

# INOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS PROMOVE O CRESCIMENTO E AUMENTA O RENDIMENTO DE ARROZ IRRIGADO

Leandro Hahn<sup>1</sup>; William Rosa da Silva<sup>2</sup>; Rafael Goulart Machado<sup>3</sup>; Neemias da Silva Santos<sup>4</sup>; Raquel Garibaldi Damasceno<sup>5</sup>; Rodrigo Schönfeld<sup>6</sup>; Enilson Luiz Saccò de Sá<sup>7</sup>

Palavras-chave: Rizóbios, *Azospirillum*, fixação biológica de nitrogênio,

## INTRODUÇÃO

Os rizóbios têm sido comumente usados na inoculação com leguminosas. No entanto, estes microrganismos também podem estimular o crescimento e o desenvolvimento de plantas de outras famílias. Os rizóbios podem viver no interior de raízes, caules e folhas de plantas, como gramíneas, e estimular o crescimento destes vegetais por um ou mais mecanismos, seja pela produção de substâncias hormonais, como o ácido indol acético (AIA) (BISWAS et al., 2000; CHEN et al., 2005), pela solubilização de fosfatos (RODRIGUEZ & FRAGA, 1999), e, de uma forma indireta, pela proteção das plantas contra patógenos (DUTTA et al., 2007).

Dentre as gramíneas, o arroz foi a cultura que atraiu o maior número de investimentos em estudos usando rizóbios como promotores de crescimento. No Egito, os benefícios do cultivo do arroz em sucessão ao *Trifolium alexandrinum* são conhecidos pela população local há mais de sete séculos (YANNI et al. 1997) promovendo economia de até 33% na dose recomendada de nitrogênio para o arroz em sucessão. Algumas estirpes de *Rhizobium* foram capazes de estimular o comprimento da radícula e do profilo do coleóptilo, além de incrementar a área foliar, a massa seca da parte área, a absorção de nitrogênio, o número de panículas, e o rendimento de grãos (BISWAS et al., 2000). A inoculação de rizóbios isolados de *Lotus glaber* acelerou o processo de germinação de todas as cultivares de arroz avaliadas (OSÓRIO FILHO, 2009). Em outros trabalhos, foram observados incrementos de 19% (BISWAS et al., 2000) e de 32% (CHI et al., 2005) na produção de massa seca da parte aérea de plantas de arroz inoculadas com diferentes rizóbios.

Além dos estudos com rizóbios, numerosos trabalhos sobre ecologia, fisiologia e genética têm sido conduzidos sobre bactérias diazotróficas do gênero *Azospirillum* associadas com gramíneas (BALDANI et al., 1997). Tem sido observado que, pela inoculação de *Azospirillum*, ocorre alteração morfológica da raiz, com o aumento das raízes laterais e de pêlos radiculares. Isto é atribuído à produção de auxinas por estas bactérias (STEENHOUDT & VANDEREYDEN, 2000). No entanto, trabalhos têm mostrado resultados frustrantes com a inoculação de *Azospirillum* isoladamente em cultivos de arroz (SASAKI et al, 2010).

Diante dos benefícios proporcionados, a inoculação com diazotróficos pode ser promissora para o cultivo de arroz. É bem documentada a promoção de crescimento desta cultura por rizóbios e bactérias do gênero *Azospirillum*, no entanto, pouco se sabe sobre a utilização conjunta destes dois grupos de diazotróficos na promoção do crescimento vegetal em arroz.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência da inoculação de bactérias

<sup>1</sup> Estudante PPG em Ciência do Solo, UFRGS, Av. Bento Gonçalves, 7712, CEP: 91540-000, Porto Alegre-RS, e-mail: hahnleandro@yahoo.com.br.

<sup>2</sup> Estudante Agronomia, UFRGS, Av. Bento Gonçalves, 7712, CEP: 91540-000, Porto Alegre-RS, e-mail: 00170479@ufrgs.br

<sup>3</sup> Estudante PPG em Ciência do Solo, UFRGS, Av. Bento Gonçalves, 7712, CEP: 91540-000, Porto Alegre-RS, e-mail: rgoulartmachado@gmail.com.

<sup>4</sup> Estudante Agronomia, UFRGS, Av. Bento Gonçalves, 7712, CEP: 91540-000, Porto Alegre-RS, e-mail: neemias\_poa@hotmail.com.

<sup>5</sup> Mestre em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Rua Sarmento Leite, 500 – Sala 052, CEP: 90050-170 – Porto Alegre, RS, e-mail: rgdamasceno@gmail.com.

<sup>6</sup> Pesquisador EEA/IRGA, Caixa Postal 29, CEP 94930-030 Cachoeirinha, RS, e-mail: rodrigo-schoenfeld@irga.rs.gov.br.

<sup>7</sup> Professor Associado do Departamento Solos, Faculdade de Agronomia, UFRGS, Av. Bento Gonçalves, 7712, CEP: 91540-000, Porto Alegre-RS, e-mail: enilson.sa@ufrgs.br.

diazotróficas na promoção de crescimento de arroz irrigado.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido a campo em área da Estação Experimental do Arroz (EEA) do Instituto Riograndense do Arroz (IRGA), localizado no município de Cachoeirinha-RS. O solo do campo experimental é classificado como Gleissolo Háplico Ta Distrófico Típico (EMBRAPA, 2009).

Foi utilizada a cultivar de arroz Puitá Inta CL e os tratamentos foram constituídos pela inoculação isolada ou combinada de isolados de nódulos de *Lotus corniculatus* (Lc 348) e *Trifolium repens* (VP 16) e um inoculante comercial da empresa Spraytech a base de *Azospirillum brasiliense* (estirpes AbV5 e AbV6). Os isolados de nódulos demonstraram promoção de crescimento de arroz em experimentos com vaso (OSÓRIO FILHO, 2009). Os microrganismos foram testados nas doses de 60 e 120 kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio, totalizando 12 tratamentos.

Os isolados de nódulos e o inoculante comercial foram diluídos em água esterilizada e aplicados durante o estágio V<sub>n</sub> das plantas. Para os rizóbios foram aplicados 2,4 x 10<sup>8</sup> rizóbios por m<sup>2</sup>, sendo a contagem realizada em câmara de Neubauer. Para o inoculante comercial foram aplicados 4 x 10<sup>7</sup> células por m<sup>2</sup>. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, dispostos em parcelas subdivididas, com quatro repetições. Nas parcelas principais foram aplicados os inoculantes e nas subparcelas, as doses de nitrogênio.

O arroz foi semeado após preparo convencional do solo e a ureia aplicada parceladamente, sendo 2/3 da dose aplicadas nos estágios V<sub>3</sub> e V<sub>4</sub>, antes do alagamento (10 dias após emergência), e 1/3 em cobertura no perfilhamento. Na adubação de base foram aplicados 90 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O (cloreto de potássio) e 60 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (superfosfato triplô). Cada parcela foi composta por 13 linhas, espaçadas 0,17 m, com 6 m de comprimento, totalizando uma área de 13,26 m<sup>2</sup>. Para controle fitossanitário e manejo da água foram utilizados procedimentos recomendados por SOSBAI (2007).

Foi avaliado o estande inicial de plantas, o número de colmos por metro linear, o número de perfilhos, a produção de matéria seca da parte aérea, o rendimento de grãos e os componentes do rendimento, (grãos por panícula, peso de grão, número de panículas por m<sup>2</sup> e a esterilidade de espiguetas).

Os resultados foram submetidos à análise da variância pelo programa estatístico SISVAR, e as médias comparadas pelo teste de Tukey.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A inoculação dos rizóbios VP 16 e Lc 348 e das bactérias do gênero *Azospirillum* determinaram respostas positivas para a maioria das variáveis analisadas. Estas respostas aumentaram quando os rizóbios foram inoculados em conjunto com *Azospirillum*. Plantas inoculadas com estas bactérias e que receberam 60 kg de N ha<sup>-1</sup> apresentaram maior altura, massa seca da parte aérea, rendimento de grãos (Tabela 1), número de perfilhos por planta e para a maioria das variáveis do componente de rendimento (Tabela 2) em relação ao tratamento controle com 120 kg ha<sup>-1</sup> de N. Observou-se que estes microrganismos promovem o crescimento de plantas de arroz, especialmente quando inoculados em conjunto.

A aplicação de 120 kg ha<sup>-1</sup> de N não proporcionou respostas muito superiores em relação à dose de 60 kg ha<sup>-1</sup> de N nos tratamentos sem inoculação de bactérias para as variáveis analisadas neste experimento. Isto evidencia o somatório de vários mecanismos de promoção de crescimento, como a FBN promovida por *Azospirillum* e a produção de fitoreguladores por ambos os grupos de microrganismos para explicar a promoção de crescimento do arroz. Em trabalhos conduzidos por Shoenfeld et al (2006) e Frizzo (2007), os isolados Lc 348 e VP 16 se destacaram pela alta produção de ácido indol acético (AIA), um fitoregulador do grupo das auxinas.

Resultados semelhantes foram obtidos em outros trabalhos, Pedraza et al. (2009) obtiveram um aumento de produtividade de 18,92% com a inoculação de estirpes de *Azospirillum*. Nas Filipinas, observou-se que o aumento na biomassa das plantas de arroz, inoculadas com rizóbios, levou a um aumento de 16% na produção de grãos (PENG et al., 2002).

**Tabela 1.** Altura de plantas, Massa Seca da Parte Aérea (MSPA) e Rendimento de grãos de arroz irrigado inoculado com bactérias diazotróficas em duas doses de N.

Tratamentos	N (kg ha <sup>-1</sup> )	Altura (cm)	MSPA (Mg ha <sup>-1</sup> )	Rendimento de grãos (kg ha <sup>-1</sup> )
Controle	60	85,45 ns	10,7	5822,8
	120	86,8	11,5	6122,0
VP 16	60	87,7	11,7	5800,7
	120	88,1	11,4	6163,5
Lc 348	60	87,0	11,6	6117,8
	120	88,0	11,5	6345,2
<i>Azospirillum</i>	60	88,9	12,1	6512,3
	120	88,1	11,3	6484,7
VP 16 +	60	89,3	12,5	6292,7
<i>Azospirillum</i>	120	88,9	12,9	6215,5
Lc 348 +	60	88,5	12,0	6428,1
<i>Azospirillum</i>	120	89,2	12,5	6620,2
CV (%)		2,1	10,0	8,1

ns = não significativo (P<0,05).

**Tabela 2.** Componentes do rendimento e número de perfilhos de arroz irrigado inoculado com bactérias diazotróficas em duas doses de N.

Tratamentos	N (kg ha <sup>-1</sup> )	Grãos/Panícula	Peso do grão (g)	Panículas/m <sup>2</sup>	Esterilidade (%)	Perfilhos/planta
Controle	60	51,54 ns	6,16 ns	427,94 ns	2,91 ns	1,43 ns
	120	52,22	5,98	448,53	2,71	1,34
VP 16	60	56,87	6,01	441,18	2,96	1,81
	120	49,56	6,15	448,53	3,34	1,35
Lc 348	60	54,75	6,15	415,44	3,23	1,77
	120	50,83	5,91	426,47	3,14	1,44
<i>Azospirillum</i>	60	50,85	5,89	494,85	3,14	1,60
	120	47,52	6,1	423,53	2,66	1,47
VP 16 +	60	60,40	5,89	480,88	4,00	1,82
<i>Azospirillum</i>	120	51,66	5,96	497,79	4,89	1,35
Lc 348 +	60	54,26	6,04	461,03	2,53	1,75
<i>Azospirillum</i>	120	48,07	5,97	530,15	3,24	1,95
CV (%)		11,69	5,30	15,04	31,13	32,10

ns = não significativo (P<0,05).

Plantas que receberam a inoculação conjunta de VP 16 e *Azospirillum* apresentaram aumento de 1,9 Mg ha<sup>-1</sup> de matéria seca da parte aérea em comparação ao tratamento controle na dose de 60 kg de N ha<sup>-1</sup> (Tabela 1) e um aumento de 1,5 Mg ha<sup>-1</sup> de matéria seca da parte aérea em comparação ao controle com 120 kg de N ha<sup>-1</sup>. Estes aumentos representam incrementos de 14,8 e 10,5 % respectivamente.

Já o rendimento de grãos das plantas na dose de 60 kg ha<sup>-1</sup> de N teve um acréscimo relativo de 10,6 % com relação às inoculadas com *Azospirillum* (Tabela 1). As plantas que receberam dose de 120 kg ha<sup>-1</sup> de N e inoculação conjunta de Lc 348 e *Azospirillum*

apresentaram maior rendimento de grãos em relação às plantas controle, sem inoculação, com um aumento de 7,5% no rendimento.

## CONCLUSÃO

A inoculação de rizóbios nativos, isolados de nódulos de cornichão e trevo branco, e de *Azospirillum*, isoladamente ou em conjunto, promove o crescimento de plantas de arroz cultivadas sob alagamento.

A inoculação de diazotróficos com 60 kg ha<sup>-1</sup> de N pode aumentar o rendimento de grãos mais que 120 kg ha<sup>-1</sup> de N.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BALDANI, J.I.; CARUSO, L.V.; BALDANI, V.L.D.; GOI, S.R.; DOBEREINER, J. Recent advances in BNF with non-legumes plants. *Soil Biology and Biochemistry*, 29:911-922, 1997.
- BISWAS, J.C.; LADHA, J.K.; DAZZO, F.B; YANNI, Y.G.; ROLFE, B.G. Rhizobial inoculation influences seedling vigor and yield of rice. *Agronomy Journal*, 92: 880-886, 2000.
- CHEN, X.; FENG, J.; HOU, B.; LI, F.; LI, Q.; HONG, G. Modulating DNA bending affects NodD-mediated transcriptional control in *Rhizobium leguminosarum*. *Nucleic Acids Research*, 33: 2540-2548, 2005.
- CHI, F.; SHEN, S.H.; CHENG, H.P.; JING, Y.X.; YANNY, Y.G.; DAZZO, F.B. Ascending migration of endophytic rhizobia, from roots to leaves, inside rice plants and assessment of benefits to rice growth physiology. *Applied and Environmental Microbiology*, 71:7271-7278, 2005.
- DUTTA, S.; MISHRA, A.K.; DILEEP KUMAR, B.K. Induction of systemic resistance against fusarial wilt in pigeon pea through interaction of plant growth promoting rhizobacteria and rhizobia. *Soil Biology & Biochemistry*, 40: 452-461, 2007.
- EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Sistema Brasileiro de Classificação de solos. Brasília: EMBRAPA, 1999, 142p.
- FRIZZO, M.L.S. Seleção e Caracterização de rizóbios nativos, de solos do Rio Grande do Sul, para *Lotus corniculatus* L. e *Lotus uliginosus* Schkuhr. 2007. 68 f. Dissertação (Mestrado) – Departamento de Solos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- OSORIO FILHO, B., 2009. Rizóbios eficientes em Lotus em condições de estresse hídrico e promotores de crescimento em arroz irrigado. Tese de doutorado. Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- PEDRAZA, R.O.; BELLONEA, C.H.; BELLONEA, S.C. DE; 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*, 45: 36-43, 2009.
- PENG, S. et al. Influence of Rhizobial inoculation on rice photosynthesis. *Agronomy Journal*, 94: 925-929, 2002.
- RODRIGUEZ, H.; FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances*, 17: 319-339, 1999.
- SASAKI, K.; IKEDA, S.; EDA, S.; MITSUI, H.; HANZAWA, E.; KISARA, C.; KAZAMA, Y.; KUSHIDA, A.; SHINANO, T. MINAMISAWA, K. SATO, T. Impact of plant genotype and nitrogen level on rice growth response to inoculation with *Azospirillum* sp. strain B510 under paddy field conditions. *Soil Science and Plant Nutrition* 56: 636-644, 2010.
- SCHOENFELD, R.; ALVES, J.B.; SCHUH, C.; BINZ, A.; OSÓRIO FILHO, B.D.; SILVEIRA, M.S.; SELBACH, P.A.; CAMARGO, F.A.O.; DE SÁ, E.L.S. Rizóbios como promotores de crescimento em plantas de arroz (*Oryza sativa*) irrigado por alagamento. In: FERTIBIO. 2006. Anais. Bonito- MS, Embrapa, 2006. CD-ROM
- SOSBAI - Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado. Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil. Pelotas: SOSBAI, 2007. 154p.
- STEENHOUDT, O. & VANDEREYDEN, J. *Azospirillum*, a free-living nitrogen fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. *FEMS Microbiology Reviews*, 24:487-506, 2000.
- YANNI, Y. G., R. Y. RIZK, V. CORICH, A. SQUARTINI, K. NINKE, S. PHILIP HOLLINGSWORTH, G. ORGAMBIDE, F. DE BRUIJN, R. STOLTZFUS, D. BUCKLEY, T. SCHMIDT, P. F. MATEOS, J. K. LADHA, AND F. B. DAZZO. Natural endophytic association between *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifoli* and rice roots and assessment of its potential to promote rice growth. *Plant Soil*, 194:99-114, 1997.