

# SELEÇÃO DE VEÍCULOS PARA O PREPARO DE INOCULANTE COM BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS PARA ARROZ INUNDADO

JOILSON SILVA FERREIRA<sup>1</sup>, DANIELE CRISTINA COSTA SABINO<sup>2</sup>, SALOMÃO LIMA GUIMARÃES<sup>2</sup>, JOSÉ IVO BALDANI<sup>3</sup> & VERA LÚCIA DIVAN BALDANI<sup>3</sup>

1- Estudante de Pós-Graduação em Fitotecnia-IA/UFRRJ, CEP 23890-000, Seropédica, RJ; E-mail: joilsonsf@yahoo.com.br; 2- Estudante de Pós-Graduação em Fitotecnia-IA/UFRRJ, CEP 23890-000, Seropédica, RJ; 3- Pesquisadores da Embrapa Agrobiologia, 23890-000, Seropédica, RJ.

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi selecionar o melhor veículo para o preparo de inoculante para a cultura de arroz inundado baseado na utilização das bactérias diazotróficas previamente selecionadas. Os veículos testados foram: turfoso, oleoso e caldo bacteriano, sendo utilizadas estirpes selecionadas de *Herbaspirillum seropedicae* ZAE94 (BR11417) e *Burkholderia brasilensis* M130 (BR11340) e as variedades de arroz IR42 e IAC4440. O estudo foi realizado primeiramente em condições de laboratório onde foi avaliado a qualidade dos inoculantes através da quantificação do número de células viáveis existentes, estimado pelo Método do Número Mais Provável (NMP) durante o período de armazenamento de 6 meses. O efeito da inoculação das bactérias no desenvolvimento das variedades de arroz foi determinado através do acúmulo de massa seca das plântulas, crescidas em tubo de ensaio contendo solução de Hoagland sem nitrogênio pelo período de 30 dias após emergência. Com base nos resultados obtidos foram instalados um experimento em condições de casa de vegetação e campo para avaliar o efeito do inoculante turfoso no desenvolvimento das duas variedades de arroz. Foram determinados os parâmetros agrônômicos de acúmulo de massa seca, %N e N-total dos grãos. O número de células viáveis ficou em torno de  $10^8$  células/g ou mL para o inoculante turfoso e oleoso, respectivamente aos 110 dias de armazenamento. Embora não tenha sido observado diferenças significativas dos veículos de inoculação no acúmulo de massa seca das plântulas das variedades IR42 e IAC4440, a inoculação das estirpes M130 e ZAE94 promoveu aumentos de 45% e 75% na massa seca, respectivamente. No experimento em casa de vegetação não foram registrados aumentos na massa seca dos grãos para a variedade IR42, mas houve aumentos de até 20% no N-total dos grãos. Já na variedade IAC 4440, houve aumentos de até 2% na massa seca dos grãos com a inoculação da estirpe ZAE94. Foi verificado que, sob condições de campo, o veículo turfoso com as estirpes ZAE94 e M130 proporcionou aumentos de até 38% e 16% na produção de grãos para a variedade IR42, respectivamente. No caso da variedade IAC4440 esse aumento foi de até 18%, porém não diferiu estatisticamente do controle não inoculado. Os resultados mostraram-se promissores para a utilização da prática de inoculação de cereais em nível de campo.

**Palavras-chave:** Inoculante, *Herbaspirillum seropedicae*, *Burkholderia brasilensis*.

## ABSTRACT

### SELECTION OF CARRIER FOR INOCULATION OF FLOODED RICE CROP WITH ENDOPHYTIC DIAZOTROPHIC BACTERIA

The objective of this work was to select the best carrier for preparing an inoculant for flooded rice crop based on the use of endophytic diazotrophic bacteria previously selected. The used carriers were peat, mineral oil and bacterial broth, and the strains tested were *Herbaspirillum seropedicae* ZAE94 (BR11417) and *Burkholderia brasilensis* M130 (BR11340) as well as the varieties IR42 e IAC4440 of rice. The study was carried out in laboratory conditions and the quality of the inoculant was analyzed. It was quantified the number of the viable cells, through the Most Probable Number (MPN), during a 6 months storage period. The rice plant responses to inoculation with the different carrier inocula was measured by the dry matter accumulated during the growth of the plant in test tubes containing solution of Hoagland's without nitrogen, 30 days after the planting. Based on these results, an experiment was carried out into the greenhouse and another under field conditions to evaluate the effect of the peat inoculant on the two rice varieties. The agronomic parameters such as dry mass accumulation, %N, total-N of the grains were determined. The inoculant prepared was stored in a refrigerator and the concentration of the viable cells after 110 days was around  $10^8$  cells/g of peat or /mL of oil. Although no significant differences in the dry matter accumulation have been observed for the different inoculation carriers either for the variety IR42 or the IAC4440, the inoculation of the strains M130 and ZAE94, increased 45% and 75% the mass of the plants, respectively. In a greenhouse conditions, no difference among the inoculation treatments was detected. However,

an increase of 20 % in the total-N of the grains in the IR42 variety was observed with the inoculation of the strain *H. seropedicae* (ZAE94) while an increase of only 2% was observed in variety IAC4440 inoculated with the same strain. In field experiment, the inoculation with the peat containing ZAE94 or M130 strains increased the yield of variety IR42 by 38 % and 16 %, respectively. On the other hand, the increase in the variety IAC4440 was only of 18 %. The results obtained encourage the practice of inoculation of non-leguminous plants in the field.

**Key words:** Carries, *Herbaspirillum seropedicae*, *Burkholderia brasilensis*

## INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é o principal cereal utilizado mundialmente na dieta humana. Nos países tropicais, a maioria do N disponível para esta cultura, é proveniente da mineralização do nitrogênio do solo (Kundu & Ladha, 1995) e da fixação biológica de nitrogênio (FBN) feita por microorganismos que se associam com a cultura.

Bactérias consideradas diazotróficas e endofíticas apresentam grande potencial para utilização na agricultura dado a habilidade de colonizar o interior das plantas e de se localizar em nichos protegidos do oxigênio, e assim, o nível de atividade da enzima nitrogenase, pode ser mantido no nível máximo (Baldani & Döbereiner, 1995). Muitas espécies de bactérias fixadoras de nitrogênio são conhecidas e têm sido isoladas de plantas cultivadas, como por exemplo de arroz, milho, cana-de-açúcar e sorgo (Olivares *et al.* 1996; Reis Jr. *et al.* 2000; Reis *et al.* 1994).

No caso de arroz, diversas bactérias foram isoladas em associação com a planta, como por exemplo os gêneros, *Burkholderia*, *Herbaspirillum*, *Azospirillum* e *Pseudomonas* (Baldani, 1984 e 1996). Estudos usando a técnica de diluição isotópica com <sup>15</sup>N mostraram, em condições gnotobióticas, efeitos positivos da inoculação de estirpes selecionadas de *Herbaspirillum seropedicae* e *Burkholderia brasilensis*. Essas estirpes contribuíram com 54% e 27%, respectivamente do N-total acumulado nas plantas de arroz da variedade Guarani (Baldani, 1996). A eficiência da produção de inoculantes para gramíneas depende, entre outros fatores, da manutenção do número mínimo de células viáveis da bactéria no inoculante desde a sua fabricação até o uso pelo agricultor conforme as regras de comercialização de inoculantes para leguminosas.

A maioria dos experimentos de inoculação, feitos ao longo dos últimos 20 anos utilizaram estirpes da espécie de *A. brasilense*, seguido da espécie *A. lipoferum* e, em alguns trabalhos realizados no Brasil, foram usadas estirpes de *A. amazonense* como inóculo. Fages (1994) cita que a expectativa de sucesso da inoculação está ao redor de 50 a 75%, o que parece estar acima do esperado, já que em várias leguminosas a taxa de resposta à inoculação é de 50%. De uma maneira geral, 60 a 70% dos experimentos de inoculação citados por Okon & Labandera-Gonzalez (1994) obtiveram sucesso, sendo que somente 5 a 30% deles apresentaram respostas estatisticamente significativas.

Sendo assim, é importante o estudo de fontes e modos alternativos para o suprimento de N para a produção de grãos, visando minimizar a utilização de adubos nitrogenados, além de preservar o ambiente em culturas como o arroz. O objetivo deste estudo foi selecionar um veículo para a produção de inoculante à base de bactérias diazotróficas endofíticas, capaz de suprir parte ou o total do nitrogênio requerido pela cultura de arroz, contribuindo para a produção sustentável de grãos, através da redução dos custos de produção e diminuição da poluição ambiental.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Crescimento das Bactérias

Estirpes de *Herbaspirillum seropedicae*, ZAE94 (BR 11417) e *Burkholderia brasilensis*, M130 (BR 11340), foram crescidas em tubos de ensaio contendo meio semi-específico, JNFb e JMV sem indicador, respectivamente, por 15 horas a 30° C sob agitação a 100 rpm. Após o crescimento, a suspensão de células bacterianas obtidas tiveram o número de células viáveis determinadas pelo método NMP (Döbereiner *et al.*, 1995) e foram utilizadas no preparo dos diferentes tipos de inoculantes. Foi preparado um inoculante contendo a estirpe ZAE94, outro com a estirpe M130 e um com a mistura das duas estirpes. Para preparar a mistura, a suspensão de células obtidas foi centrifugada, sua densidade ótica determinada e ajustada para 0,850, e em seguida determinado o número mais provável de células viáveis.

### PREPARO DOS DIFERENTES TIPOS DE INOCULANTES

#### Inoculante turfoso

Os inoculantes à base de turfa, foram preparados adicionando 8 mL da suspensão contendo  $1,4 \times 10^9$  células da estirpe ZAE94 de *Herbaspirillum seropedicae* e  $1,1 \times 10^9$  células da estirpe M130 de *Burkholderia brasilensis* em sacos de polietileno contendo 20 g de turfa (previamente moída, seca, analisada e a acidez corrigida, com carbonato de cálcio), esterilizada a 120° C em autoclave por 2 dias com intervalos de 24h. Os inoculantes mistos foram preparados com 3,2 mL da suspensão com ZAE94 e 4,0 mL para a suspensão de M130 contendo  $1,4 \times 10^9$  e  $1,1 \times 10^9$  células viáveis, respectivamente. O inoculante foi mantido por 24 horas a 30°C antes de ser utilizado.

Após o preparo, uma parte do inoculante foi usada para a peletização das sementes utilizando uma solução de polvilho a 3% onde as sementes foram imersas, em seguida envoltas na turfa e colocadas para secar à sombra antes do plantio, e a outra parte foi guardada em geladeira para a contagem do NMP durante o tempo de armazenamento de 180 dias após o preparo.

#### **Inoculante oleoso**

Foi utilizado 1 mL da suspensão de células obtidas das estirpes Z94 e M130 contendo  $1,4 \times 10^9$  e  $1,1 \times 10^9$  células viáveis respectivamente. Para a mistura foram utilizados 1 mL de suspensão da estirpe M130 e 0,550 mL da estirpe ZAE94 que foram centrifugados a 8000 rpm a 20° C durante 15 minutos, descartando-se o sobrenadante e ressuspendendo o pelete em 0,5 mL de glicerol e 0,5 mL dos meios JNFb e JMV semi-específicos para *Herbaspirillum seropedicae* e *Burkholderia brasilensis* respectivamente, até a uniformização e obtenção da emulsão consistente. As sementes foram então misturadas a esta emulsão, sendo o inoculante armazenado em frascos com tampa rosqueada em geladeira por um período de 180 dias (Araújo, 1993).

#### **Inoculante em caldo bacteriano**

As culturas bacterianas das estirpes ZAE 94 e M130 foram crescidas até a concentração de  $1,4 \times 10^9$  e  $1,1 \times 10^9$  células viáveis, respectivamente. No caso da mistura, a densidade ótica de cada uma delas foi ajustada para a mesma concentração ( $1,1 \times 10^9$  células/mL). Um mL de cada inóculo foi adicionado, antes da solidificação do agar (6g de agar/L), diretamente em tubos de ensaio com capacidade para 120 mL, contendo 60 mL de solução de Hoagland sem nitrogênio (Baldani, 1996).

#### **Avaliação da Sobrevivência das Bactérias no Inoculante**

Uma parte dos inoculantes produzidos foi utilizada, para monitorar a qualidade dos mesmos, através da quantificação do número de células viáveis pelo método do NMP, durante o tempo de armazenamento de 180 dias. Os valores obtidos foram convertidos para log na base 10. As contagens foram realizadas no momento do preparo, aos 30 dias e as demais em intervalos de 15 dias.

#### **EXPERIMENTOS EM LABORATÓRIO**

Os inoculantes oleoso, turfoso e caldo bacteriano foram testados e selecionados em tubos sob condições axênicas com 4 repetições, mantidas em laboratório. As sementes das variedades de arroz IR42 e IAC4440, avaliadas pela Embrapa Agrobiologia como sendo de alta e baixa FBN respectivamente, pela técnica de diluição isotópica de  $^{15}\text{N}$ , foram inoculadas e plantadas em tubos de ensaio, com capacidade para 120 mL, contendo 60 mL de solução de Hoagland's sem nitrogênio, com 6g de agar/L. As plântulas foram

colhidas 30 dias após o plantio e feitas as determinações da massa seca das plântulas. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado em arranjo fatorial 2 x 4 x 4, com dois veículos, duas bactérias e a mistura, controle inoculado com bactérias mortas e quatro repetições, sendo a análise feita para cada variedade de arroz.

#### **EXPERIMENTOS EM CASA DE VEGETAÇÃO**

O inoculante turfoso selecionado em tubos de ensaio, foi testado em vasos sob condições de casa de vegetação, com delineamento experimental inteiramente casualizado, com 4 repetições. O plantio foi feito com sementes das variedades de arroz IR42 e IAC 4440, peletizadas com o inoculante contendo  $1,4 \times 10^9$  células viáveis

O inoculante turfoso foi preparado com as estirpes ZAE94 de *H. seropedicae* e M130 de *B. brasilensis*, mantido a 30° C por 24 h antes da peletização das sementes.

A peletização das sementes de arroz das variedades IR42 e IAC4440, foi feita com uma solução de polvilho com concentração a 3% sendo e em seguida envoltas na turfa inoculada com as bactérias.

O plantio foi feito em vasos contendo 4 kg de amostras de solo do tipo Argissolo vermelho amarelo, plantado com 6 sementes por vaso, sendo adubados aos 20 dias após o plantio com uma solução de macro e micronutrientes, de acordo com o protocolo estabelecido pela Embrapa (Franco & Dobereiner, 1967). Todos os tratamentos receberam adubação nitrogenada no início do plantio com sulfato de amônia correspondente a 20 Kg de N/ha. A inundação com uma lâmina d'água de 2 cm, foi feita quando as plântulas atingiram em média 15 cm de altura e mantida até o final do experimento.

As coletas foram feitas no estágio de maturação completa, para avaliação da massa seca e N-total dos grãos (Baldani, 1996).

#### **EXPERIMENTOS EM CAMPO**

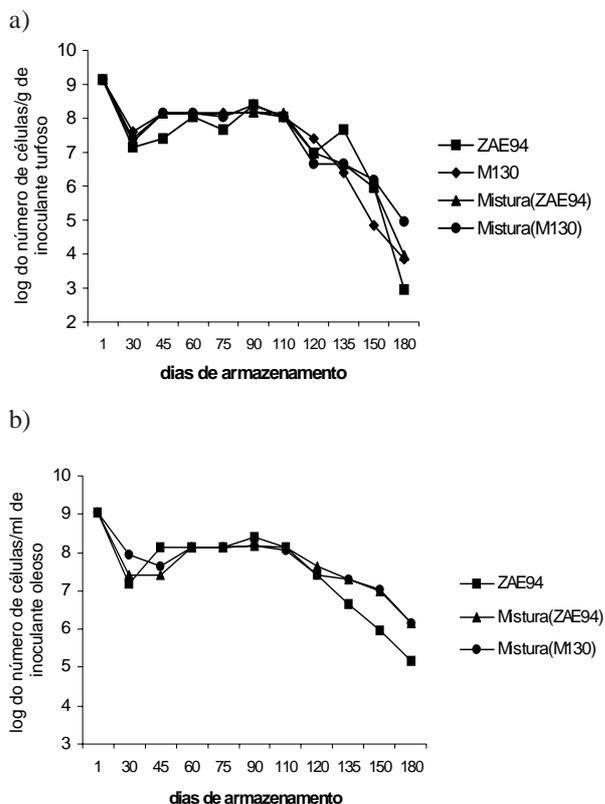
Foi conduzido um experimento de inoculação sob condições de campo com o inoculante turfoso preparado com as estirpes ZAE94 e M130, porém não foi utilizado a mistura. A peletização das sementes seguiu a mesma metodologia descrita no experimento de vasos. A concentração de células das estirpes *Herbaspirillum seropedicae* (ZAE94) e *Burkholderia brasilensis* (M130) nas sementes, ficou em torno de  $10^6$  células/semente. As sementes peletizadas das variedades de arroz IAC4440 e IR42, foram plantadas no campo experimental da Embrapa Agrobiologia em parcelas de 3,0 m<sup>2</sup>, contendo 6 linhas de plantio espaçadas em 0,3 m, e distribuídas em delineamento experimental de blocos ao acaso com 4 repetições. Foram plantadas 70 sementes/m, utilizando-se as 4 linhas centrais de cada parcela para a produção de grãos. A massa seca dos grãos, %N e N-total foram determinados após a maturação total dos grãos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Sobrevivência das bactérias no inoculante

O experimento realizado em tubos de ensaio em laboratório, mostrou que o inoculante à base de veículo oleoso não é viável para a inoculação de sementes de arroz, pois impediu a germinação das sementes. A provável causa para a falha na germinação das sementes, é que a casca de arroz, rugosa e permeável, facilita a formação de uma camada oleosa que dificulta a absorção de água, impedindo a germinação das sementes. Estes resultados diferem dos obtidos por Araújo (1993) para feijão, onde estes problemas não foram observados, provavelmente devido às diferenças na textura e forma das sementes.

Os resultados da contagem (NMP) mostraram que houve sobrevivência das células nos inoculantes preparados com os veículos turfoso e oleoso até 110 dias de armazenamento. O número de células viáveis manteve-se aproximadamente igual ao mínimo estabelecido pela lei n.º 86955 de 18 de fevereiro de 1982, que é de 10<sup>8</sup> células por grama do produto. O caldo bacteriano apresentou valor inferior ao estabelecimento aos 30 dias após o preparo, pois não apresentou crescimento nas diluições utilizadas na contagem das células no método do NMP. Após o período de armazenamento de 110 dias houve decréscimo acentuado no número de células viáveis que variou entre os inoculantes produzidos (Figura 1).



**Figura 1-** Log. do número de células viáveis de bactérias diazotróficas presentes no inoculante turfoso (a) e oleoso (b) durante 180 dias de armazenamento.

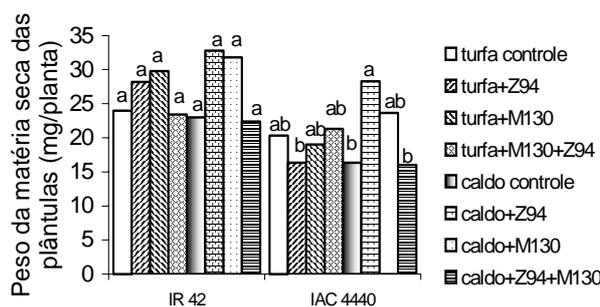
Estes resultados sugerem que outros estudos devam ser realizados com relação ao tempo de armazenamento ou a utilização de substratos.

### Experimento em Laboratório

Os ensaios em laboratório mostraram que, embora não significativos, houve aumentos na massa seca da variedade IR42 da ordem de 18% e 24%, respectivamente, para os tratamentos à base de turfa contendo as estirpes ZAE94 e M130. No caso dos tratamentos caldo com a estirpe ZAE94 e a estirpe M130, respectivamente, foram observados os aumentos de 43% e 38% (figura 2). Sendo que para esta variedade não foram observados efeitos estatisticamente significativos do veículo, da estirpe e da interação entre estes dois fatores.

Já na variedade IAC4440 (Figura 2), houve diferença significativa entre os tratamentos, sendo verificado percentuais de aumento da massa em relação ao controle, em torno de 5%, 73% e 45%, para os tratamentos turfa com a mistura das duas estirpes, caldo com a estirpe ZAE94 e caldo com a estirpe M130. Nesta variedade, não foram observados efeitos estatisticamente significativos dos veículos utilizados e da interação entre ambos os fatores, sendo que o efeito observado foi em função das estirpes utilizadas.

Estes resultados estão de acordo com Guimarães (2001), que observou aumento de 64% na massa seca da variedade de arroz IR42 inoculada com a estirpe ZAE94 e aumentos de até 130% para a variedade Guarani quando crescidas em condições estéreis em tubos de ensaio. O veículo selecionado para os ensaios em casa de vegetação foi a turfa por ser de mais fácil manipulação, não interferir na germinação das sementes e manter o maior número de células viáveis por um maior período de armazenamento em comparação ao caldo.



**Figura 2-** Massa seca das variedades de arroz IR42 e IAC4440 dos ensaios em laboratório. Valores seguidos da mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 0,05 significância (CV: 8% e 12% respectivamente). Diferença entre os tratamentos dentro de cada variedade.

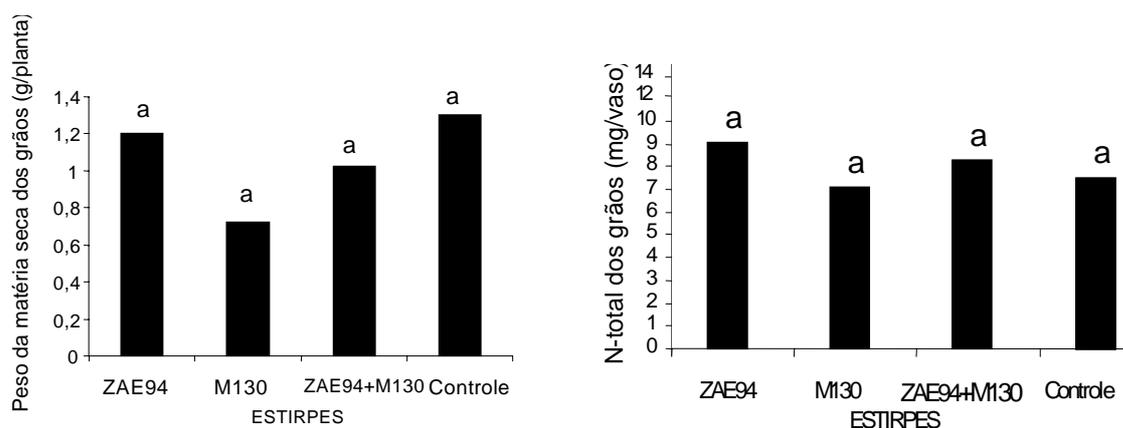
### Experimento em Casa de vegetação

Para o experimento em vasos, os parâmetros

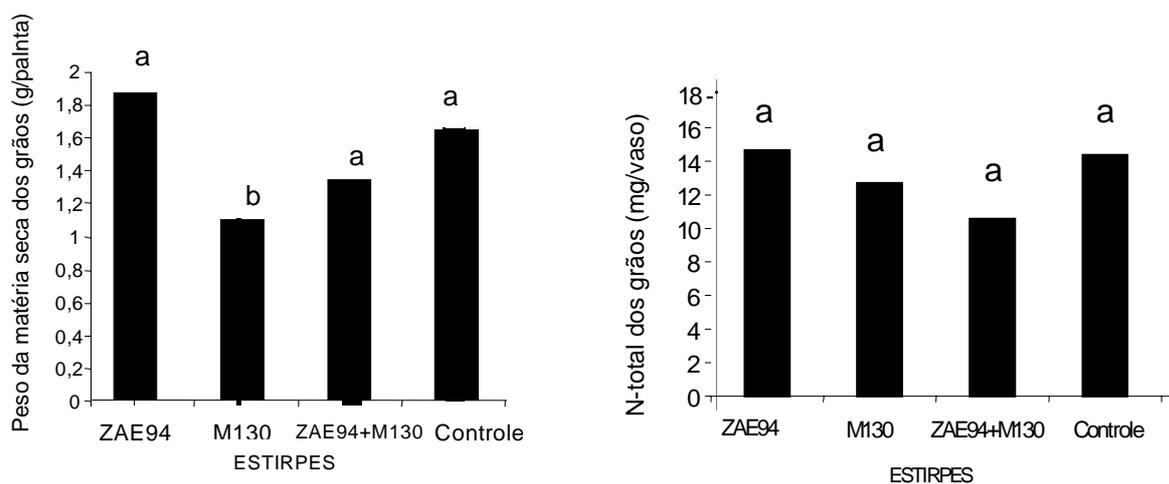
agronômicos analisados foram a produção de grãos e o N-total acumulado nos grãos. Na variedade IR 42 os resultados mostram que não houve diferença significativa entre os resultados do N-total e a produção de grãos, sendo que para este parâmetro não foram registrados aumentos em relação ao controle (Figura 3). Entretanto, houve melhoria no N-total dos grãos, onde a estirpe ZAE94 e a mistura das duas estirpes proporcionaram aumentos de 20% e 10%, respectivamente, o que pode refletir em grãos com mais proteína, e portanto, de melhor qualidade.

Na variedade IAC4440 (Figura 4), apesar de não haver diferença significativa entre os tratamentos, a inoculação do veículo turfoso, com a estirpe ZAE94,

proporcionou aumentos percentuais em relação ao controle da ordem de 2% para a produção de grãos e 14% para o N-total acumulado nos grãos. Esses resultados estão abaixo dos encontrados por Baldani et al (2000) que trabalhando com a variedade Guarani inoculada com a estirpe ZAE94 em condições de casa de vegetação encontraram aumentos de até 22 % para a produção de grãos e 27% para o N-total dos grãos. Mas, se considerarmos que a produção média nacional é de 2,6 toneladas/ha (Agrinual, 2000), um pequeno aumento de 2% na produção de grãos, aplicando-se de 20 Kg de N/ha equivale a um aumento de 52 Kg/ha a mais na produção deste cereal.



**Figura 3** - Efeito de estirpes de bactérias diazotróficas veiculadas com inoculante turfoso na massa seca e N-total dos grãos de arroz, da variedade IR42, sob condições de vasos em casa de vegetação. Valores seguidos da mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 0,05 significância. CV: 12,3% e 7,5%, respectivamente.



**Figura 4**- Efeito de estirpes de bactérias diazotróficas veiculadas por inoculante turfoso na massa seca e N-total de grãos de arroz, variedade IAC 4440, sob condições de vasos em casa de vegetação. Valores seguidos da mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 0,05 significância. CV: 14,5 % e 8,3 %, respectivamente.

#### Experimento em campo

Nos testes em campo, foi observado um aumento na produção de grãos na variedade IR42 de 38% e 16%

na variedade IR42 quando inoculada com as estirpes ZAE94 e M130, respectivamente em relação ao controle. Estas estirpes também proporcionaram

aumentos na produção de grãos da variedade IAC4440 de até 18%, em relação ao controle para os tratamentos com as estirpes ZAE94 e M130 (Tabela 1). Esses resultados demonstram o efeito positivo da inoculação destas estirpes, apesar de que os valores encontrados para a variedade IAC4440 ficaram abaixo do encontrado por Guimarães (2001) que observou um aumento de 47 % na massa seca dos grãos. Já em experimento realizado em condições de casa de vegetação com a variedade de arroz Guarani, foram observados aumentos de 22% na massa seca das plantas inoculadas com a estirpe ZAE94 e 27% para a estirpe M130 (Baldani *et al.*, 2000).

Por outro lado, não foi observado diferença significativa no N-total acumulado entre os tratamentos de inoculação nas duas variedades. Porém, foram observados aumentos de 32% e 9% em relação ao controle na variedade IR 42, enquanto que na variedade IAC4440 o aumento foi da ordem de 33% e 8% em relação ao controle para os tratamentos com as estirpes ZAE94 e M130, respectivamente (Tabela 1). Os dados

contrastam com os encontrados por Baldani et al. (2000), que trabalhando com a variedade Guarani em casa de vegetação encontraram valores da ordem de 27% para a estirpe ZAE94 e 31% para a estirpe M130.

Quando analisado o % N nos grãos, não houve diferença significativa entre os tratamentos de inoculação para a variedade IR42. Para a variedade IAC4440, foi observado diferença significativa entre os tratamentos com a estirpe ZAE94 que promoveu um incremento de até 12% no teor de nitrogênio dos grãos (Tabela 1).

Os resultados observados sugerem que os incrementos no conteúdo de N-total nos grãos para a variedade IR42 ocorreu em função do aumento da massa seca dos grãos, proporcionado pela inoculação do substrato turfoso com as estirpes ZAE94 e M130. Entretanto, para a variedade IAC4440 o inoculante turfoso contendo a estirpe ZAE94 proporcionou o maior aumento tanto de % N com do N-total em relação ao controle não inoculado (Tabela 1).

**Tabela 1-** Massa seca, % N e N-total acumulado nos grãos de duas variedades de arroz IR42 e IAC4440 inoculados com as estirpes ZAE94 e M130 em campo .

Variedade de IR42				
Estirpe	Peso da matéria seca dos grãos (g/m)	% N	N-Total (gN/m)	Peso da m seca dos g (g/m)
Z94	232 <sup>a</sup>	1,006a	2,335a	166a
M130	195ab	0,988a	1,932a	167a
Controle	168b	1,052a	1,767a	141a
CV	14,39%	4,99%	18,66%	26,9%

Valores seguidos da mesma letra não diferem entre si pelo teste tukey ao nível de 0,05 significância.

## CONCLUSÃO

Não houve diferença no número de células viáveis presentes nos inoculantes turfosos e oleosos durante 110 dias de armazenamento, ficando em torno de 10 células g ou ml inoculantes.

O inoculante oleoso dificultou a germinação das sementes e o caldo bacteriano manteve por pouco tempo a sobrevivência das células bacterianas.

Não foram observados efeitos significativos, dos diferentes veículos de inoculação utilizados no acúmulo de massa seca das plântulas nas variedades IR42 e IAC4440, crescidas em condições de laboratório.

A peletização das sementes de arroz com turfa inoculada com bactérias diazotróficas foi capaz de promover aumentos na produção de grãos da variedade IR42 e IAC4440 em condições de campo. Os resultados de inoculação mostraram-se promissores para a utilização da prática de inoculação a nível de campo.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Embrapa- Agrobiologia, ao CNPq e Pronex II pelo apoio e suporte financeiro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRINUAL 2000 – Anuário Estatístico da Agricultura Brasileira. Arroz – Riscos e perspectivas, FNO, p.113-123, 2000.
- ARAÚJO, A. C. B., *Inoculante oleoso e sobrevivência do rizóbio submetido a seca e a alta temperatura após a semeadura do feijoeiro*. Tese de Mestrado, UFRRJ, Itaguaí- RJ, p. 110. 1993.
- BALDANI, V. L. D.; *Efeito da inoculação de*

- Herbaspirillum* spp. no processo de colonização e infecção de arroz e ocorrência e caracterização parcial de uma nova bactéria diazotrófica. Tese de Doutorado, UFRRJ, Seropédica, RJ. 1996, p. 2-72.
- BALDANI, J. I & DÖBEREINER, J. International symposium on sustainable agriculture for the tropics. The role of Biological Nitrogen Fixation. Abstracts. p. 53-54, 1995.
- BALDANI, J.I. *Ocorrência e caracterização de Azospirillum amazonense em comparação com as outras espécies deste gênero, em raízes de milho, sorgo e arroz.* Itaguai, UFRRJ, Tese Mestrado, 1984. 110p.
- BALDANI, V. L. D., BALDANI, J. I., DOBEREINER, J. Inoculation of rice plants with endophytic diazotrophs *Herbaspirillum seropedicae* and *Burkholderia* spp.. *Biology Fertility of Soils*, v. 30, p.485-491, 2000.
- DOBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. *Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não leguminosas.* Brasília: EMBRAPA-SPI: Itaguaí, RJ: EMBRAPA-CNPAB, 1995. 60p.
- FAGES, J. *Azospirillum* inoculants and field experiments. In *Azospirillum-Plant Associations*. OKON, Y. ed. CRC Press, Boca Raton,. 1994. P. 87-109.
- FRANCO, A. A. & DÖBEREINER, J. Especificidade hospedeira na simbiose com *Rhizobium-Feijão* e influência de diferentes nutrientes. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.2, p.467-7-474, 1967.
- GUIMARÃES, S. L. *Seleção de Estirpes de Bactérias Diazotróficas Endofíticas para Inoculação em Arroz Inundado.* Seropédica, UFRRJ, Tese de Mestrado, 2001, 77p.
- OLIVARES, F. L., BALDANI, V. L. D., REIS, V. M., BALDANI, J. I., DÖBEREINER, J., Occurrence of the endophytic diazotrophs *Herbaspirillum* spp. in roots, stems, and leaves, predominantly of Graminae. *Biology and Fertility of Soils*, Berlin, v. 21, p.197-200, 1996.
- REIS, Jr., SILVA, L. G. da, REIS, V. M., DÖBEREINER, J., Ocorrência de Bactérias Diazotróficas em diferentes Genótipos de cana-de-açúcar. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.35, n.5, p. 985-994, 2000.
- REIS, V. M., OLIVARES, F. L., DÖBEREINER, J. Improved methodology for endophytic habitat. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, Oxford, v.10, p. 401-405, 1994.
- KUNDU, D. K.; LADHA, J. K. Efficient management of soil and biologically fixed nitrogen in intensively cultivated rice fields. *Soil Biology and Biochemistry*, v.27, n. 4/5, p. 431-439, 1995.
- OKON, Y. & LABANDERA-GONZALEZ, C. A. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 26, p. 1591-1601, 1994.