



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E AMBIENTAL
DEPARTAMENTO DE AGROECOLOGIA E AGROPECUÁRIA
BACHARELADO EM AGROECOLOGIA

Eficiência de *Gluconacetobacter diazotrophicus* no aumento de solutos osmoprotetores em arroz vermelho sob deficiência hídrica

MARIANA COELHO BEZERRA

Lagoa Seca-PB

Julho de 2014

Eficiência de *Gluconacetobacter diazotrophicus* no aumento de solutos osmoprotetores em arroz vermelho sob deficiência hídrica

MARIANA COELHO BEZERRA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Bacharelado em Agroecologia da Universidade Estadual da Paraíba, como parte das exigências para obtenção de título de graduada em Bacharel em Agroecologia.

Orientador: Dr. Carlos Henrique Salvino Gadelha Meneses

Coorientadora: Luanna Maria Beserra Filgueiras

Lagoa Seca-PB

Julho de 2014

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

B574e Bezerra, Mariana Coelho
Eficiência de *Gluconacetobacter diazotrophicus* no aumento de solutos osmoprotetores em arroz vermelho sob deficiência hídrica [manuscrito] : / Mariana Coelho Bezerra. - 2014.
33 p. : il.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agroecologia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias e Ambientais, 2014.

"Orientação: Prof. Dr. Carlos Henrique Salvino Gadelha Meneses, Departamento de Agroecologia e Agropecuária".

"Co-Orientação: Esp. Luanna Maria Beserra Filgueiras, Departamento de Pós-Graduação de Ciências Agrárias".

1. *Oryza Sativa* L. 2. Variáveis bioquímicas. 3. Resistência hídrica I. Título.

21. ed. CDD 631.4

MARIANA COELHO BEZERRA



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
Centro de Ciências Agrárias e Ambientais
Departamento de Agroecologia e Agropecuária
Campus II – Lagoa Seca
Curso Bacharelado em Agroecologia

RELATÓRIO DE APRESENTAÇÃO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

AOS 31 DIAS DO MÊS DE Julho DO ANO 2014 AS 14 HORAS, NA SALA 40, COM A PRESENÇA DE PROFESSORES(AS) PARTICIPANTES DA BANCA EXAMINADORA ABAIXO DISCRIMINADA, REALIZOU-SE A APRESENTAÇÃO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO Eficiência de *Gluconacetobacter diazotrophicus* no aumento de polímeros extracelulares em arroz verde sob eficiência química.

DESENVOLVIDO PELO(A) ALUNO(A) Mariana Coelho Bezerra

A APRESENTAÇÃO TRANSCORREU EM CONFORMIDADE COM AS NORMAS ESTABELECIDAS PELA RESOLUÇÃO/CONSEPE/32/2009. O(A) ALUNO(A) UTILIZOU 10 MINUTOS PARA A APRESENTAÇÃO E A BANCA EXAMINADORA UTILIZOU IGUAL TEMPO PARA AS DEVIDAS ARGUIÇÕES. AO TÉRMINO DA APRESENTAÇÃO, A BANCA SE REUNIU ISOLADAMENTE E EMITIU O PARECER ATRIBUINDO A NOTA 40 (sete) AO(A) ALUNO(A), QUE FOI DIVULGADA PELO(A) ORIENTADOR(A).

LAGOA SECA, 31 de Julho de 2014.

ORIENTADOR(A) Carlos Henrique Salvo Araújo Mendes

EXAMINADOR(A) Diogo Gonçalves Medeiros

EXAMINADOR(A) Severino José de Costa Oliveira

ALUNO(A) Mariana Coelho Bezerra MATRÍCULA 101360053

Diogo Gonçalves Medeiros
COORDENADOR(A) DO TCC

UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
Centro de Ciências Agrárias e Ambientais
Coordenação de Agroecologia
Campus II - Lagoa Seca-PB

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao Mestre dos mestres (Deus), por toda sabedoria e confiança me dada, Ele que sabe todos os meus passos e me guia, me doando paciência, discernimento e amor para confiar e realizar minha pesquisa.

Aos meus pais Afonso e Ana Bezerra pela sua infinita graciousidade, não só por ter me gerado, mais por ter me dado todo apoio em todos os momentos e ter me dado à chance de ver um mundo tão belo e grandioso a ponto de fazer Ciência e viver a Ciência e ter escolhido o Curso de Agroecologia que é tão apaixonante e gratificante.

A minha família Coelho e Bezerra, a família a mim concedida. Não teria família melhor pra ter escolhido nascer, uma família que amo e admiro de coração, e por ter me apoiado em todos os momentos.

Ao meu orientador Dr. Carlos Henrique Salvino Gadelha Meneses. Pelos serviços prestados e pela confiança a mim concedida para trabalhar juntos fazendo Ciência. Mesmo em vários momentos de dificuldades, alegrias e brincadeiras e discussões foram momentos de aprendizagem, e como dizem os meninos é “meu ídolo”, pessoa que vou levar para vida toda e principalmente em função do estudo aprendido neste artigo.

A banca examinadora, Diogo Gonçalves e Suenildo Oliveira, deixo meus agradecimentos e minhas humildes considerações por terem aceitado a examinar e avaliar meu trabalho de conclusão de curso.

A minha equipe de trabalho do Pibic 2013/2014, na pessoa de Luanna Beserra, futura Mestre em Ciências agrárias da Universidade Estadual da Paraíba, pelos conselhos prestados, pelos momentos ouvidos, pelas risadas e conversas realizadas e por todo apoio para concretização do projeto. A Felipe, Adriano e Bruna, discentes do curso na qual faço parte, por toda dedicação e serviço prestado. Pelo apoio também de Thiago Anderson, outro mestrando de Ciências Agrárias, por ter nos ajudado em várias horas. Meu muito obrigado!

A minha equipe de graduação e estudo nas pessoas de Antonio Manoel, mestrando hoje, em Ciências Agrárias, amigo de elaboração de projetos, a Maisy doçura em pessoa, a Sandra garota propaganda da Agroecologia, a Ana, enfim, agradecer de coração pela turma, a qual não escolhemos mais que conquistamos ao longo desses 4 anos e meio, a turma carrego 2010.1, meu muito obrigado por ter feito parte, com muitas risadas dadas, alegrias vividas, discussões feitas, contudo é minha turma, a turma

de Agroecologia, que possamos trilhar lindo caminhos e disseminar a Agroecologia por onde andares.

A todo corpo Docente do CCAA, representado nas pessoas de Shirleyde Santos, minha madrinha, a Élide Barbosa, companheira e conselheira de todos os momentos, a Leandro Andrade, sempre inventando possibilidades de engrandecer e elevar o conhecimento do aluno e a Chico por ter trazido o Curso de Agroecologia e ao professor *in memoriam* Ivan Coelho pela sua simplicidade de amar a natureza e ao próximo. Agradeço também, aos professores de outros departamentos que só fizeram somar e ensinar com qualidade e responsabilidade. Só tenho que desejar boas vibrações a todos estes que fizeram da minha carreira espetacular, me dando base e suporte para vencer as dificuldades que serão encontradas pela vida.

Aos queridos funcionários a qual faço questão de abraçar e dar um ótimo Bom Dia, nas pessoas de Antonio Fernandes (meu papai), Josely Dantas, Yuri Santos e Lurdinha a qual aperreio demais assim como os demais, os da cozinha, limpeza, administração, informática, laboratório e biblioteca, como também aos trabalhadores de campo, que nos ajudaram bastante nos serviços braçais.

A todos meus amigos e colegas, que direto ou indiretamente torceram por mim.

A minha Lagoa Seca, lugar que hoje faço morada nesta querida Paraíba, que hoje finquei minhas raízes, mesmo sendo Carioca, me sinto um nordestina nata.

A Instituição de Ensino Universidade Estadual da Paraíba e Escola Agrícola Assis Chateaubriand, campus II, Lagoa Seca-PB, por todos os momentos vividos, amigos feitos, risadas dadas, conhecimento adquirido, pelas festinhas brincadas e trabalhos desenvolvidos. Meu muito obrigado por ter escolhido e ter feitos grandes obras e realizado e conquistado a partir daqui meu futuro.

E por fim a minha dedicação ao Curso de Bacharel em Agroecologia. Do qual me realizo como profissional, mas me realizo mais como pessoal, por ter aprendido a entender que a vida é feita por opções e entender que o ambiental, vale mais que o econômico, já que vivemos em um mundo tão desigual, agradeço pelos projetos aqui desenvolvidos, como produção de hortas com a professora Socorro Duarte, Segurança Alimentar com a professora Shirleyde Santos e Fixação Biológica de Nitrogênio e duas monitorias, Fisiologia Vegetal e Microbiologia do Solo com professor Carlos Henrique. Contudo aprendi, que é preciso semear para colher bons frutos, aqui deixo minha sementinha em um mundo que quero e desejo ser sustentável e no que depender de mim, ele será a partir de hoje.

DEDICO

Aos meus pais, e a família Coelho e Bezerra,
e a todos os amigos presentes e ausentes.

OFEREÇO

A minha equipe de trabalho (Luanna,
Thiago, Bruna, Adriano e Felipe) e ao meu
Orientador, Carlos Henrique.

Se você tem metas para um ano. Plante arroz...

Se você tem metas para 10 anos. Plante uma árvore...

Se você tem metas para 100 anos então eduque uma criança...

Se você tem metas para 1000 anos, então preserve o meio ambiente.

(Confúcio).

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| RESUMO..... | IX |
| ABSTRACT | X |
| 1. INTRODUÇÃO | 11 |
| 2. MATERIAIS E MÉTODOS | 15 |
| 2.1 Caracterização da área | 15 |
| 2.2 Disposição do experimento | 15 |
| 2.3 Processo de Inoculação..... | 17 |
| 2.3.1 Controle de qualidade do inoculante utilizado | 18 |
| 2.3.2 Período de coleta e coleta do material vegetal | 18 |
| 2.3.3 Estimativa do número mais provável (NMP) nas raízes a nas folhas | 18 |
| 2.4 Variáveis bioquímicas a ser analisadas | 18 |
| 2.4.1 Prolina | 19 |
| 2.4.2 Glicina-betaína | 19 |
| 2.4.3 Análises Estatísticas | 19 |
| 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 21 |
| 3.1 Controle de qualidade do inoculante utilizado | 21 |
| 3.2. Estimativa do número mais provável (NMP) nas raízes a nas folhas | 21 |
| 3.3 Parâmetros Avaliados | 22 |
| 3.4 Prolina..... | 23 |
| 3.5 Glicina betaína..... | 25 |
| 4. CONCLUSÕES..... | 27 |
| 5. REFERÊNCIAS | 28 |

BEZERRA, Mariana Coelho. Eficiência de *Gluconacetobacter diazotrophicus* no aumento de solutos osmoprotetores em arroz vermelho sob deficiência hídrica. Lagoa Seca, Paraíba, 2014. Centro de Ciências Agrárias e Ambientais, Universidade Estadual da Paraíba.

RESUMO

Devido aos impactos ambientais decorrentes de secas prolongadas, da escassez e má utilização da água de boa qualidade, a humanidade tem voltado a sua atenção para formas de otimização do seu uso pelas plantas e para o desenvolvimento de práticas que resultem em menor exigência hídrica dos cultivos. Nesse contexto, bactérias endofíticas, como *Gluconacetobacter diazotrophicus*, promotoras de crescimento, podem influenciar a tolerância ao estresse hídrico, afetando diretamente o metabolismo das plantas por fornecerem substâncias que normalmente estariam pouco disponíveis e ou desencadeando um fenômeno conhecido como proteção cruzada. Pela importância econômica e social do arroz vermelho (*Oryza sativa* L.), cultivado em várias áreas do Semiárido brasileiro, principalmente na agricultura familiar, é necessário se estudar a possibilidade de incremento na tolerância ao estresse hídrico e maior eficiência nutricional das plantas, através da interação com *G. diazotrophicus*, objetivo central deste projeto. Neste trabalho, plantas de arroz vermelho, com e sem inoculação com *G. diazotrophicus*, foram submetidas a três condições de umidade do solo (deficiência hídrica): 30%, 50% e 70% da exigência hídrica, mais um tratamento controle (tratamento sem restrição de água). Após o estabelecimento dos níveis de estresse, serão avaliados parâmetros bioquímicos, teores de prolina livre e Glicina-Betaína, em plantas submetidas à deficiência hídrica. O genótipo 405 Embrapa Meio Norte de Arroz vermelho mostrou um alto teor de glicina-betaína e prolina quando inoculado com *G. diazotrophicus*. Esses osmoprotetores mostraram ser eficientes na avaliação da indicação e recuperação de plantas de arroz vermelho submetidas ao estresse hídrico.

Palavras-chave: *Oryza sativa* L.; variáveis bioquímicas; resistência hídrica.

BEZERRA, Mariana Coelho. Efficiency *Gluconacetobacter diazotrophicus* in increased osmoprotectors solutes in red rice under water stress. Centro de Ciências Agrárias e Ambientais, Universidade Estadual da Paraíba.

ABSTRACT

Due to the environmental impacts of prolonged droughts, shortages and bad use of good quality water, humankind has turned their attention to ways of optimizing its use by plants and the development of practices that result in lower water requirement of crops. In this context, endophytic bacteria such as *Gluconacetobacter diazotrophicus* growth promoters may influence tolerance to water stress, directly affecting plant metabolism by supplying substances that would normally be available and little or triggering a phenomenon known as cross-protection. The economic and social importance of red rice (*Oryza sativa* L.) grown in several areas of the Brazilian semiarid region, primarily on family farms, it is necessary to study the possibility of increasing the tolerance to water stress and higher nutrient efficiency of plants by interaction with *G. diazotrophicus* central objective of this project. In this work, red rice plants, with and without inoculation with *G. diazotrophicus*, was subjected to three conditions of soil moisture (water deficiency): 30%, 50% and 70% of the water requirement, plus a control (no treatment restriction of water). After the establishment of stress levels, biochemical parameters, levels of free proline and glycine-betaine will be evaluated in plants subjected to water deficit. Genotype 405 Embrapa Meio Norte Red Rice showed a high content of glycine betaine and proline when inoculated with *G. diazotrophicus*. These osmoprotectors shown to be effective in evaluating the indication and recovery of red rice plants subjected to drought stress.

Keywords: *Oryza sativa* L.; biochemical variables; water resistance.

1. INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) teve sua provável origem no sudeste do continente asiático, mais especificamente na Índia, há cerca de 12 mil anos (FREITAS, 2010). É uma cultura anual, pertencente à família Poaceae, do gênero *Oryza*, sendo de fácil adaptação às condições diferentes de solo e clima, possui um aerênquima encontrado nas folhas, colmos e raízes onde o transporte difusivo de O₂ através deste tecido permite a passagem gasosa de oxigênio das folhas para a rizosfera (GROOT et al., 2005; HOLZSCHUH et al., 2010).

A produção de arroz de acordo com os dados do Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA) (2013) com a safra de 2012/2013, o Brasil produziu 11, 74 milhões de toneladas. Se tratando da combinação de arroz com feijão, prato principal dos brasileiros, o arroz é um grande componente da segurança alimentar e nutricional, é um dos alimentos que apresentam um excelente balanço nutricional, possuindo em sua composição amido em altas concentrações 90% da matéria seca, proteínas (7%), fibras, lipídios (1% no arroz polido) e cinzas, como também minerais (28% no grão polido), vitaminas e açúcares livres (WALTER et al., 2008).

De uma maneira geral a preferência pelo um tipo de arroz se dá pela cultura, pela socioeconomia e tradição da região. O arroz beneficiado de pericarpo branco atendendo as normas do Ministério da Agricultura tornou-se o favorito pelo mercado e consumidor brasileiro sendo estes classificado comercialmente como integral, longo fino e do tipo 1. Apesar de ser considerada uma planta espontânea em algumas regiões do país, o arroz vermelho é bastante explorado na região Nordeste com ênfase na região do Vale do Piancó - PB e na Chapada do Apodí - RN, sendo também cultivado nos estados de Pernambuco e Ceará, onde há uma grande preferência por sua comercialização (PEREIRA, 2004).

O arroz vermelho também conhecido, como arroz da terra, arroz de Veneza ainda é pouco estudado. É uma espécie pertencente à mesma espécie do arroz branco (*Oryza sativa* L.) e caracteriza-se por apresentar ramificações secundárias nas panículas, espiguetas persistentes no pedicelo e lígulas com até 10 mm de comprimento (PEREIRA 2004). Possui uma substância conhecida como proantocianinas que confere a coloração vermelha aos grãos, característica condicionada pelos genes R_d no cromossomo 1 e R_c no cromossomo 7 (SWEENEY et al., 2006). Segundo Han (2006) essa pigmentação vermelha controlada por genes predomina apenas no pericarpo,

aparecendo no processo de maturação que é formado durante a dessecação das sementes.

A agricultura convencional, mais precisamente o agronegócio se apropria de pacotes tecnológicos destinados ao produtor, como a melhor opção de desenvolvimento, inserindo no ambiente agrícola, produtos químicos como adubos e agrotóxicos que causam impactos ambientais. Na chapada do Apodí, citado por Dutra (2014), o arroz vermelho recebe essas perfeitas condições, esses sinais de exaustão são notados em alguns países e locais de produção, o que demonstra sua insustentabilidade dentro da cadeia produtiva denotando em redução tanto da área produzida como na produtividade das plantas. Na prática isso pode ser mudado com bases agroecológicas de produção, Gliessman (2000) ressalta a importância desse modelo, e que já vem ganhando espaço na produção de alimentos, assim caminhando para um agente de mudanças sociais e ecológicas complexas. Deste modo é possível seguir o caminho da sustentabilidade e fazer um redesenho do agroecossistema.

O Nitrogênio atmosférico (N_2) está presente na atmosfera em torno de 70%. É um macronutriente essencial para as plantas sem relação aos outros elementos, pois participa da síntese de proteínas e enzimas contribuindo para o crescimento, é o mais solicitado em quantidades maiores, sendo este um fator importante em função do potencial de produtividade. A dosagem de nitrogênio (N) está relacionada com a estatura das plantas e na fertilidade do solo. Tem função de estimular o crescimento do sistema radicular do arroz, e conseqüentemente, favorece perfilhamento, aumenta o número de espiguetas por panícula e a porcentagem de proteína nos grãos (BUZETTI et al, 2006). Campos et al, (2003) demonstra que a baixa disponibilidade de N dos solos é responsável, em grande parte, pelos baixos níveis de rendimento das culturas, uma vez que a aplicação de fertilizantes pode ser onerosa face aos altos custos deste insumo.

Uma alternativa viável para os agricultores produzirem de forma ecologicamente correta e sustentável é o uso de microrganismos diazotróficos por meio do qual realizam Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN). Substituindo os fertilizantes pelo processo de FBN, o crescimento e o desenvolvimento vegetal podem ser melhorados, e, além disso, estudos revelaram que a aplicação deste microrganismo em plantas de arroz, leva a produção de grãos com maior conteúdo protéico (SILVEIRA, 2008). A FBN está intrinsecamente ligada à enzima nitrogenase, onde essa enzima é responsável pela quebra da tripla ligação existente entre o nitrogênio atmosférico. Segundo Silveira (2008) a nitrogenase é uma enzima versátil composta por duas unidades básicas: uma

unidade ferro-proteína que coleta a força redutora e a outra unidade ferro-molibdênio, que reduz o substrato. Para Franche et al., (2009) há uma conservação bastante alta por parte dos microrganismos diazotróficos de vida livre e simbióticos em proteger essa enzima que é sensível ao oxigênio. Essa sensibilidade ao oxigênio promove que os microrganismos utilizem mecanismos a fim de proteger a enzima como os nódulos que são estruturas diferenciadas. A FBN pode ser realizada por meio de simbioses (formação de nódulos) ou endofíticas (colonizando o interior das plantas) cujo processo é caracterizado pela captura do nitrogênio atmosférico, e disponibilização em uma forma assimilável para as plantas.

Bactérias Promotoras de Crescimento Vegetal (BPCV) são capazes de produzir compostos para nutrição e facilitar a absorção de nutrientes, bem como estimular o crescimento das plantas com fitormônios, resistência ambiental e atuarem como agentes de biocontrole. Bastian et al. (1998) verificaram que as bactérias *Herbaspirillum seropedicae* e *Gluconacetobacter diazotrophicus*, bactérias diazotróficas endofíticas produzem giberelinas e ácido indol acético (AIA), sendo possível explicar alguns efeitos benéficos destas bactérias dentro da planta.

Gluconacetobacter diazotrophicus é uma bactéria diazotrófica endofítica encontrada colonizando o apoplasto de um grande número de plantas como cana-de-açúcar (CAVALCANTE e DOBEREINER, 1988) coloniza também batata-doce (*Ipomoea batatas*), café (*Coffea arabica*), abacaxi (*Ananas comosus*) (BALDANI e BALDANI, 2005) e arroz (*Oryza sativa*) (MENESES et al., 2011). Além da capacidade de fixar nitrogênio em associação com plantas de cana (SEVILLA et al., 2001), foi demonstrado que esta bactéria tem outras capacidades fisiológicas interessantes tais como a produção de hormônios vegetais, solubilização do fósforo e zinco e controle de fitopatógenos (SARAVANAN et al., 2007).

A interação entre plantas e BPCV é bastante conhecida, podendo influenciar diretamente no metabolismo das plantas, fornecendo substâncias que normalmente estariam em menor quantidade, pela absorção de nutrientes ou também pelo biocontrole de patógenos (BASHAN & DE-BASHAN, 2005). A presença de bactérias pode também levar à produção de substâncias osmorreguladoras pela planta e assim mitigando a condição de seca (DIMKPA et al., 2009). A inoculação dessas bactérias podem ainda aliviar os efeitos negativos causados por estresse nas plantas, garantindo maior fotossíntese e abertura estomática (HAN & LEE, 2005), foi constatado também, que o tratamento com bactérias teriam melhores resultados em situação de restrição

hídrica, por exemplo, em plantas de arroz tratadas com bactérias osmotolerantes proporcionaram maior diferença de massa de matéria seca entre raiz de plantas tratadas em relação ao controle sem bactérias em condições de menor disponibilidade de água, enquanto que em situação de boa disponibilidade hídrica essa diferença não foi registrada (YUWONO et al., 2005).

O presente trabalho teve como objetivo verificar as alterações na quantidade de solutos osmoprotetores (prolina livre e Glicina-betaína) em arroz vermelho inoculado com *Gluconacetobacter diazotrophicus* sob restrição hídrica.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Caracterização da área

O experimento foi realizado no Viveiro Florestal da UEPB, localizado nas seguintes coordenadas: 07° 12' 42,99'' de latitude Sul, 35° 54' 36,27'' longitude Oeste, 521 metros altitude, e analisado no Laboratório de Ecofisiologia de plantas cultivadas, ECOLAB, todos localizados no CAMPUS I, em Campina Grande – PB, no período compreendido entre setembro de 2013 a junho de 2014.

2.2 Disposição do experimento

A pesquisa com arroz vermelho se dividiu em dois momentos, a primeira em condição de casa de vegetação e a segunda em análises no laboratório. O experimento consistiu dos seguintes tratamentos: inoculação: I1= sementes não inoculadas e I2= sementes inoculadas com a bactéria endofítica *G. diazotrophicus* (Coleção de culturas da Embrapa Agrobiologia. Centro Nacional de Pesquisa em Agrobiologia), um genótipo (G1= 405 Embrapa Meio Norte) em plantas sem e com diferentes condições de restrição hídrica, sendo U1= 30-35%; U2= 50-55%; U3= 70-75% e U4= 100%, as condições de restrição hídrica. Resultando em um esquema fatorial de (2x4) em 8 tratamentos. Utilizando-se o delineamento inteiramente casualizados, com 4 repetições, e cada parcela constituída por um lisímetro de drenagem. Adicionalmente, após o regime de restrição hídrica (15 dias) as plantas foram irrigadas normalmente, tendo sido analisadas também 1 uma hora após o estresse). Foram semeadas 70 sementes por lisímetro em sulcos duplos, deixando-se após desbaste 60 plantas por parcela, respectivamente. As porcentagens de umidade do solo foram determinadas por psicometria, utilizando o Dewpoint Potentia Meter (WP4-T), associada a uma curva de retenção de água no solo (Figura 1), realizada na Embrapa Solos – Rio de Janeiro.

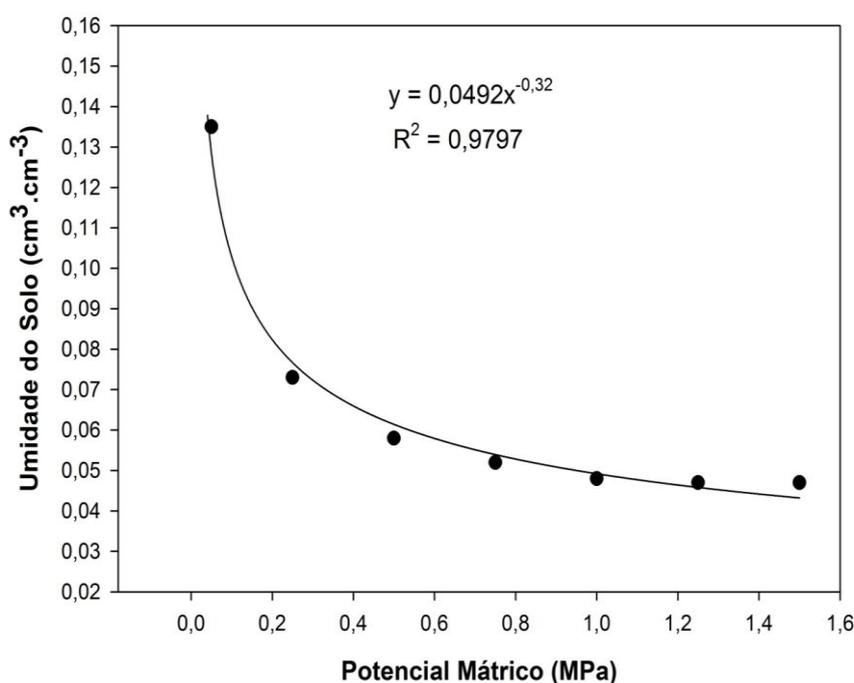


Figura 1: Curva de retenção de água no solo

Os lisímetros apresentam 100 cm de comprimento, 50 cm de largura e 50 cm de profundidade, instalados na base um sistema de drenagem por meio de tubulação e registro sendo preenchidos com uma camada de 5 cm de brita, mais 5 cm de areia grossa e preencheu-se o restante com material de solo franco-arenoso. A área constituiu-se de 32 unidades experimentais divididas para os tratamentos de inoculação e sem inoculação e estresse hídricos.

O solo utilizado foi coletado nos primeiros 20 cm do horizonte A de um solo franco-arenoso (Tabela 01).

Tabela 1. Análise química da terra utilizada no experimento, UFCG – 2013.

| pH em H ₂ O | Al | Ca+Mg | Ca | Mg | P | K | N | M.O. |
|---------------------------|------------------------------------|-------|------|---------------------|---|-------|------|------|
| | cmol _c dm ⁻³ | | | mg dm ⁻³ | | | % | |
| 5,10 | 0,00 | 2,30 | 1,50 | 0,70 | * | 31,00 | 0,12 | 1,69 |

*Resultado abaixo de 5 mg dm⁻³

A irrigação foi realizada a partir da semeadura, mantendo-se a umidade do solo próximo à capacidade de campo. Os registros foram abertos a cada dois a três dias para renovação da água. Ocorreu supressão da irrigação no estágio reprodutivo R3 (emissão

da panícula) e reinício de irrigação no estágio reprodutivo R6 (grão leitoso) (Figura 2). As fases e os estádios do ciclo se basearão em classificação de Counce et al. (2000).

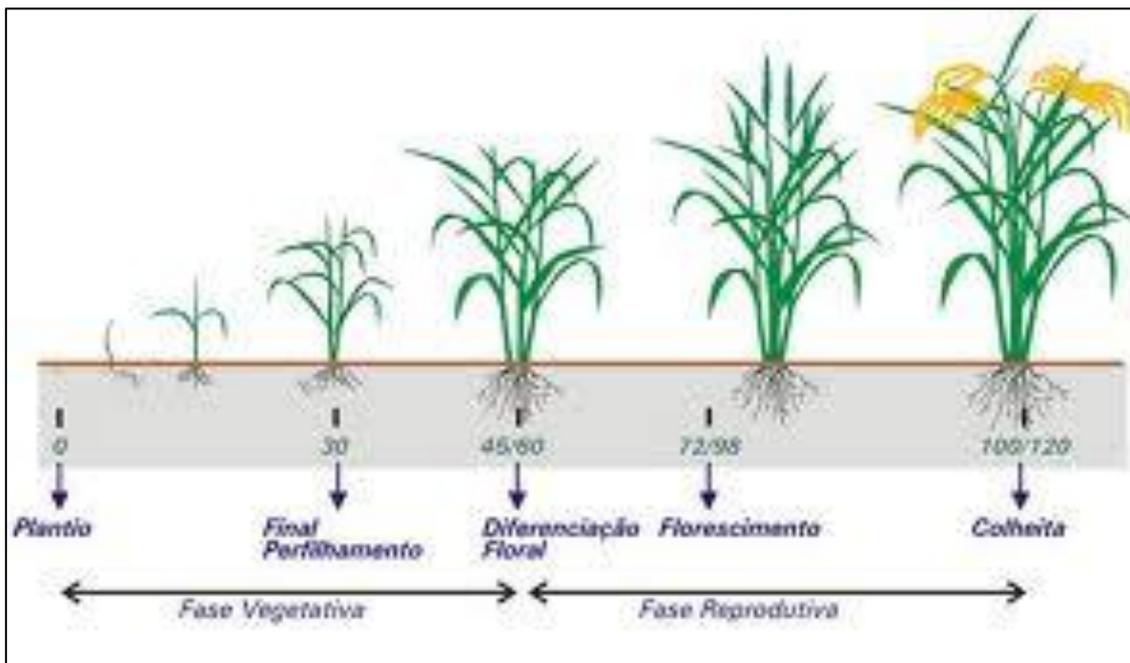


Figura 2: Fases e estádios reprodutivos do arroz (Fonte: LANNA et al., 2013)

2.3 Processo de Inoculação

Na inoculação, foi utilizada uma estirpe selecionada de *G. diazotrophicus* pela suas características de solubilizar fósforo *in vitro*, produção de AIA e redução de acetileno: *G. diazotrophicus* PAL5. A estirpe foi reativada em tubos de ensaio contendo 5 ml de meio DYGS (2 g de glicose; 1,5 g de Peptona; 2 g de extrato de levedura; 0,5 g de $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,5 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; para 1L, pH 6,8 (RODRIGUEZ NETO et al., 1986), a 30 °C sob agitação a 150 rpm por 48 horas. Em seguida, foi semeada em placas com meio semi-específico, LGI-P (DÖBEREINER et al., 1995). Após a verificação da pureza, a estirpe foi multiplicada em tubos contendo meio DYGS nas condições citadas anteriormente. As células foram lavadas com solução salina e a densidade óptica (em 600 nm) foi ajustada para 0,9 – 1,5 ml, onde logo após esta ressuspensão bacteriana foi utilizada para inocular Erlenmeyers de 250 ml contendo 50 ml do meio DYGS a 30 °C sob agitação a 150 rpm por 48 horas (figura 4). O número de células viáveis foi determinado pelo método de microgota, no respectivo meio para cada bactéria (SPENCER & RAGOUT, 2001). Adicionou-se 15 ml do caldo bacteriano em sacos de

polipropileno contendo 35 g de turfa para produzir o inoculante utilizado. Em seguida, foi homogeneizado e incubado a 30 °C por um período de 24 horas (fase de maturação).

As sementes de arroz foram umedecidas com água estéril e misturadas com a turfa numa proporção de 250 g de inoculante para cada 20 kg de sementes de arroz (FERREIRA, 2004). Em seguida as sementes inoculadas foram colocadas para secar a sombra.

2.3.1 Controle de qualidade do inoculante utilizado

Foi realizada uma contagem do número mais provável (NMP) das células do inoculante e da população aderida às sementes de acordo com (DÖBEREINER et al., 1995).

2.3.2 Período de coleta e coleta do material vegetal

A coleta do material vegetal foi realizada depois de 15 dias que as plantas estavam sob estresse hídrico, na fase reprodutiva. Foram coletadas duas folhas por repetição, com auxílio de luvas, tesoura e envolvidas em papel alumínio, em seguida, posta no gelo para conservá-las. Uma hora após reidratar todas as parcelas, foram coletadas outras amostras para serem feitas análises e compará-las com as plantas no estresse.

2.3.3 Estimativa do número mais provável (NMP) nas raízes e nas folhas

Foi utilizada a técnica do NMP de acordo com a metodologia descrita por Döbereiner et al. (1995). A contagem foi feita na época do estabelecimento do estresse. Foram trituradas 5 g de raiz e folhas, separadamente, lavadas no liquidificador, na presença de 45 ml de água destilada estéril e em seguida foram diluídos seriadamente até 10^{-6} . Logo após, 100µl dos 4 extratos mais diluídos foram colocados em frascos com 5 ml dos meios LGI-P. A contagem foi realizada após 7 dias de incubação.

2.4 Variáveis bioquímicas a ser analisadas

2.4.1 Prolina

O teor de prolina foi determinado utilizando-se o método de Bates et al. (1973). Para a realização do teste colorimétrico, pipetaram-se alíquotas de 1,0 mL do extrato bruto; 1,0 mL de ninhidrina ácida; 1,0 mL de ácido acético glacial. Após banho-maria fervente por 60 min., resfriaram-se os frascos e efetuou-se leitura do composto colorido a 520 nm. Como referência, foi realizada uma curva padrão com L-prolina.

2.4.2 Glicina-betaína

A Glicina-betaína foi determinada segundo o método de Grieve e Grattan (1983). As amostras foram maceradas em 2 mL de água destilada sob agitação constante, à temperatura ambiente, por um período de 4 horas, seguindo de centrifugação a 3.500 g por 10 minutos, a 25 °C. O sobrenadante foi coletado e dele retirado uma alíquota de 250 µL para a quantificação de glicina-betaína. Para isso, 250 µL de ácido sulfúrico concentrado foram adicionados a cada amostra, seguindo de incubação em banho de gelo por 1 hora. Após esse tempo, 200 µL de iodeto de potássio (a aproximadamente 8°C) foram adicionados e a mistura incubada por 16 horas a 0°C. As amostras foram centrifugadas a 3.500 g, por 15 minutos a 0°C, e o resíduo coletado. Este foi lavado por duas vezes em 2mL de ácido sulfúrico 1 N (a aproximadamente 8°C) e após centrifugação a 3.500 g, por 5 minutos a 0 °C, o precipitado foi dissolvido em 3 mL de 1,2-dicloroetano, por meio de agitação vigorosa. Após 2,5 horas de repouso, a ABS das amostras foi obtida a 365 nm e para os cálculos foi utilizada uma curva padrão de glicina betaína. Os resultados foram expressos em mg glicina-betaína g⁻¹ MS.

2.4.3 Análises Estatísticas

Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente, obtendo-se valores de teste F e comparando-se as médias por meio de Teste Tukey a 1%, para os fatores qualitativos; os níveis de umidade do solo, por serem de natureza quantitativa, foram analisados por estudos de regressão polinomial. As variáveis foram relacionadas por

meio de correlação linear de Pearson. As análises foram realizadas no software SigmaPlot versão 11.0 (Systat Software Inc., San Jose, CA, USA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Controle de qualidade do inoculante utilizado

A contagem do número de células viáveis presentes no inoculante mostrou uma população acima de 10^8 g^{-1} e a ausência de contaminantes (Tabela 2). Alguns trabalhos realizados na Embrapa Agrobiologia, com o intuito de selecionar o veículo de inoculação utilizando as estirpes *Herbaspirillum* spp. e *Burkholderia* spp. mostraram que o número de células viáveis se mantém acima de 10^8 g^{-1} por um período de até 180 dias após a produção (FERREIRA, 2004). Bashan (1998) recomenda que a população no inoculante seja superior a 10^8 células g^{-1} para se obter uma inoculação bem sucedida. Por outro lado, a contagem do número de células presentes nas sementes peletizadas mostrou uma população ao redor de 10^9 células g^{-1} na semente. É importante introduzir no solo um número suficiente de células para garantir uma população com a capacidade de competir com os microorganismos nativos e sobreviver às condições adversas no solo.

Tabela 2: Contagem realizada no inoculante produzido e nas sementes inoculadas com a estirpes *G. diazotrophicus* PAL5, utilizada no experimento. Campina Grande-PB, 2014.

| Tratamentos | Meios de cultura | Log do n° células g^{-1} | | |
|-------------|------------------|-----------------------------------|-------------------|-----------------------|
| | | Inoculante | Semente inoculada | Semente não inoculada |
| PAL5 | LGI-P* | 9,65 | 9,30 | N.D. |

*Meio LGI-P (semi seletivo para *Gluconacetobacter* spp.). N.D. (Não detectada)

3.2. Estimativa do número mais provável (NMP) nas raízes e nas folhas

A análise sobre o número de bactérias diazotróficas presentes nas raízes e folhas lavadas, avaliadas durante o estágio de desenvolvimento reprodutivo, mostrou a presença de bactérias diazotróficas em todos os tratamentos inoculados, porém não sendo detectadas nos tratamentos controle (não inoculados) (Tabela 3). Em todos os tratamentos inoculados se verificaram concentrações de *G. diazotrophicus* PAL5 maiores que 10^5 UFC g^{-1} . Punschke et al. (2005), encontraram resultados similares quando quantificaram bactérias diazotróficas em duas variedades de arroz cultivadas no Uruguai, onde 69% das amostras de raízes apresentaram concentrações maiores que 10^5

UFC g⁻¹. Por outro lado, Sabino (2007) não encontrou diferença no número de células entre os tratamentos inoculados com *B. brasilense* e *H. seropedicae* e os não inoculados em plantas de arroz avaliadas nos estádios de florescimento e maturação de grãos.

Dentre os microorganismos com capacidade de fixar nitrogênio existem diferentes procaríotos, como arqueobactérias, cianobactérias, bactérias gram-positivas e gram-negativas que apresentam grande diversidade morfológica, fisiológica, genética e filogenética (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). Dentro da microbiota do solo, particularmente na rizosfera, está uma grande parte das bactérias diazotróficas (WAKELIN et al., 2009). Baldani (1996) sugere que em sistemas com solo, o controle não inoculado possui populações nativas de bactérias diazotróficas que alcançam o mesmo número que as inoculadas. Estes resultados mostram que as populações submetidas às mesmas condições tendem a estabilizar-se no solo. No entanto a presença de bactérias diazotróficas não necessariamente significa que a planta se beneficie da FBN ou outros mecanismos de promoção de crescimento vegetal.

Foi observada diferença na população de bactérias entre os tecidos de arroz vermelho coletados sob as condições testadas (Tabela 3). Rouws (2010) também não encontrou uma tendência definida a respeito do comportamento das estirpes *H. seropedicae* ZAE94, *S. azotifigens* e *S. trueperi* testadas durante o ciclo da cultivar de arroz BRS Talento. Experimentos de inoculação de arroz com e sem adubação nitrogenada mostraram que o número de bactérias diminuiu com a idade da planta, atingindo o equilíbrio no estágio de maturação, o que corresponde à fase final do ciclo da cultura (BALDANI, 1996; FERREIRA, 2004).

Tabela 3. Estimativa do número mais provável (Log do n° células g⁻¹) de *G. diazotrophicus* PAL5 presentes nas raízes e folhas de plantas de arroz vermelho. Coletadas nas fases de desenvolvimento vegetativo. Campina Grande-PB, 2014.

| Tratamento | Meio de Cultura | Reprodutivo | |
|---------------|-----------------|--------------|--------------|
| | | Raízes | Folhas |
| Não inoculado | LGI-P** | N.D. | N.D. |
| PAL5 | LGI-P** | 5.44 ± 0.24* | 5.36 ± 0.34* |

*Média ± desvio padrão (n=3), **Meio LGI-P (semi seletivo para *Gluconacetobacter* spp.). N.D. (Não detectada).

3.3 Parâmetros Avaliados

Na Tabela 4, encontra-se o resultado da análise de variância para o genótipo 405 Embrapa Meio Norte de arroz vermelho sob diferentes condições de restrição hídrica (100, 70, 50 e 30 % da capacidade de campo) e diferentes condições de inoculação (com e sem inoculação). Foi constatada uma diferença altamente significativa para as variáveis PRO(E), GLI(E), quando analisados a 1% de probabilidade. Verificou-se, ainda, que as plantas inoculadas e não inoculadas após a reidratação não diferenciaram ($p \geq 0,05$), PRO(R) e GLI(R), o mesmo aconteceu na interação.

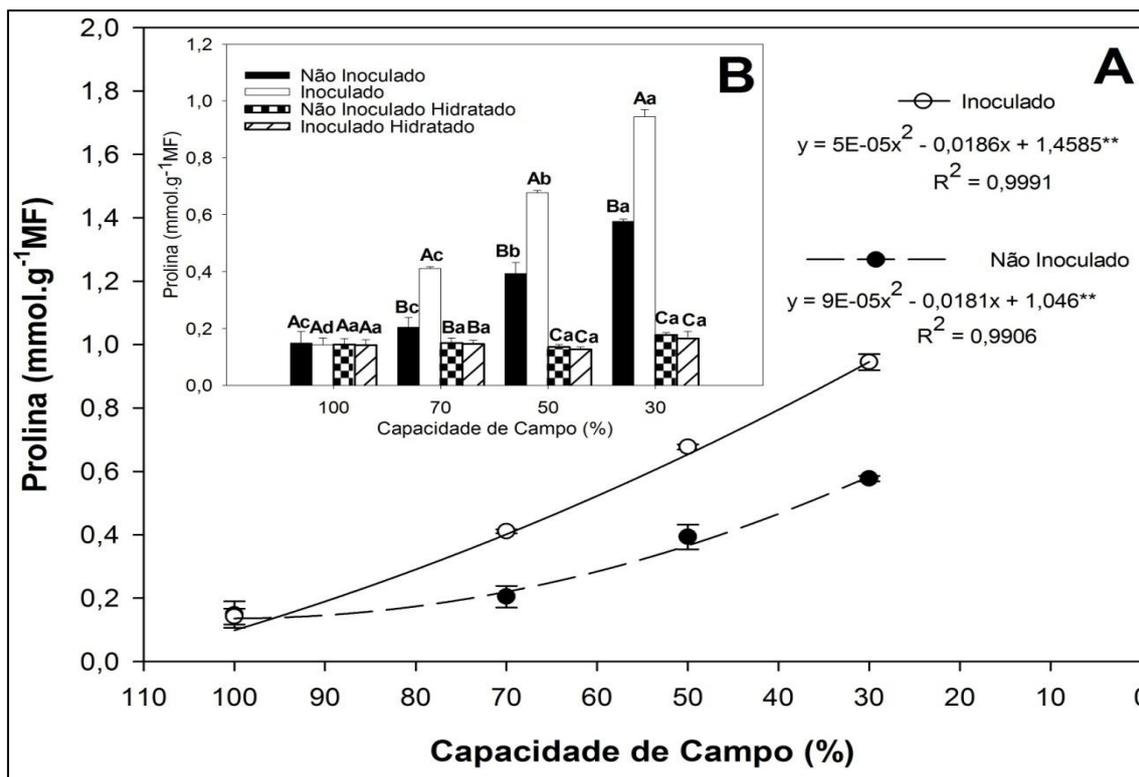
Tabela 4. Resumo da análise de variância para teores de Prolina livre, sob condições de estresse (PRO(E)); teores de Prolina livre, sob condições de reidratação (PRO(R)); teores de Glicina-Betaína, sob condições de estresse (GLI(E)); teores de Glicina-Betaína, sob condições de reidratação (GLI(R)) em arroz vermelho, sob duas condições de inoculação e sob quatro manejos hídricos. Campina Grande-PB, 2014.

| F.V. | G.L. | Quadrados Médios | | | |
|---------------|------|-----------------------|-------------------------|------------------------|----------------------|
| | | PRO (E) | PRO (R) | GLI (E) | GLI (R) |
| C.I. | 1 | 0,0478 ^{**} | 0,000332 ^{ns} | 1091,671 ^{**} | 26,109 ^{ns} |
| % C.C. | 3 | 0,0231 ^{**} | 0,00225 ^{ns} | 532,181 ^{**} | 40,802 ^{ns} |
| C.I. x % C.C. | 3 | 0,00608 ^{**} | 0,0000460 ^{ns} | 153,285 ^{**} | 21,687 ^{ns} |
| Resíduo | 24 | 0,0288 | 0,00105 | 1,570 | 0,769 |
| Total | 31 | 0,000317 | 0,00104 | 102,766 | 7,485 |
| C.V. (%) | | 33,12 | 21,82 | 20,52 | 6,12 |

Os resultados de Prolina livre (PRO) expressos em mmol.g^{-1} MF e os resultados de Glicina-Betaína (GLI) expressos em mmol.g^{-1} MF. NS - não significativo; **, * - significativo a 1% e 5% de probabilidade, pelo teste F.

3.4 Prolina

Analisando a figura 2B, nota-se que houve diferença significativa entre os tratamentos de estresse hídrico, 100%, 70%, 50% e 30%, em seus respectivos fatores, quando não inoculado e inoculado, nos teores de prolina. Por outro lado, não se diferenciando entre si nos tratamentos de 100% e 70% da capacidade de campo para o arroz não inoculado. Observou-se também, que não houve diferença significativa entre os tratamentos após as plantas serem reidratadas (onde, foi feita uma coleta no momento de estresse, irrigou-se e após uma hora, novamente coletou amostras) mesmo quando inoculado e não inoculado.



*As letrinhas maiores representam os tratamentos não inoculado, inoculado, não inoculado hidratado e inoculado hidratado dentro do estresse hídrico.

*As letrinhas menores representam a comparação do tratamento entre os estresses hídricos.

Figura 2. Teores de prolina livre em folhas de arroz vermelho sob estresse de 15 dias e reidratação (1 hora). Campina Grande/PB.

Constatou-se ainda que, quando o arroz vermelho encontrava-se na situação de 100% de capacidade de campo não houve diferença significativa entre os fatores inoculado, não inoculado, inoculado hidratado e não inoculado hidratado. No entanto, houve diferença significativa entre os fatores inoculado, não inoculado, inoculado hidratado e não inoculado hidratado para 70% da capacidade de campo, havendo insignificância para não inoculado, não inoculado hidratado e inoculados hidratado (Figura 2B).

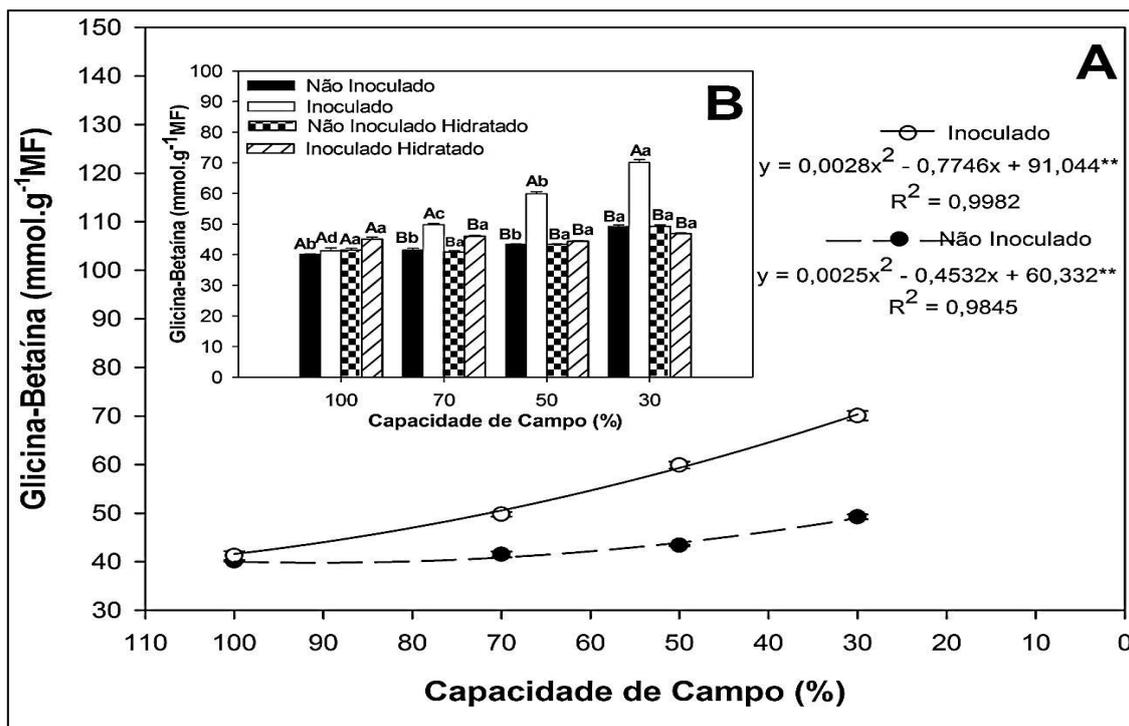
Estando a planta em 50% e 30% da capacidade de campo, verificou-se diferença entre inoculado e não inoculado, não inoculado hidratado e inoculado hidratado, não havendo diferença significativa entre inoculado hidratado e não inoculado hidratado (Figura 2B). Resultados semelhantes a estes foram encontrados por Dutra (2014) em pesquisa sobre ecofisiologia e alteração bioquímica do arroz vermelho sob níveis de água no solo e cultivo organomineral, verificou que a intensificação do nível de prolina quando se aplicou a menor lâmina de irrigação N1 (70%), ou seja, quando o arroz passou por um déficit hídrico maior, apresentando desta forma um efeito significativo

no arroz vermelho em função dos níveis de água no solo (AD), resultando no acúmulo deste aminoácidos. Trabalhos como de Abdul Jaleel et al. (2007) estudando os efeitos da prolina no arroz constatou-se sua função osmoprotetora, como sendo um dos mecanismos adaptativos dos vegetais aos inúmeros efeitos causados pelos estresses abióticos, mantendo-se o equilíbrio hídrico e preservando a integridade celular de proteínas, enzimas e membranas.

O acúmulo de prolina em plantas representa uma importante resposta adaptativa a estresses abióticos, principalmente devido à sua propriedade osmoprotetora (CAMPOS, 2009). Segundo Kavi Kishor et al., 2005, durante situações de seca e alta salinidade, o seu acúmulo reduz a osmolaridade da célula, promovendo o influxo de água, que por sua vez promove a manutenção do turgor necessário para a expansão celular e aumento da rigidez mecânica de células e tecidos. Neste caso, com o aumento do estresse hídrico, verificou-se aumento nos teores de prolina quando o arroz vermelho foi inoculado com a bactéria *G. diazotrophicus*, havendo um incremento de 32,9% e não inoculado de 18,8% (Figura 2A).

3.5 Glicina betaína

Em relação aos teores de glicina-betaína em arroz vermelho, observou-se uma tendência semelhante, onde houve uma diferença altamente significativa entre os tratamentos de estresse hídrico em 100%, 70%, 50% e 30% para as plantas inoculadas e não inoculadas. No entanto, não se diferenciando entre si os tratamentos de 100%, 70% e 50% da capacidade de campo para o arroz não inoculado. Observou-se também que não houve diferença significativa nos tratamentos após as plantas serem reidratados mesmo quando inoculado e não inoculado (Figura 3B).



*As letrinhas maiores representam os tratamentos não inoculado, inoculado, não inoculado hidratado e inoculado hidratado dentro do estresse hídrico.

*As letrinhas menores representam a comparação do tratamento entre os estresses hídricos.

Figura 3: Teores de Glicina-Betaína em folhas de arroz vermelho sob estresse de 15 dias e reidratação (1 hora). Campina Grande/PB.

Constatou-se que com o aumento de estresse hídrico nas plantas se teve uma maior absorção de glicina-betaína nas plantas inoculadas, diferindo estatisticamente dos não inoculados, inoculados hidratados e não inoculados hidratados (Figura 3B).

Este resultado também ocorre em plantas de arroz sob estresse salino, sendo observado que esta cultura possui baixíssima capacidade para acumular glicina-betaína atuando com baixa intensidade na osmoproteção celular aos sais (CHA-UM et al., 2006). Em pesquisas realizadas por Carlim e Santos (2009) com indicadores fisiológicos da interação entre déficit hídrico e acidez do solo em cana-de-açúcar, verificaram que a glicina-betaína contribui para o ajuste osmótico em plantas jovens de cana-de-açúcar, sob o efeito interativo dos estresses moderados de acidez ($V = 55\%$ a $V = 34,9\%$), em solos com baixo potencial hídrico.

Ainda em relação, as plantas de arroz vermelho inoculado e não inoculado com o aumento do estresse, foi observado um acréscimo no teor de glicina-betaína total tendo um incremento de 138% e 81%, respectivamente, sendo que as inoculadas tiveram maior concentração desse osmoprotetor (Figura 3A).

4. CONCLUSÕES

O arroz vermelho inoculado com *G. diazotrophicus* constitui-se numa potencial ferramenta para mitigação do estresse hídrico;

Os parâmetros avaliados, teores de prolina livre e glicina-betaína, mostraram ser eficientes na avaliação da indicação e recuperação de plantas de arroz vermelho submetidas ao estresse hídrico.

5. REFERÊNCIAS

ABDUL JALEEL, C.; MANIVANNAN, P.; KISHOREKUMAR, A.; SANKAR, B.; GOPI, R.; SOMASUNDARAM, R.; PANNEERSELVAM, R. Alterations in osmoregulations, antioxidant enzymes and indole alkaloid levels in *Catharanthus roseus* exposed to water deficit. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.59, p.150-157, 2007.

BALDANI, V. L. D. **Efeito da Inoculação de *Herbaspirillum* spp.. no processo de colonização e infecção de plantas de arroz, e ocorrência e caracterização parcial de uma nova bactéria diazotrófica.** 1996. 238 p. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: Special emphasis on the Brazilian experience. **Anais Da Academia Brasileira De Ciencias**, v. 77, n. 3, p. 549-579, 2005.

BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. E. Plant Growth-Promoting In: HILLEL, D., In **Encyclopedia of soils in the environment**. 1.ed, Oxford, v. 1, p. 103-115, 2005.

BASTIAN, F.; COHEN, A.; PICCOLI, P.; LUNA, V.; BARALDI, R.; BOTTINI, R. Production of indole-3-acetic and gibberelins A1 and A3 by *Acetobacter diazotrophicus* and *Herbaspirillum seropedicae* in chemically-defined culture media. **Plant Growth Regulation**, v.24, p. 7-11, 1998.

BATES, L.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D.; Rapid determination of free proline for water - stress studies. **Plant and Soil**, v.39, p.205-207. 1973.

BUZETTI, S; BAZANINI, G.C; FREITAS, J.G; ANDREOTTI, M; ARF, O; SÁ, M.E; MEIRA, F.A. Resposta de cultivares de arroz a doses de nitrogênio e do regulador de crescimento cloreto de cloromequat. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.41, n.12, p.1731-1737, dez. 2006.

CAMPOS, V. B. (2009) - **Crescimento inicial do maracujazeiro amarelo em solo sódico com biofertilizante.** Dissertação de Mestrado, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Areia, 52p.

CAMPOS, D.V.B; RESENDE, A.S; ALVES, B.J.R; BODDEY, R.M; URQUIAGA, S. Contribuição da fixação biológica de nitrogênio para a cultura de arroz sob inundação. **Agronomia**, vol. 37, nº 2, p. 41 - 46, 2003.

CARLIN, S. D. e SANTOS, D. M. M. dos. Indicadores fisiológicos da interação entre déficit hídrico e acidez do solo em cana-de-açúcar. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.44, n.9, p.1106-1113, set. 2009.

CAVALCANTE, V. A.; DOBEREINER, J. A new acid-tolerant nitrogen-fixing bacterium associated with sugarcane. **Plant and Soil**, v. 108, n. 1, p. 23-31, 1988.

CHA-UM, S.; SUPAIBULWATANA, K.; KIRDMANEE, C. Water relation, photosynthetic ability and growth of Thai jasmine rice (*Oryza sativa* L. ssp. indica cv. KDML105) to salt stress by application of exogenous glycinebetaine and choline. **Journal Agronomy & Crop Science**, 192: 25-36. 2006.

COUNCE, P.A.; KEISLING, T.C.; MITCHELL, A. J. A uniform, objective and adaptive system for expressing rice development. **Crop Science**, v.40, p.436-443, 2000.

DIMKPA, C.; WEINAND, T.; ASCH, F. Plant–rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. **Plant, Cell and Environment**, v.32, p.1682–1694, 2009.

DÖBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas**. 60 p, 1995.

DUTRA, K.O.G. **Ecofisiologia e alteração bioquímica do arroz vermelho sob níveis de água no solo e cultivo orgâmineral**. 2014. 72p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias)- Universidade Estadual da Paraíba, 2014.

FERREIRA, J. S. **Seleção e avaliação de veículos para inoculação de bactérias diazotróficas na cultura do arroz inundado**. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Ciência do solo) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 44p. 2004.

FRANCHE, C.; Lindstrom, K.; Elmerich, C. Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants. **Plant Soil**, v.321, p.35-59, 2009.

FREITAS, G. A. **Produção e área colhida de arroz no Nordeste**. Banco do Nordeste. Ano IV, nº 23, 1-8, dezembro de 2010.

GLIESSMAN, S. R. **Agroecologia, processos ecológicos em agricultura sustentável**. Porto Alegre: Editora Universidade. 2000. 613p.

GRIEVE, C.M.; GRATTAN, S.R. Rapid assay for determination of water soluble quaternary ammonium compounds. **Plant and Soil**, v.70, p.303-307, 1983.

GROOT, T.T.; van BODEGOM, P.M.; MEIJER, H.A.J. & HARREN, F.J.M. Gas transport through the root-shoot transition zone of rice tillers. **Plant Soil**, 277:107-116, 2005.

HAN, L.; BOHNEN, H.; ANGHINONI, I. Genetic analysis and histological study of red seed in rice. **Acta Genetica Sinica**, Pequing, v. 33, n. 6, p. 559-564, 2006.

HAN, H. S.; LEE, K. D. Plant growth promoting rhizobacteria effect on antioxidant status, photosynthesis mineral uptake and growth of lettuce under soil salinity. **Research Journal of Agriculture and Biological Sciences**, v.1, p. 210-215, 2005.

HOLZSCHUH, M.J.; BOHNEN, H.; ANGHINONI, I. Avaliação da porosidade e placa ferrica de raízes de arroz cultivado em hipoxia. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, 34:1763-1769, 2010.

IRGA - Instituto Rio Grandense do arroz (2013). Disponível em: http://www.irga.rs.gov.br/upload/2013102410161producao_rs_e_brasil.pdf

KAVI KISHOR, P. B.; HONG, Z.; MIAO, G. H.; HU, C. A. A.; VERMA, D. P. S. Overexpression of Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase increases proline production and confers osmotolerance in transgenic plants. **Plant Physiology**, v.108, p.1387–1394, 1995.

LANNA, A. C.; CARVALHO, M. A. de F.; SILVEIRA, R. D. D.; HEINEMANN, A. B.; BRONDANI, C. Protocolo de deficiência hídrica em arroz de terras altas para análise de transcriptoma. **Comunicado técnico, 210. Embrapa Arroz e Feijão**, 2013.

MENESES, C. H. S. G.; ROUWS, L. F. M.; SIMOES-ARAÚJO, J. L.; VIDAL, M. S.; BALDANI, J. I. Exopolysaccharide production is required for biofilm formation and plant colonization by the nitrogen-fixing endophyte *Gluconacetobacter diazotrophicus*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 24, p.1448–1458, 2011.

MOREIRA, F.M.S., SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2a ed. UFLA, Lavras, Brasil. 2006, 729 p.

NEVES, M. J.; TERENCEZI, H. F.; LEONE, F. A.; JORGE, J. A. Quantification of trehalose in biological samples with a conidial trehalase from the thermophilic fungus *Hudicolagriseavar. thermoidea*. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v.10, p.17-19, 1994.

PEREIRA, J. A. **O arroz-vermelho cultivado no Brasil**. Teresina; Embrapa Meio-Norte, 2004.

PUNSCHKE, K.; CARLO-MAGNO, M.; LA BANDERA, C. Potencial agronómico de bactérias fijadoras de nitrógeno endófitas de arroz. In: **V Simposio de Recursos Genéticos para América Latina y el Caribe: Actas Uruguay**, 2005.

RODRIGUES NETO, J.; MALAVOLTA JUNIOR, V. A. VICTOR, O. Meio Simples para isolamento e cultivo de *Xanthomonas campestris* spv. Citri tipo B. **Summa Phytopathologica**, v.12, p.16-22, 1986.

ROUWS, L.F.M.; MENESES, C.H.S.G.; GUEDES, H.V.; VIDAL, M.S.; BALDANI J.I.; SCHWAB S. Monitoring the colonization of sugarcane and rice plants by the endophytic diazotrophic bacterium *Gluconacetobacter diazotrophicus* marked with *gfp* and *gusA* reporter genes. **Letters in Applied Microbiology**, v.51, p. 325–330, 2010.

SABINO, Daniele Cristina Costa. **Interação planta-bactéria diazotrófica na cultura do arroz**. 2007. 71p. Tese (Doutorado em Agronomia – Ciência do solo) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.

SARAVANAN, V. S.; MADHAIYAN, M.; THANGARAJU, M. Solubilization of zinc compounds by the diazotrophic, plant growth promoting bacterium *Gluconacetobacter diazotrophicus*. **Chemosphere**, v. 66, n. 9, p. 1794-1798, 2007.

SEVILLA, M.; BURRIS, R. H.; GUNAPALA, N.; KENNEDY, C. Comparison of benefit to sugarcane plant growth and 15N_2 incorporation following inoculation of sterile plants with *Acetobacter diazotrophicus* wild-type and *Nif* mutant strains. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 14, n. 3, p. 358-366, 2001.

SIGMAPLOT. 2013. **For windows, version 11.1**. Systat Software, 2013.

SILVEIRA, E. L. **Inoculações de bactérias promotoras de crescimento no cultivo de arroz em solução nutritiva**. In: Tese, doutorado de Ciências Agrárias e Veterinárias - Microbiologia Agropecuária, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 83p. 2008.

SPENCER, J.; RAGOUT, A. **Métodos microbiológicos**. Humana Press Inc. Totowa, New Jersey, USA, 335p. 2001.

SWEENEY, M. T.; THOMSON, M. J.; PFEIL, B. E.; MCCOUVH, S. Caught red-handed; Rc encodes a basic helix-loop-helix protein conditioning red pericarp in rice. **The Plant Cell**, v.18, p. 283-294, 2006.

WAKELIN, S. A.; GREGG, A. L.; SIMPSON, R. J.; LI, G. D.; RILEY, I. T.; MCKAY A.C. Pasture management directly affects soil microbial community structure and N-cycling bacteria. **Pedobiologia**, v.52, p.237–251, 2009.

WALTER, M.; MARCHEZAN, E.; AVILA, L.A. Arroz: composição e características nutricionais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.4, p.1184-1192, jul, 2008.

YUWONO, T.; HANDAYANI, D.; SOEDARSONO, J. The role of osmotoleranthizobacteria in rice growth under different drought conditions. **Australian Journal of Agricultural Research**, n. 56, p. 715-721, 2005.