

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS  
PRO-REITORIA DE GRADUAÇÃO  
ESCOLA POLITÉCNICA E DE ARTES  
CURSO DE AGRONOMIA**

**SCREENING DE BACTÉRIAS COM POTENCIAL PARA  
PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO E ANTAGONISMO AOS  
PATÓGENOS DO ARROZ**

Maria Fernanda Gonçalves Godoi Moura

Goiânia

2024

MARIA FERNANDA GONÇALVES GODOI MOURA

**SCREENING DE BACTÉRIAS COM POTENCIAL PARA  
PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO E ANTAGONISMO AOS  
PATÓGENOS DO ARROZ**

Documento apresentado como requisito parcial para composição de média final na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso, do curso de graduação em Agronomia, da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, PUC-Goiás.

Orientador: Prof. Ana Maria da Silva Curado Lins

Co-orientadora: Dra. Marta Cristina Corsi de Filippi

Goiânia

2024

MARIA FERNANDA GONÇALVES GODOI MOURA

**SCREENING DE BACTÉRIAS COM POTENCIAL PARA  
PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO E ANTAGONISMO AOS  
PATÓGENOS DO ARROZ**

BANCA EXAMINADORA

---

Presidente

Prof<sup>a</sup> Msc Ana Maria da Silva Curado Lins  
Pontifícia Universidade Católica de Goiás

---

Membro I

Prof<sup>a</sup>. Dra. Marta Cristina Corsi de Filippi  
Embrapa Arroz e Feijão

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Laysla Coelho

Pontifícia Universidade Católica de Goiás

Aprovada em \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_.

## DEDICATÓRIA

Dedico todo este trabalho aos meus familiares, principalmente aos meus pais, Lívian Godoi e Eduardo Moura, que nunca me desampararam nesses 5 anos de curso, e sempre me apoiaram do início ao fim.

*“Consagre ao Senhor tudo o que você faz, e os seus planos serão bem sucedidos.”*  
Provérbios 16:3

## AGRADECIMENTOS

“Não fui eu que ordenei a você? Seja forte e corajoso! Não se apavore nem desanime, pois o Senhor, o seu Deus, estará com você por onde você andar”.

Josué 1:9.

Primeiramente, obrigada Senhor por nunca permitir que eu desistisse do meu sonho de me formar.

Aos meus pais, Lívian Godoi e Eduardo Moura, meus familiares, meu namorado, a todos que por diversas vezes me viram com medo de não conseguir finalizar esse processo, e me deram forças para continuar, minha gratidão eterna.

Aos meus professores, muito obrigada por participarem desse processo de formação, e me ensinarem tudo que sei.

Às instituições de ensino pelas quais passei durante esses 5 anos de graduação, PUC GO, Embrapa Arroz e Feijão, CNPQ, SENAR, gratidão por todo o tempo de ensinamento.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	1
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	1
<b>RESUMO</b> .....	1
<b>ABSTRACT</b> .....	2
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	3
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	5
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	6
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	12
4.1 Etapa I .....	12
4.1.1 Repicagem e manutenção de bactérias .....	12
4.1.2 Teste de antagonismo .....	12
4.2 Etapa II – Testes bioquímicos .....	13
4.2.1 Solubilização de fosfato .....	13
4.2.3 Solubilização de potássio .....	13
4.2.4 Solubilização de zinco .....	13
4.2.5 Fixação de N <sub>2</sub> .....	14
4.2.6 Produção de HCN .....	14
4.3 Etapa III .....	15
4.3.1 Seleção de bactérias para o experimento .....	15
4.3.2 Teste de compatibilidade entre microrganismos .....	15
4.3.3 Promoção de crescimento <i>In Vitro</i> .....	15
4.3.4 Plantio em copos na casa de vegetação .....	16
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	17
5.1 Etapa I .....	17
5.1.1 Teste de viabilidade e antagonismo .....	17
5.2 Etapa II .....	20
5.2.1 Solubilização de fosfato .....	20
5.3 Solubilização de potássio .....	21
5.4 Solubilização de zinco .....	22
5.5 Produção de HCN .....	23
5.6 Fixação de N <sub>2</sub> .....	23

5.7 Teste de compatibilidade .....	24
<b>6. RESULTADOS DA CASA DE VEGETAÇÃO .....</b>	<b>25</b>
<b>7. CONCLUSÃO .....</b>	<b>33</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>34</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema de estrutura do grão de arroz ( <i>Oryza Sativa</i> ) .....	7
Figura 2 - Micrografia do fungo <i>Rhizoctonia solani</i> causador da rizoctiose que tem como sintoma a queima da bainha do arroz.....	8
Figura 3 - Fotomicrografia de conídeos do fungo <i>Magnaporthe oryzae</i> causador do brusone no arroz, que provoca perdas de grãos por formação de espiguetas vazias.....	9
Figura 4 - Conídeo do fungo <i>Bipolaris oryzae</i> e os sintomas típicos de mancha - parda nas folhas do arroz .....	11
Figura 5 - Resultados dos testes de antagonismo realizados com as cinco bactérias selecionadas, Fungo <i>Magnaporthe oryzae</i> e bactérias (1) 240F; (2) 34F; (3) 36F1; (4) 7Fa; (5) 43Fb2; (6) 188F; (7) 25F1; (8) 250Fa; (9) 25F; (10) 11F; (11) 19Fa; (12) 200Fa; (13) 181Fa2 .....	18
Figura 6 - Resultados dos testes de antagonismo realizados com as cinco bactérias selecionadas, Fungo <i>Bipolaris oryzae</i> e bactérias (1)240F; (2)34F; (3)36F1; (4)7Fa; (5)43Fb2; (6)188F; (7)25F1; (8)250Fa; (9)25F; (10)11F; (11)19Fa; (12)200Fa; (13)181Fa2 .....	19
Figura 7 - Resultados dos testes de antagonismo realizados com as cinco bactérias selecionadas, Fungo <i>Rhizoctonia solani</i> e bactérias (1)240F; (2)34F; (3)36F1; (4)7Fa; (5)43Fb2; (6)188F; (7)25F1; (8)250Fa; (9)25F; (10)11F; (11)19Fa; (12)200Fa; (13)181Fa2 .....	20
Figura 8 - Resultados dos testes de solubilização de fosfato .....	21
Figura 9 - Resultados dos testes de solubilização de potássio .....	22

Figura 10 - Resultados dos testes de solubilização de zinco .....	22
Figura 11 - Resultados dos testes de produção de HCN .....	23
Figura 12 - Resultados dos testes de fixação de N <sub>2</sub> .....	23
Figura 13 – Resultados dos testes de compatibilidade .....	24

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição centesimal média (% na matéria seca) de arroz integral, branco polido e parbolizado polido .....	7
Tabela 2 - Relação dos tratamentos realizados no teste de crescimento In Vitro das bactérias testadas .....	15
Tabela 3 - Relação dos 48 isolados iniciais que foram testados na etapa 1 .....	17
Tabela 4 - Resultados obtidos a partir do teste de solubilização de fosfato .....	22
Tabela 5 - Resultados obtidos a partir do teste de solubilização de potássio .....	22
Tabela 6 - Resultados obtidos a partir do teste de solubilização de zinco .....	23
Tabela 7 - Comprimento da parte aérea do arroz .....	29
Tabela 8 - Comprimento da raiz do arroz .....	29
Tabela 9 - Massa fresca da parte aérea do arroz .....	30
Tabela 10 - Massa fresca da raiz do arroz .....	30
Tabela 11 - Massa seca da parte aérea do arroz .....	31



# **SCREENING DE BACTÉRIAS COM POTENCIAL PARA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO E ANTAGONISMO AOS PRINCIPAIS PATÓGENOS DO ARROZ**

## **SCREENING OF BACTERIA WITH POTENTIAL FOR PROMOTING GROWTH AND SUPPRESSION OF RICE DISEASES**

Maria Fernanda G Godoi Moura<sup>1</sup>, Gustavo de Andrade Bezerra<sup>2</sup>, Marta Cristina Corsi de Filippi<sup>3</sup>

Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Escola Politécnica e de Artes, Goiânia GO,  
Prime Agro, Uberlândia MG,  
Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás

### **RESUMO**

Os microrganismos benéficos têm recebido protagonismo no cenário agrícola atual por intensificar a produtividade e proteger as culturas contra o ataque de patógenos e pragas. O presente trabalho selecionou bactérias com potencial para promoção de crescimento. As bactérias oriundas de isolamentos de folhas de arroz de terras altas advindos do estado do Pará foram selecionadas por meio de antagonismos entre patógenos do arroz (*Magnaporthe oryzae*, *Bipolaris oryzae* e *Rhizoctonia solani*), totalizando 48 isolados bacterianos. Foram realizados dois ensaios: 1º Antagonismo e repicagem e manutenção de bactérias e 2º Testes Bioquímicos. Após seleção massal dos isolados, foram selecionados 13 isolados (188F, 25F1, 43FB2, 250Fa, 25F, 11F, 19Fa, 240F, 34F, 36F1, 200Fa, 181Fa2 e 7Fa) para caracterização bioquímica de solubilização de fósforo, potássio e zinco, produção de ácido cianídrico (HCN) e fixação de nitrogênio. Os dados coletados foram submetidos análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade utilizando o software SPSS versão 21.0. Os resultados desse teste levaram 5 isolados dos 13 (240F, 34F, 36F1, 7Fa, 43Fb2), a serem selecionados, já que os mesmos responderam bem aos testes bioquímicos. Concluiu-se que estes isolados são capazes de solubilizar fósforo, potássio e zinco, e fixar nitrogênio, melhorando assim, o crescimento radicular, regulando a osmose, o desenvolvimento hormonal e aumentando a produtividade do arroz.

Palavras-chave: Microrganismos; *Oryza sativa*, *Magnaporthe oryzae*, *Bipolaris oryzae* e *Rhizoctonia solani*.

## ABSTRACT

Beneficial microorganisms have been gaining prominence in the current agricultural scenario for increasing productivity and protecting crops against pathogens and pests. This study selected bacteria with potential for growth promotion. Bacteria from upland rice leaf isolates from the state of Pará were selected through antagonisms between rice pathogens (*Magnaporthe oryzae*, *Bipolaris oryzae* and *Rhizoctonia solani*), totaling 48 bacterial isolates. Two tests were performed: 1st Antagonism and subculture and maintenance of bacteria and 2nd Biochemical Tests. After mass selection of the isolates, 13 isolates (188F, 25F1, 43FB2, 250Fa, 25F, 11F, 19Fa, 240F, 34F, 36F1, 200Fa, 181Fa2 and 7Fa) were selected for biochemical characterization of phosphorus, potassium and zinc solubilization, hydrocyanic acid (HCN) production and nitrogen fixation. The collected data were subjected to analysis of variance and the means were compared by Tukey's test at 5% probability using SPSS software version 21.0. The results of this test led to 5 isolates of the 13 (240F, 34F, 36F1, 7Fa, 43Fb2) being selected, since they responded well to the biochemical tests. It was concluded that these isolates are capable of solubilizing phosphorus, potassium and zinc, and fixing nitrogen, thus improving root growth, regulating osmosis, hormonal development and increasing rice productivity. Keywords: Microorganisms; *Oryza sativa*, *Magnaporthe oryzae*, *Bipolaris oryzae* and *Rhizoctonia solani*.

## 1. INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa*) é cultivado e consumido em todos os continentes, um alimento básico da dieta para cerca de 2,5 bilhões de pessoas. Segundo estimativas feitas pela FAO (*Food and Agriculture Organization*), até 2050, haverá uma demanda para atender ao dobro dessa população. É considerado um cereal de grande relevância em países em desenvolvimento, principalmente na Ásia e Oceania, onde vivem 70% da população mundial subnutrida (Silva; Wander, 2023). No Brasil, desempenha papel estratégico em níveis econômico e social (FAO, 2006).

A área total plantada com arroz no Brasil em 2018 foi de aproximadamente 1,97 milhão de hectares, com produção de 12 milhões de toneladas. O arroz irrigado por inundação é plantado principalmente nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Tocantins. A área cultivada nesse sistema representa 72,6% do total de área plantada com arroz e, 89% da produção nacional (CONAB, 2018).

Na busca da sustentabilidade da agricultura moderna podem ser utilizados recursos como a microbiolização de sementes que consiste em tratar sementes com microrganismos objetivando combater doenças bem como favorecer o desenvolvimento das plantas (TEODORO et al., 2016).

O reconhecimento das bactérias benéficas e a consequente associação destas com a planta hospedeira, são relatados como evolutivamente essenciais para o surgimento dos vegetais (HECKMAN, 2001) e determinantes para a manutenção da saúde e produtividade das plantas no ambiente em que vivem (BERENDSEN et al., 2012). Isso ocorre pela capacidade que as plantas têm em reconhecer moléculas associadas a microrganismos e ativar respostas dentro da célula. Essas moléculas são proteínas receptoras de reconhecimento de padrões localizados principalmente na membrana plasmática das plantas (ANKATI; PODILE, 2018).

A utilização de microrganismos na forma de inoculantes biológicos pode auxiliar o mercado agrícola, por ser uma das técnicas mais eficazes para substituir os métodos tradicionais de fertilização com fertilizantes ureicos. Estes, são utilizados principalmente para culturas de leguminosas. No cultivo do arroz,

não há inoculante nacional no mercado brasileiro, pois o processo de fixação biológica de nitrogênio no arroz, não é tão eficaz quanto no feijão, e os resultados de experimentos são controversos relacionados à baixa sobrevivência microbiana no solo e necessidade de uma nova inoculação das plantas após a germinação (BEVIVINO et al., 2000; HARTMANN et al., 2009; HUNGRIA et al., 2010).

Os microrganismos benéficos têm recebido protagonismo no cenário agrícola atual por intensificar a produtividade e proteger as culturas contra o ataque de patógenos e pragas. Tendo em vista isso, o presente trabalho tratou de selecionar bactérias benéficas com potencial atividade bioquímica de promoção de crescimento.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Geral

O objetivo deste trabalho foi identificar e caracterizar isolados bacterianos com potencial para promoção de crescimento e antagonismo aos principais patógenos do arroz, visando, possivelmente, eleger agentes biológicos para o desenvolvimento de bioprodutos que possam uma alternativa sustentável aos métodos tradicionais de manejo das doenças do arroz.

### 2.2 Específico

- Caracterizar bioquimicamente os diferentes isolados bacterianos com testes de antagonismo e bioquímicos.
- Selecionar isolados antagonistas aos patógenos do arroz (*Magnaporthe oryzae*, *Bipolaris oryzae* e *Rhizoctonia solani*).
- Selecionar os isolados promotores de crescimento de plantas.

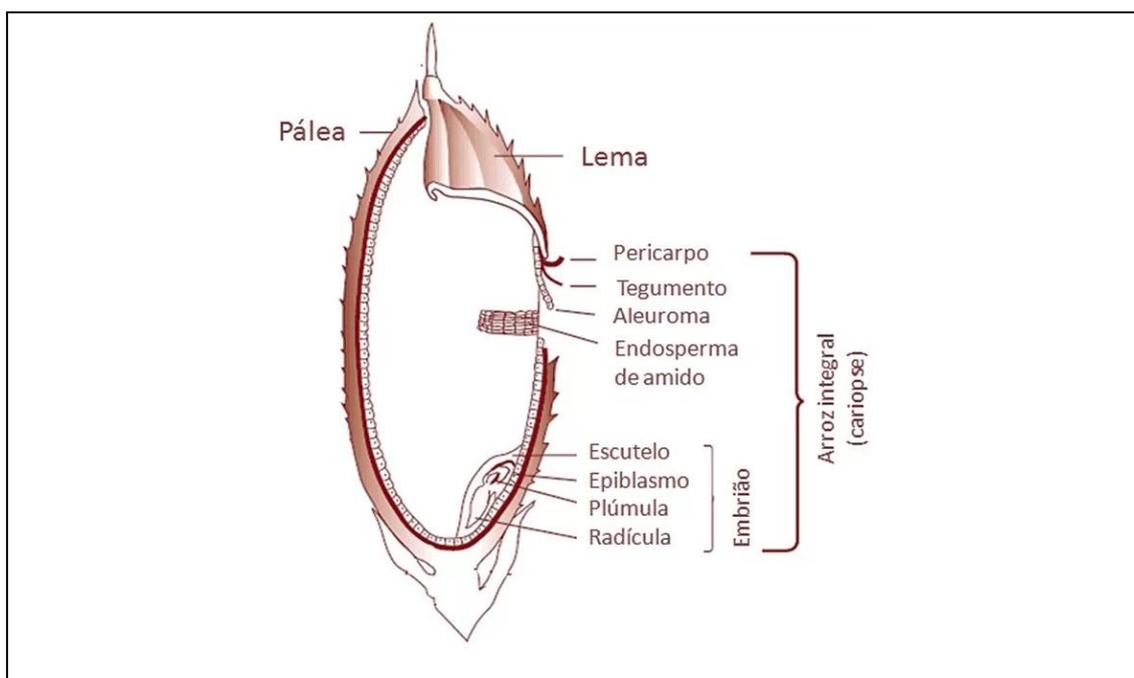
### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O arroz (*Oryza sativa*) é um dos cereais mais produzidos e consumidos no mundo, caracterizando-se como principal alimento para mais da metade da população mundial (FAO, 2006; VICENTE, 2023).

Conforme os dados da Embrapa Arroz e Feijão, a partir dos dados de acompanhamento de safras do Levantamento Sistemático Agrícola (LSPA), do Instituto Brasileiro de Geografia Estatística (IBGE), no ano agrícola de 2022, a produção brasileira total de arroz foi 10,7 milhões de toneladas, colhidas em 1,6 milhão de hectares, com uma produtividade média de 6,6 toneladas por hectare. Portanto, com esta produção de arroz, atualmente, o Brasil está em nono lugar na classificação mundial de maior produtor de arroz e o maior fora da Ásia (SILVA; WANDER, 2023).

É um dos cereais de maior importância social e econômica, sendo o estado do Rio Grande do Sul o responsável por mais da metade da produção brasileira. Embora o agronegócio do arroz desfrute de condições favoráveis ao seu desenvolvimento, existem fatores de produção que podem restringir esta expansão, dentre eles o preço de alguns fertilizantes. Uma alternativa promissora, visando à redução do uso de fertilizantes e o aumento da produtividade das culturas, é a utilização de microrganismos benéficos associados às plantas, particularmente as diazotróficas (FERREITA et al., 2003; XIE et al., 2003; GUIMARÃES et al., 2003).

O grão de arroz consiste da cariopse e de uma camada protetora, a casca. A casca, composta de duas folhas modificadas, a pálea e a lema, corresponde a cerca de 20% do peso do grão. A cariopse é formada por diferentes camadas, sendo as mais externas o pericarpo, o tegumento e a camada de aleurona, que representam 5-8% da massa do arroz integral. A camada de aleurona apresenta duas estruturas de armazenamento proeminentes, os grãos de aleurona (corpos proteicos) e os corpos lipídicos. O embrião ou gérmen está localizado no lado ventral na base do grão, é rico em proteínas e lipídios, e representa 2-3% do arroz integral. O endosperma forma a maior parte do grão (89-94% do arroz integral) e consiste de células ricas em grânulos de amido e com alguns corpos proteicos (Figura 1).



**Figura 1:** Esquema da estrutura do grão de arroz (*Oryza sativa*) (*Rice Almanac: Source Book for the Most Important Economic Activity on Earth*). **Fonte:** JULIANO & BECHTEL, 1985.

A constituição principal do arroz é o amido, apresentando quantidades menores de proteínas, lipídios, fibras e cinzas (Tabela 1). Entretanto, a composição do grão e de suas frações está sujeita a diferenças varietais, variações ambientais, de manejo, de processamento e de armazenamento (ZHOU et al., 2002), produzindo grãos com características nutricionais diferenciadas. Além disso, os nutrientes não estão uniformemente distribuídos nas diferentes frações do grão. As camadas externas apresentam maiores concentrações de proteínas, lipídios, fibra, minerais e vitaminas, enquanto o amido se localiza no centro. Dessa forma, o polimento resulta em redução no teor de nutrientes, exceto de amido, originando as diferenças na composição entre o arroz integral e o polido.

**Tabela 1.** Composição centesimal média (% na matéria seca) de arroz integral, branco polido e parboilizado polido.

Constituinte	Arroz integral	Arroz branco polido	Arroz parboilizado polido
Amido total	74,10	87,58	85,08
Proteínas (Nx5,95)	10,46	8,94	9,44

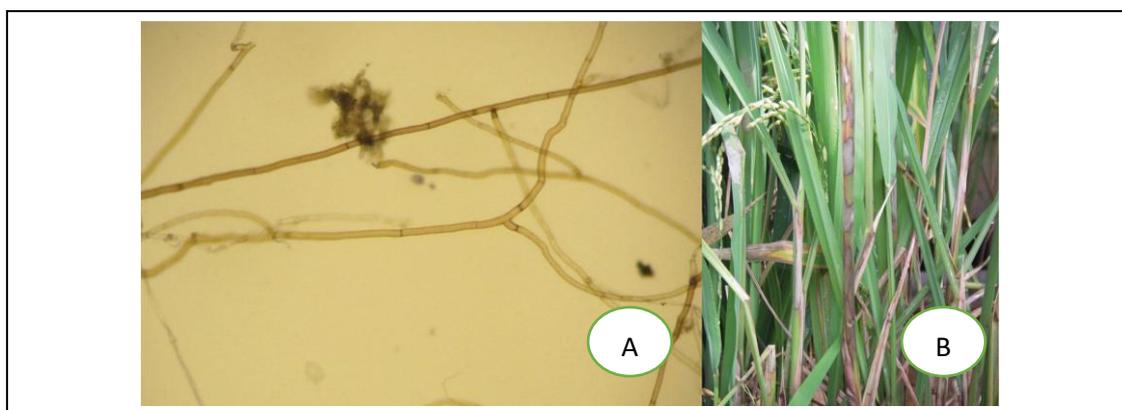
Lipídios	2,52	0,36	0,69
Cinzas	1,15	0,30	0,67
Fibra total	11,76	2,87	4,15
Fibra insolúvel	8,93	1,05	1,63
<b>Fibra solúvel</b>	<b>2,82</b>	<b>1,82</b>	<b>2,52</b>

Fonte: Adaptado de STORCK (2004).

O risco de infecção por pragas ou doenças nas plantações de arroz está presente durante qualquer uma de suas diferentes fases de crescimento (TIPPAYARAK et al., 2015).

O contágio do arroz por qualquer tipo de doença pode levar a perdas significativas de produção, aumento dos custos de produção e demanda insatisfeita, o que também ameaça a segurança alimentar da população. Portanto, um diagnóstico rápido pode minimizar perdas ou efeitos negativos, o que exige especialistas altamente experientes para identificar corretamente o tipo de doença (SETHY et al., 2020).

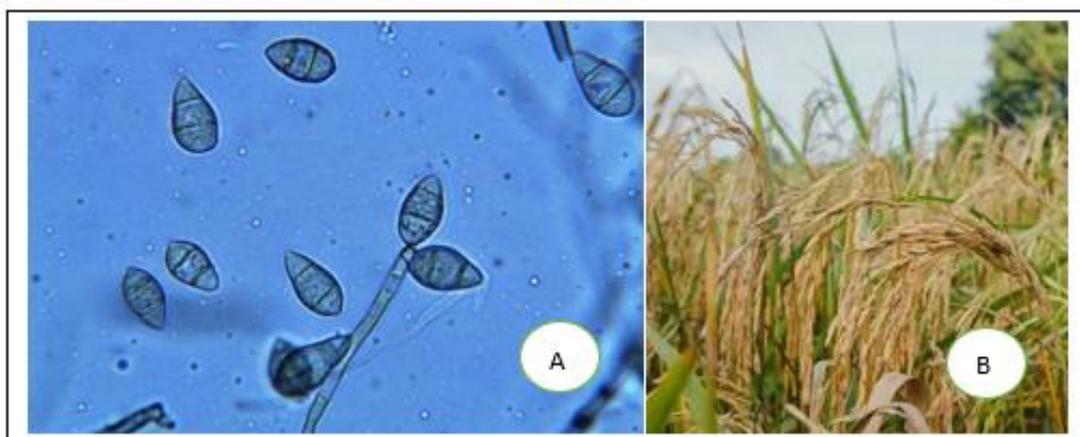
Dentre as doenças encontramos a queima das bainhas ou rizoctoniose, causada pelo fungo *Rhizoctonia solani* é uma doença que embora apresente baixa repercussão econômica nas lavouras do estado, tem aumentado de intensidade nos últimos anos, principalmente devido as alterações no manejo da cultura e a introdução de cultivares do tipo moderno: porte semi-anão e com grande número de afilhos (RIBEIRO, 1985).



**Figura 2:** **A.** Micrografia do fungo *Rhizoctonia solani* causador da rizoctiose (REVISTA CULTIVAR, 2021). **B.** Sintoma da queima da bainha no arroz ocasionada pela *R. solani* (REVISTA CULTIVAR, 2021).

A doença ocorre em área de produção localizadas em regiões tropicais e subtropicais onde o arroz que é cultivado em sistemas intensivos de produção apresenta maiores danos. No sul dos E.U.A, na Índia e China os prejuízos causados pela doença têm sido considerados importantes e levado inúmeros pesquisadores a buscar fontes de resistência à queima das bainhas (MANIAN, MANIBHUSHARAO, 1982; LEE, RUSH, 1983; MARCHETTI, 1983; SHA, ZHU 1990; GROTH, NOVICK, 1992).

A brusone (*Magnaporthe oryzae*) é considerada a doença mais importante do arroz. Os primeiros registros sobre sua ocorrência datam de 1600 e foram feitos na China. Também foi descrita atacando o trigo. As perdas são variáveis em função da variedade cultivada e dos fatores climáticos prevalecentes nas áreas de cultivo. No Brasil, alguns dados revelam perdas no peso de grãos da ordem de 8-14%, enquanto índices de 19-55% de espiguetas vazias foram observados em experimentos conduzidos em condições de campo (FILIPPI et al. 2001).



**Figura 3:** Fotomicrografia de conídeos do fungo *Magnaporthe oryzae* (A) causador do brusone no arroz, que provoca perdas de grãos por formação de espiguetas vazias (B) (Fonte: Suhadolnik L.M, 2014).

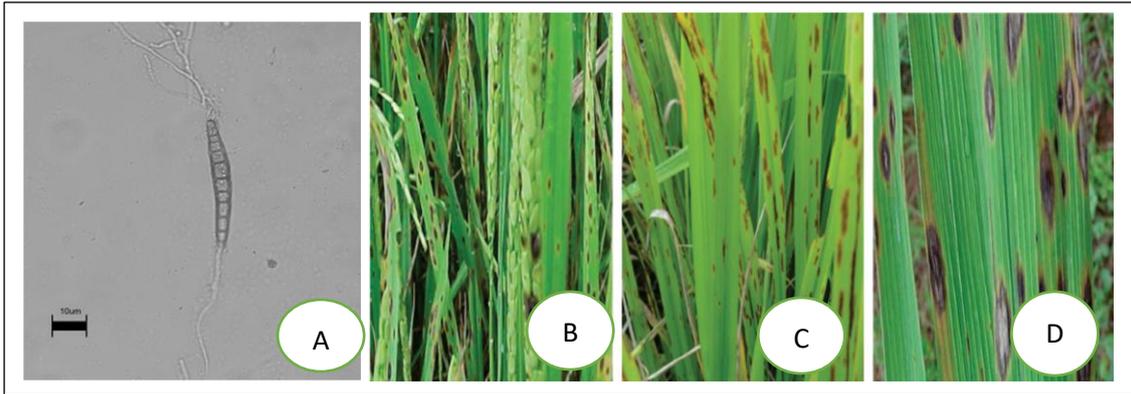
A brusone pode ocorrer em todas as partes aéreas da planta, desde os estádios iniciais de desenvolvimento até a fase final de produção de grãos. Nas folhas, os sintomas típicos iniciam-se por pequenos pontos de coloração castanha, que evoluem para manchas elípticas, com extremidades agudas, as quais, quando isoladas e completamente desenvolvidas, variam de 1-2 cm de comprimento por 0,3-0,5 cm de largura. Estas manchas crescem no sentido das

nervuras, apresentando um centro cinza e bordos marrom-avermelhados, às vezes circundadas por um halo amarelado. O centro é constituído por tecido necrosado sobre o qual são encontradas as estruturas reprodutivas do patógeno (TEBEEST, D. O.; GUERBER, C.; DITMORE, M. 2015)

A mancha parda doença fúngica que ataca o arroz (*Bipolaris oryzae*) está amplamente distribuída nas regiões orizícolas do mundo, sendo particularmente importante nas regiões tropicais. Em termos de perdas, a doença carrega o estigma de ter causado a famosa “fome de Bengala”, em 1942. Embora a doença tenha expressado seu potencial destrutivo naquela ocasião, as perdas atribuídas a ela não são tão drásticas. Chegam, porém, a ser significativas em função da suscetibilidade da variedade e da ocorrência de condições ambientais favoráveis (Nunes et al., 2004).

A importância da mancha parda tem sido subestimada pelo fato de ser frequentemente confundida com a brusone. Os danos associados à doença são decorrentes da infecção dos grãos, da redução na germinação das sementes, da morte de plântulas originadas de sementes infectadas e da destruição de área foliar. As perdas de produção em termos mundiais são muito variáveis. Redução da ordem de 30% já foi relatada para ensaios conduzidos com seis variedades na região norte do Brasil. A mancha parda normalmente ocorre tanto em culturas instaladas sob condições irrigadas como de sequeiro (GROHS et al., 2010; SCHWANCK, 2012).

Os sintomas são mais frequentemente encontrados nas folhas e nos grãos, embora possam ser observados também no coleóptilo, nas ramificações da panícula e na bainha. Nas folhas, as manchas jovens ou ainda não totalmente desenvolvidas são arredondadas, de coloração marrom, pequenas. As manchas típicas são ovaladas, de coloração marrom-avermelhada e normalmente apresentam um centro cinza, onde podem ser encontradas as estruturas reprodutivas do patógeno. As manchas ocorrem geralmente de forma isolada. Podem, porém, coalescer e tomar considerável área da folha (Figura 4) (BARNWAL et al., 2013).



**Figura 4:** Conídio do fungo *Bipolaris oryzae* (A) e os sintomas típicos de mancha-parda, nas folhas do arroz (B), e lesões atípicas (C e D) (Fonte: **A.** DUARTE, L.T; **B. C. D.** SILVA-LOBO, FILIPPI, 2017).

O uso de bioagentes constitui uma opção sustentável para aumentar a produção de culturas como o arroz. Espécies de rizobactérias promotoras de crescimento vegetal (RPCV) têm sido relatadas na literatura promovendo o crescimento e desenvolvimento vegetal por meio da sinalização química que intensificam o metabolismo das vias de hormônios vegetais, como auxinas, citocininas e giberelinas (AHEMAD; KILBRET, 2014); de enzimas relacionadas ao estresse oxidativo (RAJ et al., 2012); com as alterações estruturais e bioquímicas nas células das plantas, induzindo, assim, a resistência sistêmica de plantas (FILIPPI et al., 2011) e de absorção de macronutrientes como N e P, melhorando características fisiológicas como aumento em taxas fotossintéticas (NASCENTE et al., 2017).

O estudo das interações planta e microrganismos vem se intensificando nos últimos anos, com o intuito de entender os vários fatores envolvidos para a seleção de estirpes de bactérias eficientes na promoção de crescimento das grandes culturas. A utilização de bactérias na formulação de inoculantes, ou biofertilizantes, vem sendo utilizada e estudada em várias partes do mundo, sendo relatado que estas tecnologias podem reduzir os custos de produção e impacto ambiental e aumentar a produtividade das culturas (ISAWA et al., 2010; BHATTACHARYYA; JHA, 2012).

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi realizado no laboratório de Fitopatologia da Embrapa Arroz Feijão, km 12 - Zona Rural, GO-462, Santo Antônio de Goiás-GO, 75375-000, no período de 2021-2022.

Os isolados bacterianos utilizados pertencem a coleção de microrganismos da Embrapa Arroz Feijão.

### **4.1 Etapa I**

#### **4.1.1 Multiplicação e manutenção de bactérias**

Os isolados bacterianos foram transferidos para placas de petri, usando o meio de cultura Ágar nutriente, preparado com 20g para 1L de água destilada, autoclavado a 40 minutos para esterilização, e disposto em placas de petri descartáveis de 60x15mm (Manual de metodologias laboratoriais, EMBRAPA 2020).

Riscou-se cada bactéria em uma placa de petri descartável com meio de cultura ágar nutriente e colocadas em estufa de crescimento por 48h. Posteriormente uma única colônia foi selecionada, e foi transferida com uma alça descartável para micro-tubos (ependorf) de 2 ml contendo 1,0 ml de glicerol 5% (Manual de metodologias laboratoriais, EMBRAPA 2020).

#### **4.1.2 Teste de Antagonismo**

O objetivo do teste de antagonismo, é verificar a capacidade das bactérias dos isolados selecionados de reduzir o crescimento micelial do fungo patogênico.

Os fungos antagonistas a serem testado, *Rhizoctonia Solani*, *Pyricularia Oryzae*, e *Bipolaris*, foram cultivados em placas de Petri descartáveis de 90x15 mm com meio de cultura BDA preparados com 200 ml de caldo de batata, 18 g de dextrose, 16 g de ágar, para 1L de água destilada. Foi disposto um pequeno pedaço do fungo que foi extraído da sua placa de crescimento, no centro de outra placa de petri apenas com meio BDA. Após a disposição dos fungos, foram riscadas 4 bactérias em volta do fungo, postas para crescer.

## **4.2 Etapa II - Testes Bioquímicos**

### **4.2.1 Solubilização de Fosfato**

Para o ensaio de solubilização de fosfato os isolados foram cultivados em meio NBRIP modificado sem corante, preparado com 10g de glicose, 5g de  $MgCl_2 \cdot 7H_2O$  (cloreto de magnésio), 0,25 gramas de  $MgSO_4$  (sulfato de magnésio), 0,2g de KCl (cloreto de potássio), 0,1g de  $(NH_4)_2SO_4$  (sulfato de amônio), 0,15g de vermelho de fenol, 15g de ágar, 850ml de  $H_2O$  destilada, adicionando mais 100ml de  $K_2PO_4$  a 10% (fosfato de potássio diabásio), e 50ml de uma solução de  $CaCl_2$  (cloreto de cálcio) a 10%, e PH ajustado para 7,0. Após a mistura dos reagentes, a solução foi autoclavada por 40 minutos e distribuída em Placas de Petri descartáveis de 60x15mm. As placas foram mantidas em BOD por 7 dias. A formação de halo em torno das colônias indicou a produção de fosfatase (Manual de metodologias laboratoriais, EMBRAPA 2020).

### **4.2.3 Solubilização De Potássio**

Para detectar a solubilização de potássio, o meio utilizado para cultivar os isolados foi o pikovskaya modificado, preparado com 0,5g de extrato de levedura, 10g de glicose, 5g de  $KNO_3$  (nitrato de potássio), 0,5g de  $(NH_4)_2SO_4$  (sulfato de amônio), 0,2g de KCl (cloreto de potássio), 0,1g de  $MgSO_4$  (sulfato de magnésio), 0,0001g de  $MnSO_4$  (sulfato de manganês), 15g de ágar, 100ml de  $H_2O$  destilada, 0,026g de verde de bromocresol, e PH ajustado para 7,0. Após a mistura dos reagentes, a solução foi autoclavada a 40 minutos e disposta, também, nas placas de petri. Em ambas as placas dos dois meios, foram pipetados 20 $\mu$ l das bactérias no centro da placa com o meio e posto na estufa de crescimento. As placas foram mantidas em BOD por 7 dias. A formação de halo em torno das colônias indicou a produção de potássio (Manual de metodologias laboratoriais, EMBRAPA 2020).

### **4.2.4 Solubilização de Zinco**

Outro ensaio realizado foi o de solubilização de Zn, onde o meio de cultivo foi preparado com 2g de glicose, 0,2g de  $K_2PO_2$  (fosfato de potássio diabásio), 1,5g de peptona, 0,2g de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  (sulfato de magnésio), 2g de extrato de

levedura, 1,5g de ácido glutâmico, 1,2g de ZnO (óxido de zinco), 15g de ágar, 1L de H<sub>2</sub>O destilada e PH ajustado para 6,0. As placas foram mantidas em BOD por 7 dias. A formação de halo em torno das colônias indicou a produção de zinco (Manual de metodologias laboratoriais, EMBRAPA 2020).

#### **4.2.5 Fixação de N<sub>2</sub>**

Preparou-se uma solução contendo 5g de manitol, 5g de sacarose, 0,4g/l de K<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (fosfato de potássio diabásio), 0,4g/l de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (fosfato de potássio monobásico), 0,2g/l de MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (sulfato de magnésio), 0,02g/l de CaCl<sub>2</sub> (cloreto de cálcio) 0,002g/l de NaMoO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O (molibdato de sódio), 0,01g de FeCl<sub>3</sub> (cloreto de ferro III), 0,075g de brotimol, 2,3g de ágar e PH ajustado para 5,7, onde foram transferidos para tudo falcon, contendo aproximadamente 10ml do meio preparado e pipetados 20 µl de cada isolado no mesmo. A avaliação desse ensaio, consiste na mudança de cor do meio de cultura quando a bactéria indica a fixação de nitrogênio (Manual de metodologias laboratoriais, EMBRAPA 2020).

#### **4.2.6 Produção de HCN**

Os isolados foram cultivados em meio preparado com 10g de peptona, 5g de extrato de levedura, 5g de NaCl (cloreto de sódio), 4,4g de glicina, 0,081g de FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O (cloreto de ferro III) e 15g de ágar. Separadamente, foi preparado uma solução de ácido pípico [5g de ácido pípico + 5g de NaCO<sub>3</sub> (carbonato de sódio) para 100ml de H<sub>2</sub>O destilada], que foi adicionada num papel filtro posto na tampa da placa de petri descartável de 60x15mm.

Foram pipetados 20µl das bactérias no centro da placa com o meio e posto na estufa de crescimento. A avaliação desse ensaio é feita a partir da mudança de cor do papel filtro contendo o ácido cianídrico. Se o papel muda de cor, a bactéria produz o ácido (Manual de metodologias laboratoriais, EMBRAPA 2020).

### 4.3 Etapa III

#### 4.3.1 Seleção De Bactérias Para O Experimento

A partir dos ensaios citados anteriormente, foram selecionadas 5 bactérias que reagiram com resultados positivos aos testes. São elas: (1) 240F, (2) 34F, (3) 36F1, (4) 7Fa, (5) 43Fb2.

#### 4.3.2 Teste De Compatibilidade Entre Microrganismos

Foi feito o Teste de compatibilidade entre microrganismos. Em uma Placa de Petri descartável 90x15mm fragmentada em 5 partes, contendo ágar nutriente (preparado com 20g de ágar para 1L de H<sub>2</sub>O destilada), pipetou-se 5 µl de cada bactéria (1) 240F, (2) 34F, (3) 36F1, (4) 7Fa, (5) 43Fb2 uma ao lado da outra. As placas foram transferidas para a BOD. Avaliou-se o crescimento das colônias (Manual de metodologias laboratoriais, EMBRAPA 2020).

#### 4.3.3 Promoção De Crescimento *In Vitro*

A partir do resultado do teste de compatibilidade de microrganismos, iniciou-se a promoção de crescimento *in vitro* do arroz BRSA501 (arroz) que foram organizados 12 tratamentos:

**Tabela 2:** Relação dos tratamentos realizados no teste de crescimento *in vitro* das bactérias testadas.

IDENTIFICAÇÃO DO TRATAMENTO	TRATAMENTOS
1	Controle
2	Bac 1
3	Bac 2
4	Bac 3
5	Bac 4
6	Bac 5
7	Bac 2 + 3
8	Bac 2 + 4
9	Bac 2 + 5
10	Bac 3 + 4
11	Bac 3 + 5
12	Bac 4 + 5

Foram separados 60 tubos de ensaio autoclavados, 5 tubos para cada um dos tratamentos, e para cada uma das culturas. Para o meio de cultura, usou-se Ágar nutriente 8g/L preparado com água destilada, autoclavado e adicionado 25 ml no tubo de ensaio.

A assepsia das sementes de arroz foi realizada com 100ml de hipoclorito 7,5%, preparado com 30ml de hipoclorito de sódio e 70ml de água destilada, 7 minutos em imersão, 3 minutos em 100ml de álcool 70%, e por último, tríplice lavagem com água destilada e dispostas a secagem.

Com as sementes já esterilizadas, iniciou-se a microbiolização das sementes. Foram preparadas 5 erlenmeyers com 100ml de meio de cultura líquido preparado com 20g de ágar líquido para 1L de água destilada e autoclavado. Cada um dos 5 erlenmeyers foram enumerados de 1 a 5 com a ordem das bactérias [240F (1), 34F (2), 36F1 (3), 7Fa (4), 43Fb2 (5)] que foram pipetadas 20ul em cada um deles.

Logo após o preparo das soluções, foi medida a concentração de cada um deles e foram preparados mais 7 erlenmeyers com o restante das misturas das bactérias [2 + 3 (34F + 36F1), 2 + 4 (34F + 7Fa), 2 + 5 (34F + 43Fb2), 3 + 4 (36F1 + 7Fa), 3 + 5 (36F1 + 43Fb2), 4 + 5 (7Fa + 43Fb2)] e colocadas no shake por 24 horas em agitação constante.

Após as 24 horas, os erlenmeyers foram retirados do shake, e em cada um deles foram adicionadas aproximadamente 10 sementes já estéreis na mistura, e voltado novamente para o shake por mais 24 horas arroz e trigo, 4 horas soja e milho, e 2 horas feijão, em agitação constante.

Foram retirados os erlenmeyers do shake após o tempo previsto para microbiolização das sementes e depois foram retiradas da solução e postas para secar. Após a secagem, foram plantadas nos tubos devidamente identificados. O ensaio foi avaliado 10 dias após o plantio (EMBRAPA 2020).

#### **4.3.4 Plantio Em Copos Na Casa De Vegetação**

Após o ensaio de promoção de crescimento das culturas no plantio dos tubos, foi instalado o ensaio de plantio em copos na casa de vegetação. Foram utilizados copos de 500ml (60 copos no total) com terra adubada com NPK, e sulfato de amônio (mesma adubação para todos os copos).

A assepsia das sementes foi feita com 100ml de hipoclorito 7,5%, preparado com 30ml de hipoclorito de sódio e 70ml de água destilada, 7 minutos em imersão, 3 minutos em 100ml de álcool 70%, e por último, tríplice lavagem com água destilada e dispostas a secagem.

As sementes foram plantadas com, aproximadamente 1,0cm de profundidade e foram dispostas três sementes por copo. Após 15 dias, as plantas de arroz foram avaliadas. A avaliação consistiu na separação da parte aérea e raiz, onde foi retirado o peso da massa fresca e o tamanho das partes, e depois as plantas foram levadas para a estufa de secagem a 60°C, por 3 dias, para a obtenção do peso da massa seca.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Etapa I

#### 5.1.1 Teste de Viabilidade e Antagonismo

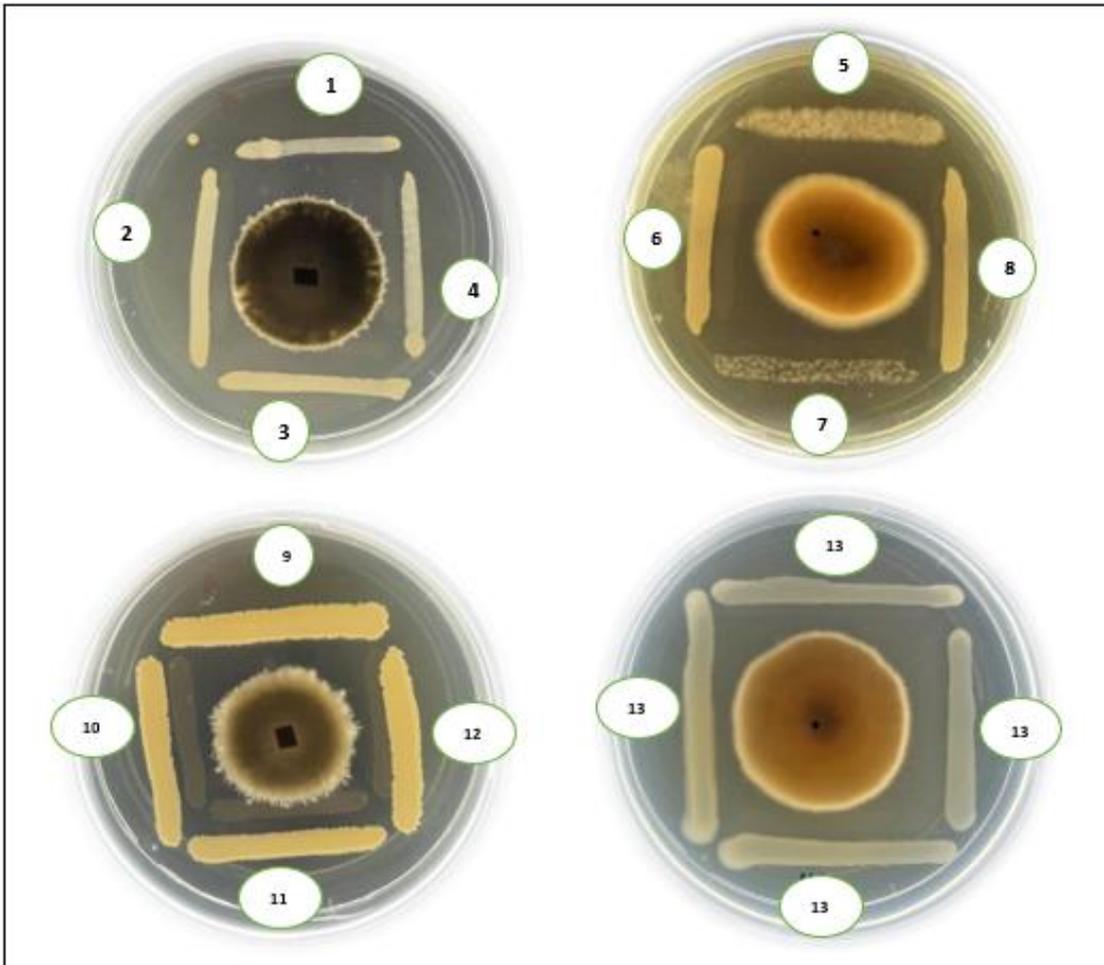
Após o teste de viabilidade foram selecionadas 48 bactérias que compuseram os isolados iniciais do trabalho (Tabela 3).

**Tabela 3:** Relação dos 48 isolados iniciais que foram testados na etapa 1.

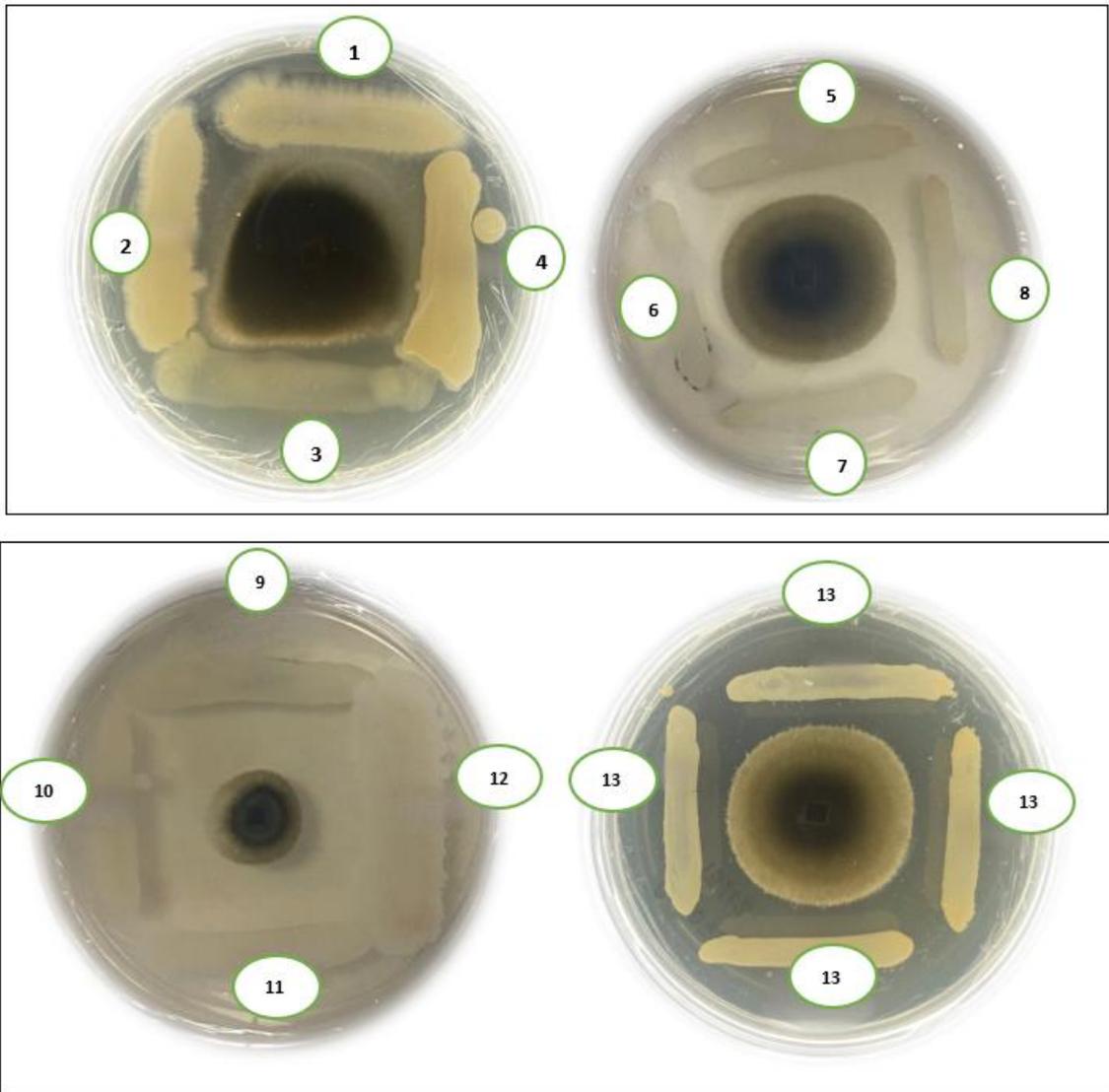
RELAÇÃO DOS ISOLADOS VIÁVEIS PARA OS EXPERIMENTOS				
181Fa2	203Fa	109Fa	32F	201Fa
34F	185Fa	250Fb	38F	199F
200Fa	180Fc	212Fb	1F	188F
19Fa	187F	5Fa	185Fa1	25F1
7Fa	36F	203F	187Fa2	11F
43Fb2	180Fb	247F	12Fb	207F
25F	31F	212Fa1	212Fa2	24F
240F	15F	198Fb	40Fc	200Fb
250Fa	17F	111F2	12F	
36F1	112Fa3	111F3	248F	

Os 48 isolados foram semeados em placas contendo os fungos *Rhizoctonia Solani*, *Magnaporthe oryzae*, e *Bipolaris*. Após 7 dias observou-se que das amostras testadas somente 13 (188F, 25F, 240F, 200Fa, 25F1, 11F, 34F,

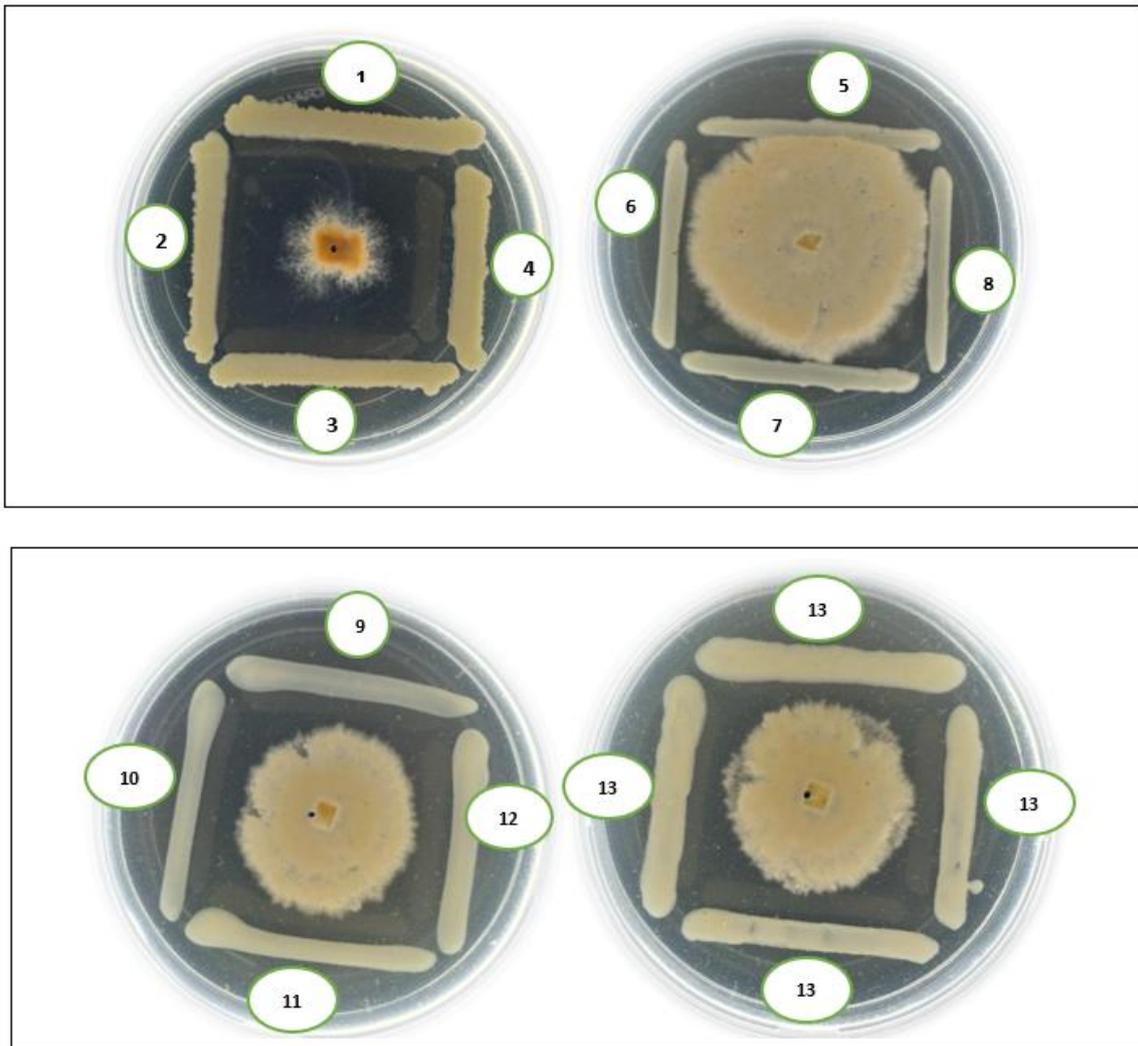
181Fa2, 43Fb2, 19Fa, 36F1, 7fa, 250Fa) conseguiram retardar o crescimento dos fungos *Magnaporthe oryzae*, *Bipolaris* e *Rhizoctonia Solani* sendo assim, foram selecionadas para serem usadas nos próximos testes (Figuras 5; 6; 7).



**Figura 5:** Resultados dos testes de antagonismo realizados com as cinco bactérias selecionadas, Fungo *Magnaporthe Oryzae* e bactérias (1) 240F; (2) 34F; (3) 36F<sub>1</sub>; (4) 7Fa; (5) 43Fb<sub>2</sub>; (6) 188F; (7) 25F<sub>1</sub>; (8) 250Fa; (9) 25F; (10) 11F; (11) 19Fa; (12) 200Fa; (13) 181Fa<sub>2</sub>.



**Figura 6:** Resultados dos testes de antagonismo realizados com as cinco bactérias selecionadas, Fungo *Bipolaris oryzae* e bactérias (1) 240F; (2) 34F; (3) 36F<sub>1</sub>; (4) 7Fa; (5) 43Fb<sub>2</sub>; (6) 188F; (7) 25F<sub>1</sub>; (8) 250Fa; (9) 25F; (10) 11F; (11) 19Fa; (12) 200Fa; (13) 181Fa<sub>2</sub>.



**Figura 7:** Resultados dos testes de antagonismo realizados com as cinco bactérias selecionadas, Fungo *Rhizoctonia solani* e bactérias (1) 240F; (2) 34F; (3) 36F<sub>1</sub>; (4) 7Fa; (5) 43Fb<sub>2</sub>; (6) 188F; (7) 25F<sub>1</sub>; (8) 250Fa; (9) 25F; (10) 11F; (11) 19Fa; (12) 200Fa; (13) 181Fa<sub>2</sub>.

Estas treze bactérias isoladas foram testadas na etapa seguinte.

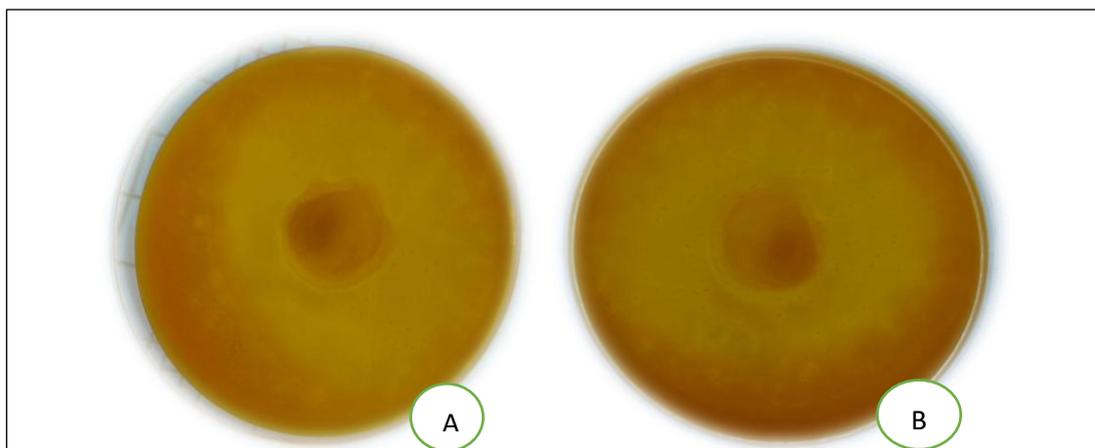
## 5.2 Etapa II

### 5.2.1 Solubilização de Fosfato

Como resultado, apenas a bactéria 240F produziu halo no meio NBRIP. Os halos foram medidos com o paquímetro e a unidade de medida utilizada foi milímetro (mm) (Tabela 3) (Figura 8).

**Tabela 4:** Resultados obtidos a partir do teste de solubilização de fosfato. O ensaio foi realizado em triplicata (3 placas). Linha 1: Valores do diâmetro do halo produzido somente pela bactéria 240F após avaliação quantitativa do teste. Linha 2: Valores do diâmetro da colônia após a avaliação quantitativa do teste.

BAC 240F	PLACA 1	PLACA 2	PLACA 3
Halo	15,5	17,43	16,31
Colônia	12,04	11,77	11,56



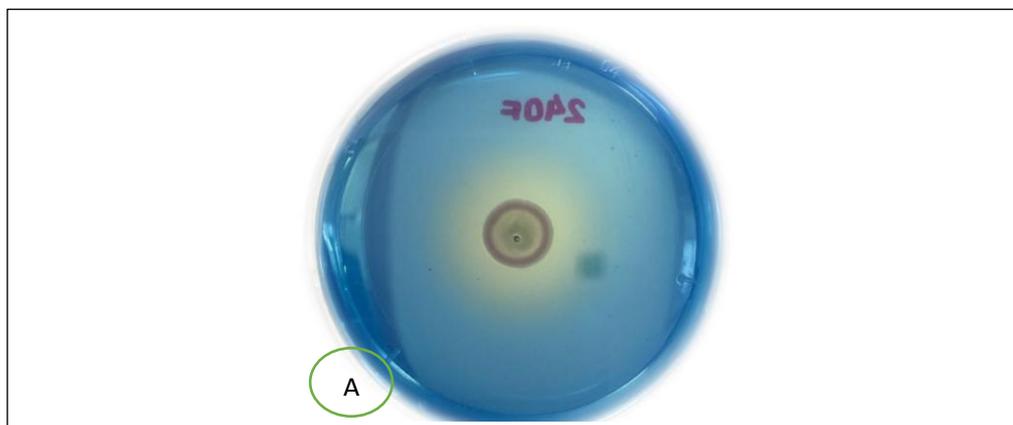
**Figura 8:** Resultados dos testes de solubilização de fosfato. **A e B:** A parte amarelo-clara da placa simboliza o halo produzido pela bactéria 240F após resultado positivo à solubilização do fosfato.

### 5.3 Solubilização de Potássio

Como resultado, apenas a bactéria 240F produziu halo, em meio Pikovskaya modificado. Os halos foram medidos com o paquímetro e a unidade de medida utilizada foi milímetro (mm) (Tabela 4) (Figura 9).

**Tabela 5:** Resultados obtidos a partir do teste de solubilização de potássio. O ensaio foi realizado em triplicata (3 placas), e tanto a colônia, quando o halo, foram medidos em milímetros (mm) com o paquímetro. Linha 1: Valores do diâmetro do halo produzido somente pela bactéria 240F após avaliação quantitativa do teste. Linha 2: Valores do diâmetro da colônia após a avaliação quantitativa do teste.

BAC 240F	PLACA 1	PLACA 2	PLACA 3
Halo	6,7	6,72	6,66
Colônia	5,23	5,31	5,39



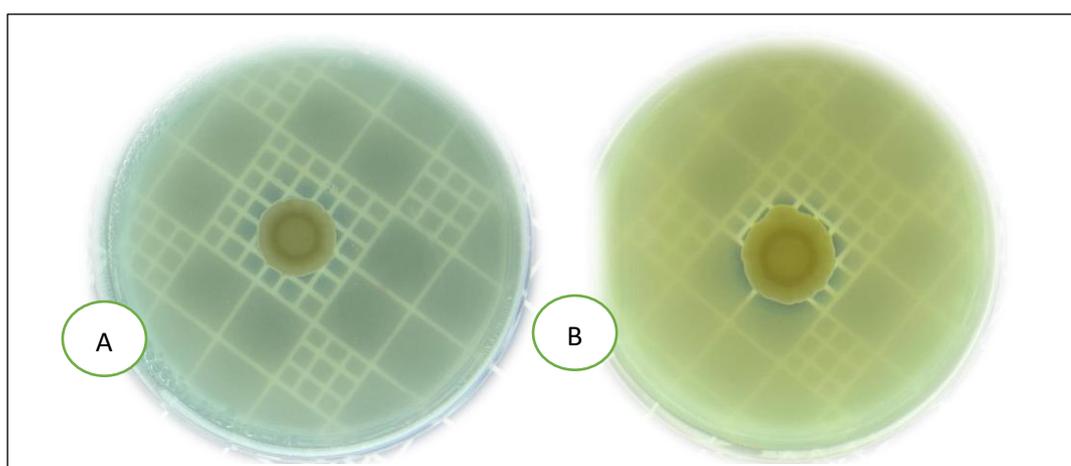
**Figura 9:** Resultados dos testes de solubilização de potássio. **A:** A parte amarelo-clara da placa simboliza o halo produzido pela bactéria 240F após resultado positivo à solubilização do potássio.

#### 5.4 Solubilização de Zinco

Nesse teste, as bactérias 7Fa, 36F1, 25F1 e 34F produziram halo. Os halos foram medidos com o paquímetro e a unidade de medida utilizada foi milímetro (mm).

**Tabela 6:** Resultados obtidos a partir do teste de solubilização de zinco. O ensaio foi realizado em duplicata (2 placas), e tanto a colônia, quanto o halo, foram medidos em milímetros (mm) com o paquímetro. Linhas 1 e 2: Valores do diâmetro do halo produzido pela bactéria 7Fa, 36F1, 25F1, e 34F após avaliação quantitativa do teste. Linhas 3 e 4: Valores do diâmetro da colônia após a avaliação quantitativa do teste.

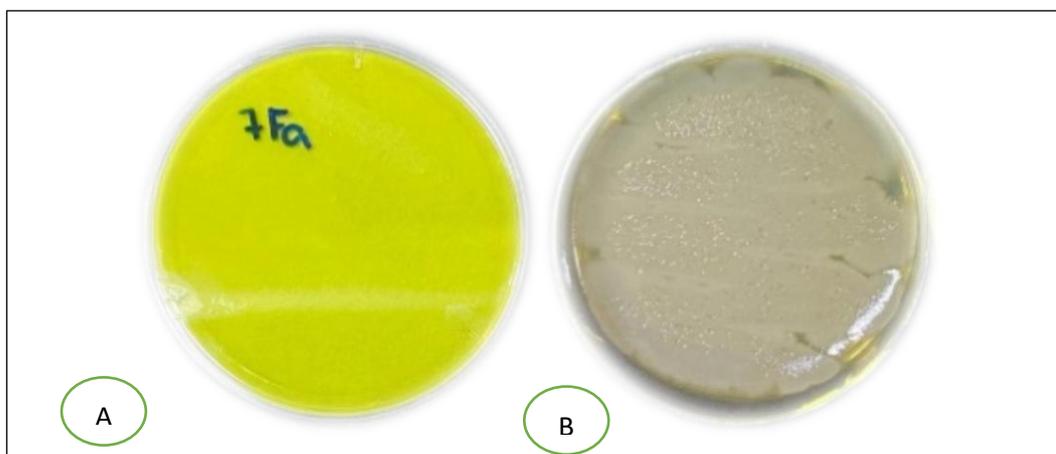
	BAC 7Fa	BAC 36F1	BAC 25F1	BAC 34F
Placa 1 - Halo	12,2	14,12	12,59	8,95
Placa 2 - Halo	12,85	12,46	12,36	11,95
Placa 1 - Colônia	6,92	8,21	7,6	7,97
Placa 2 - Colônia	7,69	7,11	7,03	9,71



**Figura 10:** Resultados dos testes de solubilização de zinco. **A e B:** A parte “transparente” da placa simboliza o halo produzido pelas bactérias 7Fa, 36F1, 25F1, e 34F após resultado positivo à solubilização do zinco.

## 5.5 Produção de HCN

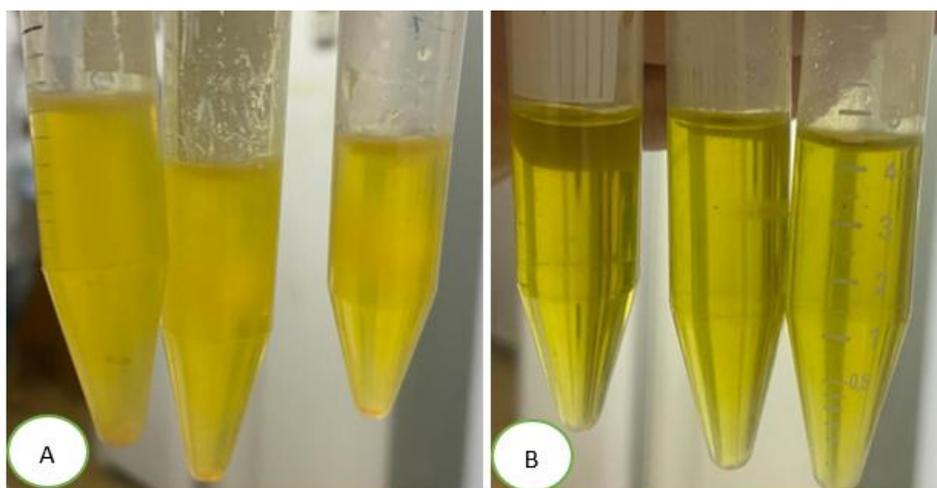
Nesse teste, nenhuma das bactérias utilizadas produziram resultado, já que nenhuma delas alteraram a cor do ácido presente no papel filtro. A avaliação foi feita quantitativamente (visualmente).



**Figura 11:** Resultados dos testes de produção de HCN. O teste foi avaliado a partir da visualização da mudança de cor do papel filtro umedecido com ácido cianídrico que é colocado na tampa da placa.

## 5.6 Fixação de N<sub>2</sub>

Nesse teste, a avaliação foi feita quantitativamente (visualmente). Todas as bactérias foram positivas para fixação de nitrogênio, pois todas elas alteraram a cor do meio de cultura.

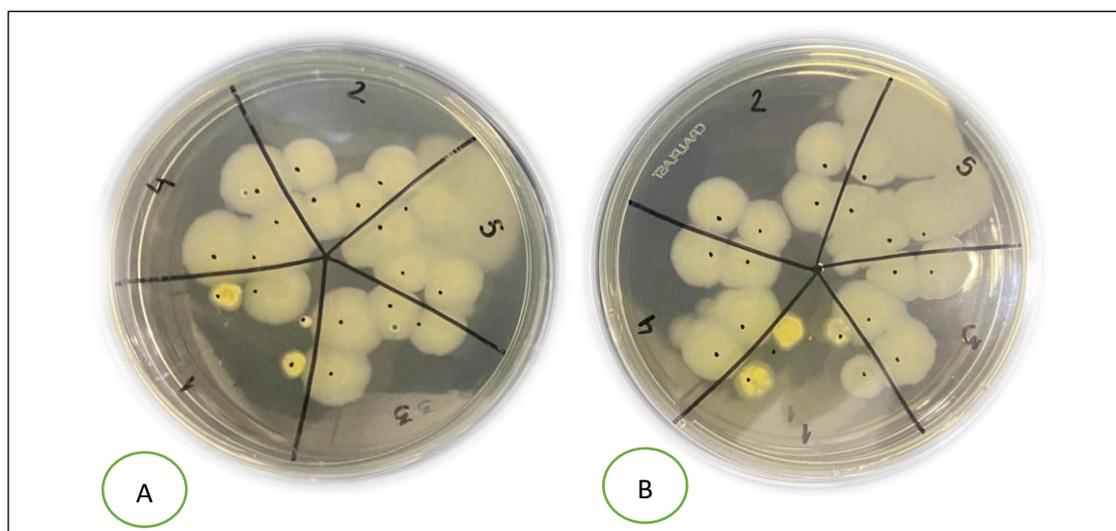


**Figura 12:** Resultados dos testes de fixação de N<sub>2</sub>. **A:** As bactérias (1) 240F; (2) 34F; (3) 36F<sub>1</sub>; (4) 7Fa; (5) 43Fb<sub>2</sub>; (6) 188F; (7) 25F<sub>1</sub>; (8) 250Fa; (9) 25F; (10) 11F; (11) 19Fa; (12) 200Fa; (13) 181Fa<sub>2</sub> presentes no meio de cultura foi positiva ao teste, já que os isolados alteram a coloração e turbidez do meio. **B:** Coloração do meio de cultura sem a presença de nenhum isolado bacteriano.

Após os resultados de todos esses testes, foram selecionadas as bactérias que mais reagiram positivamente aos testes de antagonismo, solubilização de fosfato, solubilização de potássio, solubilização de zinco, fixação de N<sub>2</sub>, produção de HCN e teste de compatibilidade, sendo elas 240F, 34F, 36F1, 7Fa, 43Fb2. Estas foram testadas no teste de compatibilidade.

### 5.7. Teste de Compatibilidade

Com o teste de compatibilidade, obteve-se os seguintes resultados de isolados que podem ser utilizados juntos: isolados 2 + 3; 2 + 4; 2 + 5; 3 + 4; 3 + 5; e 4 + 5, sendo elas: (1) 240F; (2) 34F; (3) 36F<sub>1</sub>; (4) 7Fa; (5) 43Fb<sub>2</sub>. A avaliação foi realizada de forma quantitativa (visualmente), observando a capacidade que uma bactéria tem de se misturar com outra.



**Figura 13:** Resultados dos testes de compatibilidade. A e B: As bactérias foram dispostas uma ao lado da outra, de forma que se encostem, para observar o crescimento delas uma misturada com a outra. Em ambas as imagens, a bactéria (1) 240F, foi a única que não cresce ao se misturar com as outras.

Após os resultados de todos esses testes, foram selecionadas as bactérias que reagiram positivamente aos ensaios de antagonismo, solubilização de fosfato, solubilização de potássio, solubilização de zinco, fixação de N<sub>2</sub>, produção de HCN, teste de compatibilidade foram: 240F, 34F, 36F1, 7Fa, 43Fb2.

## 6. RESULTADOS CASA DE VEGETAÇÃO

Ao analisar a influência das bactérias no crescimento na parte aérea das plantas, observou-se que somente o tratamento 9, que consistia na combinação das bactérias 2 + 5 teve resultado estatisticamente positivo em teste Tukey HDS para o comprimento da parte aérea do arroz (Tabela 7).

Já o tratamento 4, que é somente a bactéria 3, foi o melhor para a promoção de crescimento da parte radicular do arroz (Tabela 8). Na tabela 9, pode-se observar que o tratamento 10, que consiste na combinação das bactérias 3 + 4 foi a que mais apresentou resultado estatisticamente positivo para a massa fresca da parte aérea do arroz.

Para a massa fresca radicular do arroz, o resultado obtido foi do tratamento 10, que é a combinação das bactérias 3 + 4 (Tabela 10). Já na tabela 11, que está representado o resultado positivo da massa seca da parte aérea do arroz, o resultado positivo obtido foi dos tratamentos 8, 10, 12 (bacts 2 + 4; 3 + 4; 4 + 5). E por fim, na massa seca da raiz das plantas de arroz, o resultado positivo obtido é o do tratamento 8, 10, 4 (bacts 2 + 4; 3 + 4; 3).

A partir dos testes estatísticos, pode-se ver que nenhuma das bactérias testadas fazem o papel de promover o crescimento aéreo e radicular de forma individual. Se colocadas em conjunto, essas bactérias trabalham melhor promovendo o crescimento das plantas, e supressão das doenças mais importantes da cultura do arroz.

Apenas o tratamento 10 (3 + 4), que foi positivo para a massa fresca tanto da parte aérea, quando da área radicular das plantas de arroz. Porém, as demais bactérias são positivas, cada uma para alguma região da planta.

Os resultados obtidos evidenciam a relevância das bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) na promoção do desenvolvimento do arroz e no controle de doenças associadas à cultura. Durante os experimentos, observou-se que nenhuma das bactérias testadas atuou de forma significativa e isolada para promover o crescimento aéreo e radicular do arroz. No entanto, combinações específicas entre as bactérias apresentaram resultados estatisticamente superiores, destacando-se o tratamento 10 (bactérias 3 + 4) para a massa fresca da parte aérea e radicular, e o tratamento 8 (bactérias 2 + 4) para a massa seca radicular. Essa sinergia entre os microrganismos indica

que interações combinadas têm maior potencial de eficácia, alinhando-se com o que foi descrito na literatura científica.

De acordo com o artigo de RAMOS MARIANO et al. (2004), o uso de BPCP apresenta um grande potencial para uma agricultura sustentável, promovendo crescimento vegetal e controle de doenças de maneira integrada. Os autores destacam que as interações entre microrganismos e plantas podem ser otimizadas em combinações específicas, que aumentam a competitividade das bactérias em sítios de colonização e potencializam a resistência sistêmica contra patógenos. No presente trabalho, os dados apresentam que a aplicação combinada de bactérias não apenas favoreceu o crescimento das plantas, mas também indicou que diferentes combinações podem ser direcionadas a regiões específicas das plantas (como parte aérea ou radicular).

Outro ponto de convergência entre os estudos é a observação de desafios associados ao uso de BPCP, (RAMOS MARIANO et al. 2004) ressaltam que resultados inconsistentes com bacterização são comuns e estão relacionados ao desconhecimento das interações planta-microrganismo em diferentes condições ambientais. Nos experimentos realizados, foi possível observar essa complexidade, uma vez que tratamentos individuais não apresentaram efeitos significativos, e as combinações eficazes foram limitadas a cenários específicos. Esse achado reforça a necessidade de estudos adicionais que explorem a influência de fatores ambientais e genéticos sobre a eficácia das combinações bacterianas.

Além disso, o artigo destaca que o uso de BPCP em misturas, como rizobactérias e micorrizas, pode oferecer benefícios não apenas para culturas específicas, mas também para sistemas agrícolas de rotação, melhorando a estrutura do solo e promovendo sustentabilidade. De forma similar, os resultados deste trabalho sugerem que bactérias como as testadas neste estudo podem ser aplicadas em diferentes sistemas agrícolas, integrando estratégias sustentáveis de manejo.

Por fim, destaca-se a perspectiva estimulante da utilização de BPCP como alternativa ecológica aos fertilizantes químicos e pesticidas. Os resultados obtidos neste trabalho mostram que o tratamento com combinações bacterianas específicas pode oferecer benefícios consistentes para o crescimento do arroz,

contribuindo para o desenvolvimento de práticas agrícolas mais sustentáveis e menos dependentes de insumos químicos.

Dessa forma, este estudo reforça as observações de RAMOS MARIANO et al. (2004), ao demonstrar que o sucesso da aplicação de BPCP depende da escolha criteriosa de combinações de microrganismos e da compreensão de suas interações com as plantas e o ambiente. A integração dessas tecnologias em sistemas de manejo sustentável representa um passo significativo para a agricultura do futuro.

Comparando com o artigo (SPOLAOR et al. 2016), a inoculação com bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV), como as estirpes de *Azospirillum brasilense*, tem se mostrado uma alternativa promissora para o incremento da produtividade agrícola. Estudos recentes avaliam os efeitos dessas bactérias associadas a diferentes doses de fertilizantes nitrogenados (N), considerando aspectos como a produtividade de grãos e o desempenho agrônômico.

No estudo de (SPOLAOR et al. 2016), a inoculação com *A. brasilense* foi avaliada em dois ambientes distintos (Londrina e Maringá) sob diferentes doses de N (0, 50, 100 e 150 kg·ha<sup>-1</sup>). Os resultados mostraram efeitos significativos da inoculação e das doses de N sobre o rendimento de grãos no ambiente de Londrina, mas apenas as doses de N influenciaram significativamente no ambiente de Maringá. Apesar disso, os autores destacaram que a adição de N em cobertura não proporcionou incrementos de produtividade nos tratamentos de inoculação, sugerindo que as tecnologias de inoculantes e fertilizantes nitrogenados não são aditivas, mas competitivas. Isso corrobora a hipótese de que concentrações elevadas de N no solo podem inibir a fixação biológica de nitrogênio pelas bactérias, como evidenciado pela redução da atividade da nitrogenase e pela menor colonização bacteriana observada em solos com altas doses de N (CARVALHO et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2003).

Resultados semelhantes foram obtidos em estudos anteriores (REPLK et al. 2013) e (DARTORA et al. 2013) avaliaram o efeito de *A. brasilense* associado a diferentes doses de N e observaram ausência de efeitos aditivos em produtividade. No entanto, outros trabalhos, como os de HUNGRIA et al. (2010) e FERREIRA et al. (2013), reportaram incrementos significativos no rendimento

de grãos em tratamentos com *A. brasilense*, destacando a variabilidade nos resultados devido a fatores ambientais e genéticos, além das características das formulações comerciais dos inoculantes.

O presente trabalho segue uma linha similar de investigação, ao avaliar a eficiência de isolados bacterianos em condições controladas e com estirpes nativas de *Bacillus* e *Azospirillum brasilense*. Os resultados obtidos indicaram que os isolados nativos têm potencial para superar os inoculantes comerciais, particularmente na ausência de fertilizantes nitrogenados. Este achado é consistente com (SPOLAOR et al. 2016), que reportaram incrementos de 9,98% e 16,44% na produtividade de grãos para os inoculantes comercial e da UEL, respectivamente, no ambiente de Londrina, e aumentos ainda maiores no ambiente de Maringá (20,14% e 32,81%).

Além disso, os estudos mostram que a formulação dos inoculantes desempenha um papel crucial na sua eficácia. (SPOLAOR et al. 2016) destacaram que os inoculantes avaliados apresentavam formulações distintas, sendo um deles uma combinação de *A. brasilense* com *Rhizobium sp.*, enquanto o outro continha apenas estirpes de *A. brasilense*. Isso demonstra que a interação entre diferentes microrganismos na formulação pode potencializar os efeitos da inoculação. Contudo, também reforça a necessidade de desenvolver tecnologias que assegurem a estabilidade e a eficiência dos microrganismos em condições reais de campo.

Por fim, cabe destacar que a ausência de significância para algumas interações inoculante versus doses de N não deve ser interpretada como ausência de efeito. Como apontado por Barbin (2013), o desdobramento dos graus de liberdade, mesmo em interações não significativas, pode revelar efeitos importantes que são diluídos na média. Essa abordagem estatística, associada a análises detalhadas dos parâmetros fisiológicos e bioquímicos das plantas, é essencial para compreender as interações entre inoculantes e fertilizantes.

Em resumo, os dados obtidos tanto neste trabalho quanto na literatura reforçam que a inoculação com BPCV é mais eficaz em ambientes de baixa disponibilidade de N, enquanto altas doses de fertilizantes podem reduzir ou mesmo anular os benefícios da fixação biológica de nitrogênio. Dessa forma, a

adoção de inoculantes deve ser estrategicamente planejada, considerando a dose de N aplicada e as condições edafoclimáticas da área de cultivo.

**Tabela 7:** Comprimento da parte aérea do arroz. Foi utilizado teste de Tukey HDS para obtenção dos resultados estatísticos. Pode-se observar que o tratamento 9 (2 + 5) foi a que mais apresentou diferença estatística positiva na promoção de crescimento da parte aérea do arroz.

TRAT	N° REP	SUBCONJUNTO	
		1	2
1	5	17,7476	
4	5	18,08	18,08
2	5	18,03	18,83
12	5	18,996	18,996
7	5	19,164	19,164
8	5	19,198	19,198
10	5	19,462	19,462
5	5	19,93	19,93
11	5	20,564	20,564
6	5	20,696	20,696
3	5	21,2476	21,2476
9	5		23,496
Sig.		0,579	0,061

**Tabela 8:** Comprimento da raiz do arroz. Foi utilizado teste de Tukey HDS para obtenção dos resultados estatísticos. Pode-se observar que o tratamento 4 (bac 3 - 36F1) foi a que mais apresentou diferença estatística positiva na promoção de crescimento da parte radicular do arroz.

TRAT	N° REP	SUBCONJUNTO
		1
12	5	8,598000
1	5	9,247600
11	5	10,26000
6	5	10,296000
9	5	13,630000
7	5	11,030000
8	5	11,130000
3	5	11,330000
10	5	11,728000
2	5	12,330000
5	5	13,396000
4	5	13,872600
Sig.		,181

**Tabela 9:** Massa fresca da parte aérea do arroz. Foi utilizado teste de Tukey HDS para obtenção dos resultados estatísticos. Pode-se observar que o tratamento 10 (bac 3 + 4) foi a que mais apresentou diferença estatística positiva na promoção de massa fresca de parte aérea do arroz.

TRAT	Nº REP	SUBCONJUNTO
		1
4	5	06,2600
5	5	07,4000
1	5	07,5000
9	5	07,6000
8	5	07,8000
3	5	09,5000
6	5	10,2000
2	5	11,2600
11	5	11,8000
7	5	18,2000
12	5	27,0000
10	5	28,0000
Sig.		,064

**Tabela 10.** Massa fresca da raiz do arroz. Foi utilizado teste de Tukey HDS para obtenção dos resultados estatísticos. Pode-se observar que o tratamento 10 (bac 3 + 4) foi a que mais apresentou diferença estatística positiva na promoção de massa fresca radicular do arroz.

TRAT	Nº REP	SUBCONJUNTO	
		1	2
9	5	05,2000	
3	5	05,5000	
1	5	06,0000	
8	5	06,4000	
5	5	08,0000	08,0000
11	5	08,6000	08,6000
4	5	09,0000	09,0000
7	5	11,6000	11,6000
2	5	12,0000	12,0000
6	5	12,4000	12,4000
12	5	14,4000	14,4000
10	5		19,6000
Sig.		,352	,093

**Tabela 11.** Massa seca da parte aérea do arroz. Foi utilizado teste de Tukey HDS para obtenção dos resultados estatísticos. Pode-se observar que o tratamento 8, 10, 12 (bacts 2 + 4; 3 + 4; 4 + 5) foi a que mais apresentou diferença estatística positiva na promoção de massa seca da parte aérea do arroz.

TRAT	N° REP	SUBCONJUNTO					
		1	2	3	4	5	6
3	5	11,1000					
6	5	11,8000					
1	5	12,0600					
2	5	12,3600					
11	5	15,3600	15,3600				
7	5		17,1000	17,1000			
4	5			20,4000	20,4000		
9	5			20,8000	20,8000		
5	5				22,2600	22,2600	
10	5				23,2800	23,2800	
8	5					26,10000	26,1000
12	5						28,5800
Sig.		,066	,966	,179	,526	,142	,732

**Tabela 12:** Massa seca da raiz do arroz. Foi utilizado teste de Tukey HDS para obtenção dos resultados estatísticos. Pode-se observar que o tratamento 8, 10, 4 (bacts 2 + 4; 3 + 4; 3) foi a que mais apresentou diferença estatística positiva na promoção de massa seca da parte radicular do arroz.

TRAT	N° REP	SUBCONJUNTO				
		1	2	3	4	5
6	5	07,0200				
2	5	10,8600	10,8600			
1	5		12,9600	12,9600		
7	5		13,0200	13,0200		
9	5		14,5000	14,5000	145000	
12	5			16,3600	16,3600	
3	5			16,6000	16,6000	
5	5			16,7800	16,7800	
11	5				17,7600	
10	5				18,3200	
8	5					25,0000
4	5					26,3000
Sig.		,155	,213	,161	,161	,997

## 7. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo permitem concluir que as propriedades fisiológicas das bactérias testadas apresentam um grande potencial para utilização na promoção do crescimento do arroz, ao favorecerem a solubilização de fosfato, potássio e zinco, além de contribuírem para a produção de HCN e a fixação de N<sub>2</sub>.

Essas características indicam que os isolados bacterianos avaliados possuem atributos que podem ser explorados em sistemas agrícolas sustentáveis.

Além de promoverem o crescimento e desenvolvimento das plantas de *Oryza sativa*, as bactérias também demonstraram capacidade de retardar o crescimento dos fungos patogênicos testados, sugerindo um papel duplo como agentes promotores do crescimento vegetal e como potenciais biocontroladores.

Entretanto, os resultados positivos obtidos não foram observados de forma isolada para nenhum dos isolados bacterianos, mas sim a partir de suas combinações, evidenciando a importância das interações sinérgicas entre microrganismos para maximizar os benefícios ao sistema produtivo.

Este trabalho destaca a relevância de se investir na identificação, caracterização e aplicação de microrganismos benéficos para a agricultura. O uso dessas ferramentas biológicas pode representar uma alternativa viável e eficiente para melhorar a produção vegetal de maneira mais sustentável, reduzindo a dependência de insumos químicos e minimizando os impactos ambientais.

Os dados apresentados também abrem perspectivas para futuras pesquisas que busquem compreender e otimizar as interações entre microrganismos benéficos e plantas, bem como sua aplicação em condições de campo.

Dessa forma, este estudo contribui para a ampliação do conhecimento sobre o uso de microrganismos no manejo agrícola, reafirmando seu potencial como parte de estratégias inovadoras voltadas para uma agricultura mais rentável e ambientalmente responsável.

## REFERÊNCIAS

- AHEMAD, M.; KIBRET, M. **Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective.** Journal of King Saud University, v.26, n.1, p.1-20, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2013.05.001>
- ANKATI, S.; PODILE, A. R. **Understanding plant-beneficial microbe interactions for sustainable agriculture.** Journal of Spices & Aromatic Crops, v. 27, n. 2. p. 93-105, 2018. DOI: <https://doi.org/10.25081/josac.2018.v27.i2.1098>
- BARBIN, D. (2013). **Planejamento e análise estatística de experimentos agronômicos.** Londrina: Mecenas
- BARNWAL, M. K.; KOTASTHANE, A. S.; MAGCULIA, N. J.; MUKHERJEE; P. K.; SAVARY, S.; SINGH, H. B.; SINGH, U. S.; SPARKS, A. H.; VARIAR, M.; ZAIDI, N. W. **A review on crop losses, epidemiology and disease management of rice brown spot to identify research priorities and knowledge gaps.** European Journal of Plant Pathology, v. 136, n. 3, p. 443-445, 2013.
- BEVIVINO, A.; DALMASTRI, C.; TABACCHIONI, S.; CHIARINI, L. **Efficacy of Burkholderia cepacia MCI in disease suppression and growth promotion of maize.** Biology and Fertility of Soils, v. 31, n. 3/4, p. 225-231, 2000.
- BHATTACHARYYA, P. N.; JHA, D. K. **Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture.** World Journal Microbiology Biotechnology, Dordrecht, v. 28, n. 4, p. 1327–1350, 2012
- CARVALHO, T. L. G., BALSEMÃO-PIRES, E., SARAIVA, R. M., FERREIRA, P. C. G. E HEMERLY, A. S. (2014). **Nitrogen signalling in plant interactions with associative and endophytic diazotrophic bacteria.** Journal of Experimental Botany, First published online: August 11, 2014, 1-12. <http://dx.doi.org/10.1093/jxb/eru319>.
- DARTORA, J., GUIMARÃES, V. F., MARINI, D. E SANDER, G. (2013). **Adubação nitrogenada associada à inoculação com Azospirillum**

**brasileense e Herbaspirillum seropedicae na cultura do milho.** Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, 17, 1023-1029. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-43662013001000001>

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Statistical databases.** Capturado em 15 abr. 2006. Online. Disponível na Internet: <http://www.fao.org>.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Statistical databases.** Capturado em 10 setembro de 2024. Online. Disponível na Internet: <http://www.fao.org>.

FERREIRA, A. S., PIRES, R. R., RABELO, P. G., OLIVEIRA, R. C., LUZ, J. M. Q. E BRITO, C. H. (2013). **Implications of Azospirillum brasilense inoculation and nutrient addition on maize in soils of the Brazilian Cerrado under greenhouse and field conditions.** Applied Soil Ecology, 72, 103-108. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2013.05.020>.

FERREIRA, J. S. et al. **Selecao de veiculos para o preparo de inoculante com bacterias diazotroficas para arroz inundado.** Agronomia, Rio de Janeiro, p.6-12, 2003.

FILIPPI, M. C. C.; SILVA, G. B.; SILVA-LOBO, V. L.; CÔRTEZ M. V. C. B.; MORAES, A. J. G.; PRABHU, A. S. **Leaf blast (Magnaporthe oryzae) suppression and growth promotion by rhizobacteria on aerobic rice in Brazil.** Biological Control, v.58, n.2, p.160-166, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2011.04.016>

GROHS, D. S.; MENEZES, V. G.; FUNCK, G. R. D.; MUNDSTOCK, C. M. **Crêterios para o manejo de doenças no arroz irrigado.** Cachoeirinha: Instituto Rio Grandense do Arroz, 2010. v. 1, 48 p.

HARTMANN, A.; SCHMID, M.; VAN TUINEN, D.; BERG, G. **Plant-driven selection of microbes.** Plant and Soil, v. 321, p. 235-257, 2009.

HECKMAN, D. S. **Molecular evidence for the early colonization of land by fungi and plants.** Science, v. 293, n. 5532, p. 1129-1133, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1061457>.

HECKMAN, D. S. **Molecular evidence for the early colonization of land by fungi and plants.** Science, v. 293, n. 5532, p. 1129-1133, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1061457>.

HUNGRIA, M., CAMPO, R. J., SOUZA, E. M. E PEDROSA, F. O. (2010). **Inoculation with selected strains of Azospirillum brasilense and A. lipoferum improves yields of maize and wheat in Brazil.** Plant and Soil, 331, 413-425. <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-009-0262-0>.

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, n. 1/2, p. 413-425, 2010

ISAWA, T.; YASUDA, M.; AWASAKI, H.; MINAMISAWA, K.; SHINOZAKI, S.; NAKASHITA, H. **Azospirillum sp. strain B510 enhances rice growth and yield.** Microbes and Environments, Ibaraki, v. 25, n. 1, p. 58-61, 2010.

JULIANO, B.O.; BECHTEL, D.B. **The rice grain and its gross composition.** In: JULIANO, B.O. (Ed.). Rice: chemistry and technology. Minnesota, USA: American Association of Cereal Chemists, 1985. Cap.2, p.17-57.

LEE, F.N., RUSH, M.C. Rice ShB. **A Major Rice Disease.** Plant Disease, v. 67, n7, p.829-832, 1983.

MANIAN, S., MANIBHUSHANRAO, K. **Screening rice germplasm for tolerance to sheath blight incited.**

MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B.; ASSIS, S. M. P.; GOMES, A. M. A.; NASCIMENTO, A. R. P.; DONATO, V. M. T. S.. **Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável.** Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica, Recife, v. 1, p. 89-111, 2004.

MENZIES, J.; BOWEN, P.; EHRET, D.; GLASS, A.D.M. **Foliar applications of potassium silicate reduce severity of powdery mildew on cucumber, muskmelon, and zucchini squash.** Journal of the American Society for Horticultural Science, v.117, p.902-905, 1992.

NASCENTE, A. S.; FILIPPI, M. C. C.; LANNA, A. C.; SOUZA, A. C. A.; LOBO, V. L S.; SILVA, G. B. **Biomass, gas exchange, and nutrient contents in upland rice plants affected by application forms of microorganism growth promoters.** Environmental Science and Pollution Research, v.24, n.3, p.2956-2965, 2017a. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-8013-2>

RAJ, S. N.; LAVANYA, S. N.; AMRUTHESH, K. N.; NIRANJANA, S. R.; REDDY, M. S.; SHETTTY, H. S. **Histo-chemical changes induced by PGPR during induction of resistance in pearl millet against downy mildew disease.** Biological Control, v.60, n.2, p.90-102, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2011.10.011>

REPKE, R. A., CRUZ, S. J. S., SILVA, C. J., FIGUEIREDO, P. G. E BICUDO, S. J. (2013). **Eficiência da Azospirillum brasilense combinada com doses de nitrogênio no desenvolvimento de plantas de milho.** Revista Brasileira de Milho e Sorgo, 12, 214-226.

Revista Cultivar, 19 jun. 2023. Disponível em: <https://revistacultivar.com.br/noticias/entenda-porque-os-microrganismos-trazem-uma-serie-de-beneficios-para-a-agricultura>. Acesso em: 25 ago. 2024.

RIBEIRO, A. S. Doenças. In: **Fundamentos da cultura do arroz irrigado, Campinas: Fundação Cargill, 1985.** Relatório final do projeto de pesquisas 001.89.011/0. EMBRAPA-CPACT, 1994.23p.

SHA, X., ZHU, L., **Resistance of some varieties to sheath blight.** IRRN, v.15, n.6, p.7-8,1990

SILVA, O. F. DA; WANDER, A. E. **Importância econômica e social.** <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/arroz/pre->

producao/socioeconomia/importancia-economica-e-social acessado em 02 de setembro 2024)

STORCK, C.R. **Varição na composição química em grãos de arroz submetidos a diferentes beneficiamentos**. 2004. 108f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Curso de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria.

TEODORO, PRISCILA FERREIRA; SOUSA, KELLEN CRISTHINA INÁCIO; LIMA, JOÃO TORRES FRANCO BORGES; NASCIMENTO, LUÍS PAULO PEREIRA; CARVALHO, JACQUELINE CAMPOS BORBA; GONÇALVES, FÁBIO JOSÉ; ARAÚJO, LEILA GARCÊS DE; FILIPP, MARTA CRISTINA DA CORSI. **Microbiolização de sementes de arroz com microrganismos benéficos**. FERTBIO, 2016 Rumos a Novos desafios, 16 a 20 de outubro 2016.

TIPPAYARAK, P., ANDRES, F., E UJJIN, S. **Personal warning service for pest management using crop calendar and bus model**, 2015.

VICENTE, M. H. DO N. **Desenvolvimento de produtos com utilização da farinha do arroz vermelho**. João Pessoa – PB, 2023.

ZHOU, Z. et al. **Composition and functional properties of rice**. International Journal of Food Science and Technology, v.37, p.849-868, 2002.