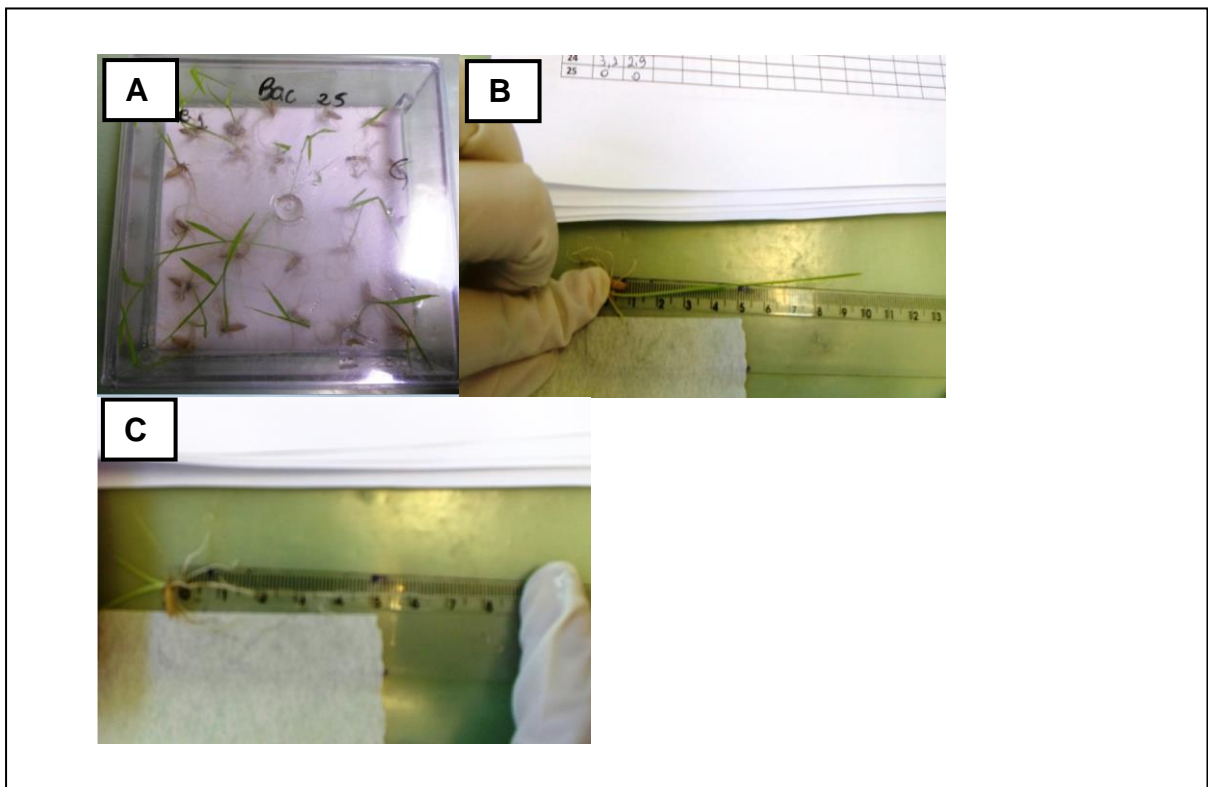


FIGURA 2 – Plântulas de arroz com 14 dias (A); Avaliação de comprimento de parte aérea (B); Avaliação de comprimento de raiz (C).

Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott & Knott a 5% de probabilidade, no programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2008).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 21 isolados rizobacterianos testados, todos reduziram a incidência de fungos nas sementes. O isolado BAC 27 foi o que obteve o melhor resultado com redução de 89% da incidência de fungos nas sementes (Tabela 2).

TABELA 2: Efeito do tratamento de sementes de arroz com rizobactérias na incidência de fungos.

Tratamento	Incidência
Testemunha	97,00 f
BAC 06	50,00 d
BAC 08	40,00 c
BAC 18	29,00 b
BAC 22	40,00 c
BAC 23	45,00 c
BAC 24	42,00 c
BAC 25	38,00 c
BAC 27	11,00 a
BAC 28	52,00 d
BAC 29	49,00 d
BAC 30	61,00 e
BAC 31	51,00 d
BAC 32	49,00 d
BAC 33	49,00 d
BAC 35	61,00 e
BAC 37	47,00 c
BAC 38	35,00 b
BAC 39	28,00 b
BAC 40.1	44,00 c
BAC 40.2	47,00 c
BAC 42	55,00 d
CV %	12,20

*Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Quando foram avaliados especificamente os fungos mais importantes para a análise de sementes de arroz (BRASIL, 2009) 14 isolados reduziram concomitantemente a incidência dos fungos *Pyricularia grisea*, *Phoma* sp.e *Bipolaris oryzae* em relação a testemunha (Tabela 3).

TABELA 3: Efeito do tratamento de sementes de arroz com rizobactérias na incidência de *Pyricularia grisea*, *Phoma* sp. e *Bipolaris oryzae*.

Tratamento	Fungos (%)		
	<i>Pyricularia grisea</i>	<i>Phoma</i> sp.	<i>Bipolaris oryzae</i>
Testemunha	18,50 d**	41,00 f*	7,00 b
BAC 06	4,00 b	0,00 a	0,00 a
BAC 08	0,00 a	33,00 e	0,0 a
BAC 18	0,00 a	19,00 c	8,00 c
BAC 22	0,00 a	33,00 e	8,00 c
BAC 23	0,00 a	8,00 b	6,00 b
BAC 24	5,00 b	17,00 c	0,00 a
BAC 25	0,00 a	23,00 d	0,00 a
BAC 27	11,00 c	31,00 e	33,00 d
BAC 28	0,00 a	12,00 c	9,00 c
BAC 29	6,00 b	5,00 b	0,00 a
BAC 30	0,00 a	15,00 c	0,00 a
BAC 31	0,00 a	33,00 e	0,00 a
BAC 32	0,00 a	16,00 c	1,00 a
BAC 33	0,00 a	2,00 a	0,00 a
BAC 35	9,00 c	11,00 c	0,00 a
BAC 37	0,00 a	22,00 d	9,00 c
BAC 38	10,00 c	29,00 e	0,00 a
BAC 39	11,00 c	29,00 e	0,00 a
BAC 40.1	0,00 a	11,00 c	0,00 a
BAC 40.2	0,00 a	9,00 b	6,00 b
BAC 42	0,00 a	13,00 c	0,00 a
CV %	34,53	24,23	41,23

*Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

**Os dados de *Pyricularia grisea* foram transformados em $\sqrt{x} + 0,5$.

Dos 14 isolados que reduziram a incidência de *Pyricularia grisea*, *Phoma* sp. e *Bipolaris oryzae*, o isolado BAC 33 foi o que apresentou os melhores resultados com redução de 100, 95 e 100% respectivamente.

Os fungos identificados nas sementes de arroz foram: *Pyricularia grisea*, *Phoma* sp., *Bipolaris oryzae*, *Nigrospora* sp., *Aspergillus* sp., *Alternaria* sp., *Penicillium* sp., *Curvularia* sp., *Cladosporium* sp. e *Chaetomium* spp.

Anacker et al. (2010) verificaram que alguns isolados bacterianos utilizados reduziram mancha parda em plantas de arroz, em casa de vegetação.

Em outro experimento, Anacker et al. (2010) também verificaram que os tratamentos utilizados em sementes de arroz, com cinco isolados bacterianos e três

combinações entre eles, reduziram a severidade da escaldadura, apresentando capacidade de controlar a doença.

Foi verificado, neste experimento, que os tratamentos com rizobactérias não promoveram uma maior germinação de sementes e também não aumentou o Índice de Velocidade de Germinação (IVG). Além disso, algumas rizobactérias inibiram a germinação e o IVG (Tabela 4).

TABELA 4: Efeito de rizobactérias no índice de Velocidade de Germinação (IVG), e na porcentagem de germinação aos 5 dias e aos 14 dias.

Tratamento	IVG	%Germinação 5 dias	%Germinação 14 dias
Testemunha	5,98 b*	81,50 c	97,00 b
BAC 06	3,29 a	92,00 c	95,00 b
BAC 08	4,34 b	90,00 c	91,00 b
BAC 18	5,57 b	96,00 c	97,00 b
BAC 22	5,01 b	75,00 c	96,00 b
BAC 23	5,67 b	90,00 c	91,00 b
BAC 24	4,32 b	76,00 c	92,00 b
BAC 25	4,05 b	88,00 c	96,00 b
BAC 27	2,53 a	91,00 c	94,00 b
BAC 28	3,61 a	92,00 c	93,00 b
BAC 29	2,66 a	40,00 b	54,00 a
BAC 30	4,17 b	89,00 c	95,00 b
BAC 31	4,43 b	88,00 c	89,00 b
BAC 32	4,50 b	95,00 c	96,00 b
BAC 33	5,14 b	94,00 c	98,00 b
BAC 35	3,55 a	88,00 c	90,00 b
BAC 37	5,81 b	96,00 c	96,00 b
BAC 38	2,02 a	0,000 a	57,00 a
BAC 39	2,10 a	43,00 b	71,00 a
BAC 40.1	4,38 b	94,00 c	95,00 b
BAC 40.2	3,69 a	94,00 c	94,00 b
BAC 42	6,05 b	86,00 c	94,00 b
CV %	33,89	21,98	12,73

*Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

No entanto, Moura et al. (2000), testando bactérias biocontroladoras de *Bipolaris oryzae* verificaram que todos os isolados testados tiveram capacidade de colonizar as raízes e incrementar 82,9, 56,8 e 43,3% de área foliar, peso fresco e peso seco respectivamente em plantas de arroz conduzidas in vivo (SANTOS et al., 2001).

Em relação ao comprimento de raiz e parte aérea das plântulas de arroz aos 14 dias após o tratamento com rizobactérias observou-se que os isolados BAC 06, BAC 08 , BAC 28, BAC 40.1 e BAC 40.2 promoveram o maior crescimento de parte aérea e raiz concomitantemente (Tabela 5).

TABELA 5: Comprimento de raiz e parte aérea de plântulas de arroz após tratamento com rizobactérias.

Tratamento	Comprimento Raiz (cm)	Comprimento parte aérea (cm)
Testemunha	2,82 b*	1,91 b
BAC 06	4,25 d	3,67 c
BAC 08	4,46 d	3,96 c
BAC 18	3,84 c	4,05 c
BAC 22	2,80 b	2,86 c
BAC 23	0,87 a	0,59 a
BAC 24	3,66 c	3,77 c
BAC 25	3,52 c	4,18 c
BAC 27	3,18 c	3,00 c
BAC 28	4,51 d	4,14 c
BAC 29	2,22 b	1,50 b
BAC 30	2,69 b	2,35 b
BAC 31	2,54 b	1,97 b
BAC 32	3,37 c	3,37 c
BAC 33	3,69 c	4,06 c
BAC 35	3,18 c	3,36 c
BAC 37	3,37 c	3,10 c
BAC 38	1,35 a	0,53 a
BAC 39	1,88 b	1,63 b
BAC 40.1	4,33 d	4,21 c
BAC 40.2	4,11 d	3,94 c
BAC 42	0,93 a	0,72 a
CV %	22,58	28,32

*Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Freitas et al. (2003) realizaram quatro experimentos em alface, utilizando 77 isolados de *Pseudomonas*, 23 de *Bacillus* e 11 de outras bactérias rizosféricas em diversos substratos. Verificaram que o gênero *Pseudomonas* mostrou-se mais eficiente, revelando algum favorecimento dessas bactérias na rizosfera da alface, promovendo um maior crescimento das plantas.

Marcuzzo et al. (2000), constataram o efeito de promoção de crescimento de plantas de aveia e inibição do fungo *Drechslera avenae* através da microbiolização de sementes. Os isolados de rizobactéria proporcionaram biocontrole máximo de 15%, mas promoveram incremento aos 48 dias na ordem 34, 58, 55, 117, 129% para número de folhas, altura de plantas, área foliar, peso de matéria fresca e seca respectivamente e redução no tempo de emergência em 50%.

5 CONCLUSÃO

Todas as rizobactérias testadas reduzem a incidência de fungos em sementes de arroz.

Os isolados BAC 06, BAC 28, BAC 40.1 e BAC 40.2 promovem a redução da incidência de *Pyricularia grisea*, *Phoma* sp. e *Bipolaris oryzae* e o maior crescimento da parte aérea e raiz de plântulas de arroz, concomitantemente.

Os isolados rizobacterianos testados não aumentam o índice de velocidade de germinação e germinação.

6 REFERÊNCIAS

ANACKER, L. F.; SCHAFER, J. T.; CORREA, B. O.; BENEDETI, P. R.; MOURA, A. B. Controle Biológico da mancha parda em arroz irrigado pelo uso de rizobactérias isoladas e combinadas. In: Encontro de Pós-Graduação UFPEL, 12., 2010, Pelotas. **Anais eletrônicos...** Pelotas: UFPEL, 2010. Disponível em: <<http://www2.ufpel.edu.br/enpos/2012/anais/ca.html>> . Acesso em: 06 de maio de 2014.

ANACKER, L. F.; SCHAFER, J. T.; CORREA, B. O.; COSTA, M. W.; MOURA, A. B. Controle da escaldadura causada por *Gerlachia oryzae* em arroz pelo uso de rizobactérias isoladas e em combinação. In: Encontro de Pós-Graduação UFPEL, 12., 2010, Pelotas. **Anais eletrônicos...** Pelotas: UFPEL, 2010. Disponível em: <<http://www2.ufpel.edu.br/enpos/2012/anais/ca.html>> . Acesso em: 06 de maio de 2014.

BAKKER P.; Raaijmakers J.M.; Bloemberg G.; Hofte M.; Lemanceau P.; Cooke BM (Eds.) (2007) *New Perspectives and Approaches in Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Research*. Dordrecht. Springer.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2009. 399 p.

BRASIL. **Manual de Análise Sanitária de Sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 200 p.

BOER, M. de; BOM, P.; KINDT, F.; KEURENTJES, J.J.B.; SLUIS, I. van der; LOON, L.C. van; BAKKER, P.A.H.M. Control of *Fusarium* wilt of radish by combining *Pseudomonas putida* strains that have different disease-suppressive mechanisms. **Phytopathology**, v.93, p.629-632, 2003.

CORNÉLIO, V.M. das O.; CARVALHO, V.L.; PRABHU, A.S. **Doenças do Arroz. Informe Agropecuário**, v.25, n.2, p.1-18, 2004.

DEUNER, C.C.; ROMEIRO, R.S.; MENDONÇA, H.L.; SILVA, H.S.A.; GARCIA, F.A.A.O. Seleção de rizobactérias para promoção de crescimento em plantas de tomateiro (*Lycopersicon esculentum*). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.26, p.260, 2001.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Doenças do arroz**. Arquivo do Agrônomo N°10. Goiânia: EMBRAPA-CNPAP, 2005. 5p.

EPAGRI - EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E EXTENSÃO RURAL DE SANTA CATARINA [internet]: Brusone. Disponível em: http://www.epagri.sc.gov.br/index.php?option=com_content&view=article&id=930:brusone&catid=30:suinoicultura&Itemid=47. Acesso em 14 de junho de 2014.

FERREIRA, D.F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, v.6, p.36-41, 2008.

FERREIRA, C.M.; VILLAR, P.M. del. Aspectos da produção e do mercado de arroz. **Informe Agropecuário**, v.25, n.2, p.1-18, 2004.

FILIPPI, M. C. C. et al. Leaf blast (*Magnaporthe oryzae*) suppression and growth promotion by rhizobacteria on aerobic rice in Brazil. **Biological Control**, 58, 2011, 160–166.

FREITAS, S.S.; MELO, A.M.T.; DONZELI, V.P. Promoção de crescimento de alface por rizobactérias. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. Viçosa, v.27, n.1, p.61-70, 2003.

GRAY, E.J. & SMITH, D. L. Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. **Soil Biology And Biochemistry** 37: 395-412, 2005.

GUIMARÃES, C. M.; SANTOS, A. B.; MAGALHÃES JUNIOR, A. M.; et al. Sistema de cultivo. In: SANTOS, A. B.; STONE, L. F.; VIEIRA, N. R. A. **Cultura do Arroz no Brasil**. v. 2, p. 53-96, 2006.

HENNING, A.A. **Patologia e tratamento de sementes**: noções gerais. 2. ed. Londrina: Embrapa Soja, 2005. 52p. (Embrapa Soja. Documentos, 264).

KAN, F.L.; CHEN, Z.Y.; WANG, E.T.; TIAN, C.F.; SUI, X.H; CHEN, W.X. Characterization of symbiotic and endophytic bacteria isolated from root nodules of herbaceous legumes grown in Qinghai-Tibet plateau and in other zones of China. **Archives of Microbiology**, v.188, p.103-115, 2007.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. (Eds.). **Manual de Fitopatologia**: Doenças da Plantas Cultivadas. v. 2, 4 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005.

LOBO, V. L. S. Efeito do tratamento químico de sementes de arroz no controle da brusone nas folhas e na qualidade sanitária e fisiológica das sementes. **Trop. plant pathol.** 2008, vol.33, n.2, pp. 162-166.

LONGATTI, S.M. de; MARRA, L.M.; MOREIRA, F.M. de S. Evaluation of plant growth-promoting traits of Burkholderia and Rhizobium strains isolated from Amazon soils for their co-inoculation in common bean. **African Journal of Microbiology Research** , v.7, p.948-959, 2013.

LUCAS, J. A. et al. Use of two PGPR strains in the integrated management of blast disease in rice (*Oryza sativa*) in Southern Spain. **Field Crops Research**, 114, 2009, 404–410.

LUDWIG, J.; MOURA, A.B. Controle biológico da queima das bainhas em arroz pela microbiolização de sementes com bactérias antagonistas. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, p.381-386, 2007.

LUDWIG, J.; MOURA, A.B.; SANTOS, A.S. dos; RIBEIRO, A.S. Microbiolização de sementes para o controle da mancha-parda e escaaldadura em arroz irrigado. **Tropical Plant Pathology**, v.34, p.322-328, 2009.

MAFIA, R.G. Rizolyptus: Rhizobacteria com indutoras de enraizamento, crescimento e como agente de biocontrole de doenças associadas a propagação clonal do eucalipto. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.29, p.11, 2004.

MAFIA, R.G.; ALFENAS, A.C.; ROMEIRO, R.S. Colonização de raízes de *Eucalyptus* por rizobactérias. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.27, p.63, 2002.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/arroz>. Acesso em 14 de junho de 2014.

MARCUZZO, L.L. Efeito de rizobactérias sobre o biocontrole e promoção de crescimento de plantas. *Ágora*: **Revista de Divulgação Científica**, ISSN 2237-9010, Mafra, v. 17, n. 1, 2010.

MARCUZZO, L.L.; RIBEIRO, A.S.; MOURA, A.B. Efeitos da microbiolização de sementes sobre o crescimento de aveia branca e o fungo *Drechslera avenae*. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES (6.:2000: Pelotas) **Anais...** Pelotas:DFs/FAEM/UFPel. 2000. CD-ROM.

MOURA, A.B.; DEL PONTE, E.; SILVA, E.G. Colonização de raízes e promoção de crescimento de arroz mediado por bactérias biocontroladoras de *Bipolaris oryzae*. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna. v.26, n.1, p.140, 2000.

NUNES, C.D.; RIBEIRO, A.S.; TERRES, A.L. Principais doenças do arroz irrigado e seu controle. In: GOMES, A.S.; MAGALHÃES JUNIOR, A.M. **Arroz irrigado no sul do Brasil**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2004, p.579-633.

OOSTENDORP, M.E.; SIKORA, R.A. Seed treatment with antagonistic rhizobacteria for the suppression of *Heterodera schachtii* early root infection of sugar beet. **Revue de Nématologie**, v.1, n.12, p.77-83, 1989.

POZZEBON, B. C. Rizobactérias no controle *in vitro* de *Pyricularia grisea*. 2012. 36p. Monografia (Graduação) – Universidade Federal do Pampa, Itaqui.

SANTOS, A.S.; MOURA, A.B.; SILVEIRA, A.O. Promoção de crescimento de plantas de arroz induzidas por bactérias pré-selecionadas para biocontrole da mancha parda (*Bipolaris oryzae*). **Fitopatologia brasileira**, Brasília, v.26, p.300, 2001.

SOUZA JUNIOR, I. T.; MOURA, A. B.; SCHAFER, J. T.; CORRÊA, B. O.; GOMES, C. B. Biocontrole da Queima-das-bainhas e do nematoide-das-galhas e promoção de crescimento de plantas de arroz por rizobactérias. **Pesq. agropec. bras.** 2010, vol.45, n.11, pp. 1259-1267.

VIEIRA, N.R. de A. V.; SANTOS, A. B. dos; SANT'ANA, E.P. **A cultura do arroz no Brasil**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2005. 633p.