

# BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS NAS FOLHAS E COLMOS DE PLANTAS DE ARROZ IRRIGADO (*Oryza sativa* L.)

DIAZOTROPHIC BACTERIA IN LEAVES AND STEMS OF WETLAND RICE (*Oryza sativa* L.)

Danni Maisa da Silva<sup>1</sup>; Zaida Inês Antonioli<sup>2\*</sup>; Rodrigo Josemar Seminoti Jacques<sup>3</sup>; Márcio Voss<sup>4</sup>

## RESUMO

A população de bactérias diazotróficas associadas às raízes da cultura do arroz irrigado tem sido estudada, porém a população destas bactérias presentes nas folhas e colmos da cultura, os dados são praticamente inexistentes. O objetivo deste trabalho foi avaliar a população de bactérias diazotróficas presentes nas folhas e nos colmos das cultivares de arroz irrigado IRGA-419, moderna, e EEA-406, tradicional, nas condições com e sem adubação nitrogenada. As plantas de arroz irrigado foram cultivadas em vasos na casa de vegetação. Após 88 dias da semeadura, os colmos e folhas foram coletados para determinação da população de bactérias totais, no meio de cultura M-R<sub>2</sub>A, e da população de bactérias diazotróficas, no meio de cultura NFb. As folhas e colmos apresentaram população de bactérias diazotróficas numericamente significativas, sendo maior a população no colmo. A população de bactérias diazotróficas do colmo não apresentou variação numérica entre as cultivares e nem entre as doses de nitrogênio avaliadas. Na cultivar moderna IRGA-419, a população de bactérias diazotróficas das folhas foi reduzida pela adubação nitrogenada, mostrando-se menos numerosa do que a população de bactérias diazotróficas presente nas folhas da cultivar tradicional EEA-406.

Palavras-chave: fixação biológica de nitrogênio, bactérias associativas, cultivares, IRGA-419, EEA-406.

## ABSTRACT

The root diazotroph bacteria population associated to the irrigated rice crop has been studied. However, there are little studies in the population of these bacteria in plant leaves and stems. The objective of this work was to study the bacteria population in leaves and stems of flooded rice plants, in two varieties: a modern (IRGA-419), and a traditional (EEA-406), with and without mineral nitrogen. Rice plants were cultivated in greenhouse pots. After 88 days of seeding, leaves and stems were collected to determine the total bacteria population in M-R<sub>2</sub>A medium and the diazotroph bacteria population in NFb medium. Leaves and stems showed significant population with highest number in the stems. The diazotroph bacteria population did not change in number between varieties, as well among nitrogen levels. In IRGA-419 the diazotroph bacteria population in leaves was reduced by nitrogen fertilization. This variety showed lower diazotroph bacteria population levels than the EEA-406 traditional variety.

Key-words: biological nitrogen fixation, associative bacteria, cultivars, IRGA-419, EEA-406.

## INTRODUÇÃO

O cultivo do arroz irrigado é uma atividade de grande importância na agricultura mundial. No Brasil, mais de 1,5 milhões de hectares são cultivados anualmente com arroz irrigado, dos quais mais de um milhão de hectares estão no Estado do Rio Grande do Sul (EMBRAPA, 2007). As principais características da orizicultura gaúcha podem ser descritas como sendo uma situação em que aproximadamente 60% dos agricultores são arrendatários ou parceiros e os custos de produção são elevados, especialmente àqueles relacionados com a terra, água e adubações nitrogenadas (IRGA, 2007). Devido às características morfológicas das plantas de arroz irrigado, estas requerem solos planos e mal drenados para manutenção da lâmina de água contínua durante a maior parte do ciclo da cultura (PINHEIRO, 1999). Por esta razão as lavouras de arroz irrigado localizam-se em solos de várzea nas margens de rios e lagos. Nestes tipos de solos a deficiência de nitrogênio é a que mais limita a produtividade da cultura (FAGERIA, 1999).

Após o reconhecimento de que a capacidade de resposta ao nitrogênio por parte do arroz irrigado estava relacionada à baixa estatura e a colmos fortes, foram realizados cruzamentos utilizando-se cultivares do tipo anão. A adoção dessa cultivar em grande escala a partir de 1966 desencadeou o processo da "Revolução Verde" (PINHEIRO, 1999). Com isso, a tecnologia produtiva da cultura do arroz irrigado baseou-se, fundamentalmente, no processo de melhoramento genético através do desenvolvimento de novas cultivares, as quais eram mais produtivas e adaptadas a um intensivo processo de manejo.

Uma preocupação prioritária ocorreu no sentido de desenvolver técnicas de manejo que apresentassem resultados positivos na produção e que fossem de resposta imediata. A preocupação com a sustentabilidade da prática de manejo e com possíveis prejuízos ocasionados ao ambiente por estas práticas recebeu uma atenção secundária.

Hoje, entretanto, existem linhas de pesquisa que procuram o incremento na produção da cultura do arroz irrigado, considerando os efeitos da implantação das práticas de manejo sobre o ambiente e as conseqüências futuras que estas possam ter. A fixação biológica do nitrogênio (FBN) nos campos da cultura do arroz irrigado pode ser uma das melhores alternativas neste sentido. Vários trabalhos já foram realizados considerando-se as associações entre bactérias diazotróficas e a cultura do arroz (DÖBEREINER, 1966; 1977,

<sup>1</sup> Engenheira Agrônoma, Mestre, Extensionista da EMATER/RS.

<sup>2</sup> Bióloga, Doutora, Professora do Departamento de Solos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria. \*Autora para correspondência: Av. Roraima, 1000. Camobi, Santa Maria/RS. CEP 97105-900. E-mail: zaida@ccr.ufsm.br

<sup>3</sup> Engenheiro Agrônomo, Doutor, Professor do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal do Pampa, São Gabriel/RS.

<sup>4</sup> Engenheiro Agrônomo, Doutor, Pesquisador EMBRAPA-Trigo, Passo Fundo/RS.

1992; SANO et al., 1981; APP et al., 1986; BHATARAI & HESS, 1993; VAN et al., 2000; RODRIGUES et al., 2000; REIS JUNIOR et al., 2000). Entretanto, poucos trabalhos relacionam a presença destas bactérias na parte aérea da cultura (WATANABE et al., 1979; BARRAQUIO et al., 1997; ELBETAGY et al., 2001), sendo fundamental determinarmos sua população para avaliarmos sua importância para a cultura do arroz irrigado, bem como suas possíveis contribuições. Assim, este trabalho teve por objetivos: 1) determinar a população bacteriana total e diazotrófica presente em colmos e folhas da cultura do arroz irrigado, nas cultivares EEA-406 e IRGA-419, tradicional e moderna, respectivamente; 2) avaliar a capacidade de resposta desta população à adubação mineral nitrogenada aplicada à cultura.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido na casa de vegetação do Departamento de Solos do Centro de Ciências Rurais na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), em Santa Maria - RS. O experimento constituiu-se de um fatorial completo 2x2, com duas cultivares de arroz (EEA-406 e a IRGA-419) e duas doses de nitrogênio (0 e 90 Kg de N ha<sup>-1</sup>). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições. O solo do experimento foi coletado em área de várzea, na profundidade de 0-20 cm, seco ao ar, peneirado em malha 2 mm e pertencente à Unidade de Mapeamento Vacacaí, classificado como um Planossolo Hidromórfico eutrófico arênico (STRECK et al., 2002). As unidades experimentais constituíram-se de vasos plásticos, onde foram acondicionados 6,45 kg de solo, fertilizado com 1 dose e ½ dos nutrientes fósforo (equivalente a 142,3 kg ha<sup>-1</sup> de superfosfato triplo) e potássio (equivalente a 100 kg ha<sup>-1</sup> de cloreto de potássio), de acordo com ARROZ IRRIGADO: RECOMENDAÇÕES TÉCNICAS DA PESQUISA PARA O SUL DO BRASIL (1999). A semeadura do arroz foi feita no dia 25/11/2000, com sementes pré-germinadas. A adubação nitrogenada, quando realizada, foi dividida em três aplicações: a primeira, com o equivalente a 10 Kg de N ha<sup>-1</sup>, foi realizada juntamente com a do fósforo e potássio, no momento do acondicionamento do solo nas unidades experimentais; as outras duas aplicações, ambas equivalentes a 40 Kg de N ha<sup>-1</sup>, foram feitas em cobertura aos 38 e 53 dias após a semeadura.

A determinação da população de bactérias diazotróficas em colmos e folhas do arroz irrigado foi realizada após 88 dias da semeadura. As plantas foram cortadas rente a superfície do solo, pesadas, embaladas em sacos plásticos e imediatamente transportadas, em caixas de isopor ao Laboratório de Microbiologia do Solo e do Ambiente da UFSM, onde as determinações foram realizadas. As plantas foram retiradas dos sacos plásticos e, de forma aleatória, foram cortados pedaços de aproximadamente 2 cm tanto das folhas quanto dos colmos de cada planta avaliada. Para cada cultivar e dose de nitrogênio testadas, foram cortados colmos e folhas das cinco plantas constituintes de cada uma das repetições determinadas neste experimento.

Tanto os colmos quanto as folhas foram cortados até se obter a quantidade de 10 g de peso fresco. Cada pedaço era imediata e cuidadosamente desinfetado superficialmente com algodão embebido em NaOCl 5%, e várias vezes lavado com água esterilizada. As 10 g de peso fresco foram colocadas em gral esterilizado contendo 90 mL de solução salina e maceradas. Desta solução procedeu-se uma diluição seriada e inoculação no meio de cultura M-R<sub>2</sub>A sólido (FRIES et al., 1994), para a obtenção da população bacteriana total. Este meio foi utilizado pelo fato dele não apresentar restrição

nutricional e exibir a peculiar característica de seleção da população de bactérias diazotróficas do gênero *Azoarcus*, como demonstrado por FRIES et al. (1994). Bactérias pertencentes a este gênero são de difícil obtenção em meios de cultura tradicionais para bactérias. Para a determinação da população de bactérias diazotróficas foi utilizado o meio NFb (DÖBEREINER, 1995), considerado seletivo para este grupo de microrganismos. A análise dos dados foi feita de acordo com WOOPER (1994), a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Bactérias diazotróficas foram encontradas em número significativo em colmos da cultura do arroz irrigado. A média geral foi de  $1,28 \times 10^7$  bactérias grama<sup>-1</sup> (log 7,11), conforme a Figura 1. Resultados semelhantes foram registrados por BARRAQUIO et al. (1997) quando determinaram a população de endofíticos nos colmos da cultura do arroz irrigado e encontraram populações na ordem de  $10^4$  (log 4) a  $10^6$  (log 6) bactérias grama<sup>-1</sup>.

Com relação às cultivares de arroz e doses de nitrogênio avaliadas neste trabalho não houve diferenças significativas na população de bactérias diazotróficas presentes nos colmos da cultura para nenhum dos casos, apesar da tendência de maior número de bactérias nos colmos da cultivar IRGA-419. Estes resultados podem ter ocorrido em função das populações de diazotróficas dos colmos serem menos sensíveis a estas características do que as populações presentes nas raízes da cultura. Conforme SILVA (2002), as populações bacterianas presentes nas raízes respondem melhor à variação de cultivar de arroz e dose de nitrogênio utilizadas, diferindo o nível populacional.

Quanto à população de bactérias diazotróficas das folhas da cultura, os valores encontrados foram na ordem de  $10^3$  a  $10^4$  bactérias grama<sup>-1</sup>, obtendo-se uma média experimental de  $2,95 \times 10^4$  bactérias grama de massa fresca<sup>-1</sup> (log 4,47), conforme a Figura 2.

Com base nos valores populacionais encontrados podemos discernir que tanto os colmos quanto as folhas da cultura do arroz irrigado constituem-se em um ambiente muito propício ao desenvolvimento de populações de bactérias diazotróficas. Os resultados evidenciam a importância destas populações nos sistemas de cultivo do arroz irrigado, havendo a necessidade de, em trabalhos futuros, se identificar estas populações e de se determinar a real contribuição das mesmas para a cultura quanto ao fornecimento de nitrogênio. GRACIOLLI et al. (1993), isolaram bactérias diazotróficas do interior dos caules e folhas de outra gramínea, a cana-de-açúcar e encontraram populações na ordem de  $10^6$  bactérias por grama de colmo e folha fresca com características muito interessantes. Cerca de 43% das bactérias oriundas das folhas e 100% da população bacteriana dos colmos apresentaram resultados positivos ao teste de Redução do Acetileno, o qual evidencia a presença de um sistema ativo de fixação biológica de nitrogênio (GROFFMAN et al., 2006).

Com relação à adubação nitrogenada da cultura do arroz irrigado, as populações de bactérias diazotróficas das folhas mostraram-se sensíveis na cultivar moderna IRGA-419, reduzindo significativamente sua quantidade quando sob adubação, o que já é comprovado para o caso das raízes de algumas gramíneas (PEREIRA et al., 1979; DONZELI et al., 2000). Estes resultados podem ser atribuídos à inibição exercida pelo nitrogênio mineral sobre as bactérias fixadoras, que pode ocorrer em função do processo de fixação biológica de nitrogênio ser altamente oneroso para a célula bacteriana. Com nitrogênio disponível na forma mineral, o complexo da

nitrogenase não é sintetizado e elas passam a utilizar o nitrogênio disponível. Além disso, é importante salientar que a capacidade competitiva das bactérias diazotróficas com outras é alta somente quando as condições são de baixa disponibilidade de nitrogênio no ambiente. No entanto, a população de bactérias diazotróficas é facilmente suplantada

por outras populações bacterianas, que em geral tornam-se dominantes, quando o nitrogênio encontra-se disponível (SYLVIA et al., 1998). Na cultivar tradicional, EEA-406, não houve variação significativa das populações diazotróficas quanto ao fator adubação nitrogenada.

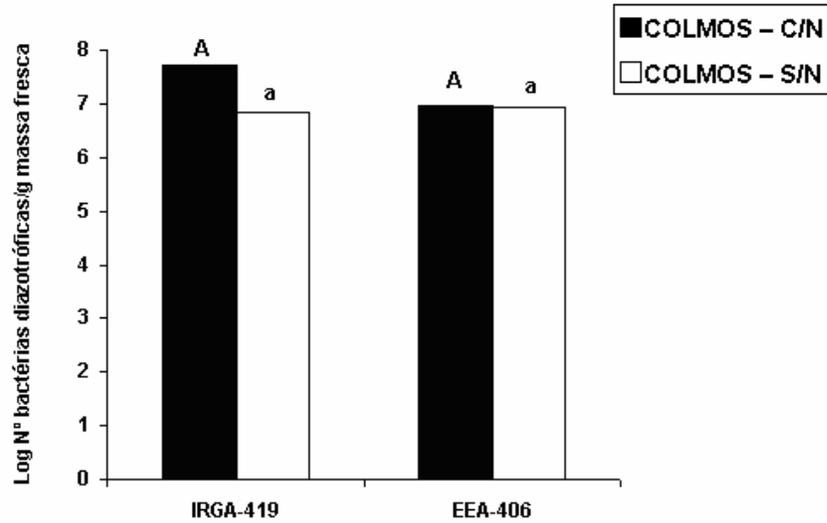


Figura 1 - Bactérias diazotróficas nos colmos da cultura do arroz irrigado, cultivares IRGA-419 e EEA-406, sem (S/N) e com (C/N) adubação nitrogenada (0 e 90 Kg de N ha<sup>-1</sup>). Cultivares seguidas pela mesma letra, dentro de cada adubação nitrogenada, não diferem entre si (p = 0,05), com base no fator de confiança 3,30 (WOOMER, 1994).

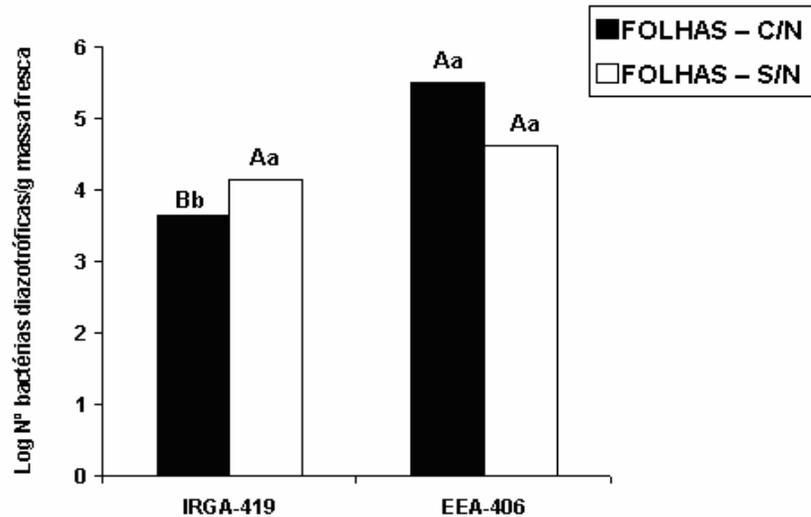


Figura 2 - Bactérias diazotróficas nas folhas da cultura do arroz irrigado, cultivares IRGA-419 e EEA-406, sem (S/N) e com (C/N) adubação nitrogenada (0 e 90 Kg de N ha<sup>-1</sup>). Níveis de adubação seguidos pela mesma letra minúscula dentro de cada cultivar e cultivares, seguidas pela mesma letra maiúscula dentro de cada nível de adubação nitrogenada, não diferem entre si (p = 0,05), com base no fator de confiança 3,30 (WOOMER, 1994).

Quanto às cultivares avaliadas neste experimento, diferenças significativas entre ambas, em relação à população de bactérias diazotróficas, foram registradas na fração folhas, quando a cultura do arroz recebeu adubação nitrogenada. Populações significativamente menos numerosas foram encontradas na cultivar IRGA-419 em relação a cultivar EEA-406. Esta observação comprova a hipótese de que as cultivares modernas de arroz irrigado, melhoradas com base no nível de resposta as adubações nitrogenadas, apresentariam populações de bactérias diazotróficas menores do que as cultivares tradicionais. Reafirma, também, a

hipótese levantada por GUIMARÃES et al. (2000) de que existe uma especificidade entre as bactérias fixadoras de nitrogênio e a planta hospedeira.

Entre as frações analisadas, houve populações de bactérias diazotróficas significativamente mais numerosas no colmo em relação às folhas (Figura 3).

Corroborando com os dados aqui encontrados, MARIANO (2001) sugere que as populações de bactérias endofíticas geralmente decrescem da parte aérea em direção às raízes das plantas. Os colmos da cultura do arroz irrigado

mostraram-se um ambiente mais favorável ao desenvolvimento das populações diazotróficas.

Quanto às populações bacterianas totais da parte aérea da cultura do arroz irrigado, os valores ficaram em torno de  $10^7$  ( $\log 8$ ) bactérias grama<sup>-1</sup>, para a fração colmos e  $10^4$  ( $\log 5$ )

bactérias grama<sup>-1</sup>, para a fração folhas. Não foram registradas diferenças significativas entre as populações bacterianas totais nem quanto às cultivares, nem às doses de nitrogênio avaliadas neste experimento (Figura 4).

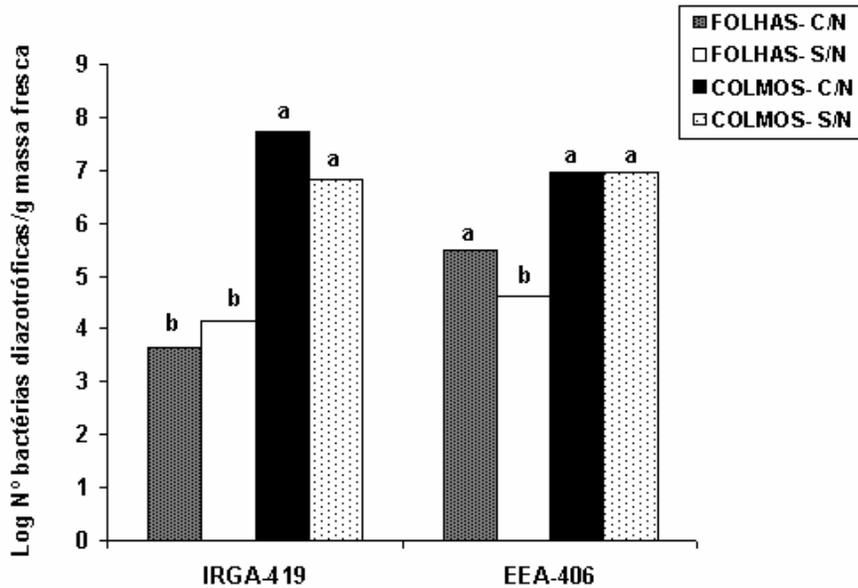


Figura 3 - Número de bactérias diazotróficas nas folhas e colmos da cultura do arroz irrigado, cultivares IRGA-419 e EEA-406, sem (S/N) e com (C/N) adubação nitrogenada (0 e 90 Kg de N ha<sup>-1</sup>). Frações seguidas pela mesma letra dentro de cada cultivar, e dentro de cada nível de adubação nitrogenada, não diferem entre si (p = 0,05), com base no fator de confiança 3,30 (WOOMER, 1994).

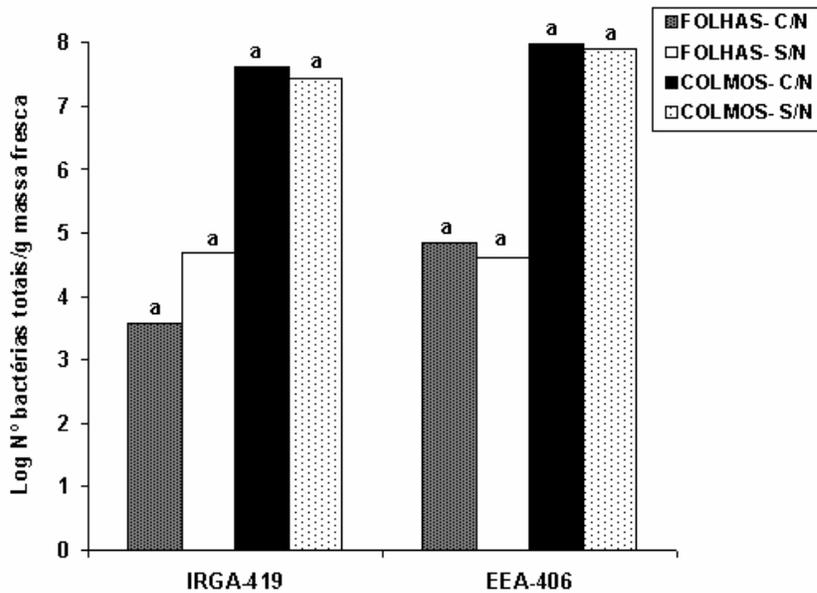


Figura 4 - Número mais provável (NMP) de bactérias totais nos colmos e nas folhas da cultura do arroz irrigado, cultivares IRGA-419 e EEA-406, com e sem adubação nitrogenada (0 e 90 Kg de N ha<sup>-1</sup>). \* Níveis de adubação nitrogenada seguidos pela mesma letra dentro de cada fração, para cada cultivar, não diferem significativamente pelo Teste F (p = 0,05).

Por outro lado, da mesma forma que houve diferença significativa entre as populações de bactérias diazotróficas das folhas e colmos, também houve para as populações bacterianas totais nestas mesmas frações, provavelmente por razões semelhantes àquelas explicadas para as populações de bactérias diazotróficas (Figura 5).

Os dados sobre as populações bacterianas totais das folhas e colmos do arroz podem indicar a relevância da população fixadora de nitrogênio em termos numéricos, numa comparação entre ambas, revelando se esta população é numericamente significativa ou não. Quanto a este aspecto, os dados encontrados (Figura 6) mostram populações de

bactérias diazotróficas correspondendo a valores próximos a 100% da população de bactérias totais dos colmos e folhas do arroz irrigado. Pode-se avaliar estes resultados de duas formas: 1) a população de bactérias totais não foi representada de forma satisfatória no meio de cultura utilizado,

necessitando de meios específicos para o levantamento desta população; ou 2) a população de bactérias diazotróficas constitui realmente a maior parte da população bacteriana total.

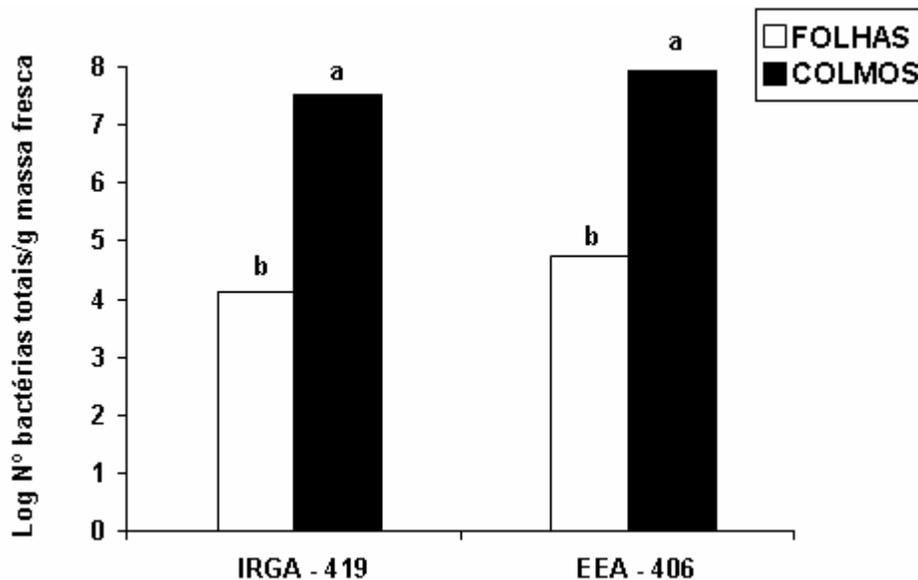


Figura 5 - Número mais provável (NMP) de bactérias totais nos colmos e nas folhas da cultura do arroz irrigado, cultivares IRGA-419 e EEA-406.\*Frações seguidas pela mesma letra dentro de cada cultivar, não diferem significativamente pelo Teste F ( $p = 0,05$ ).

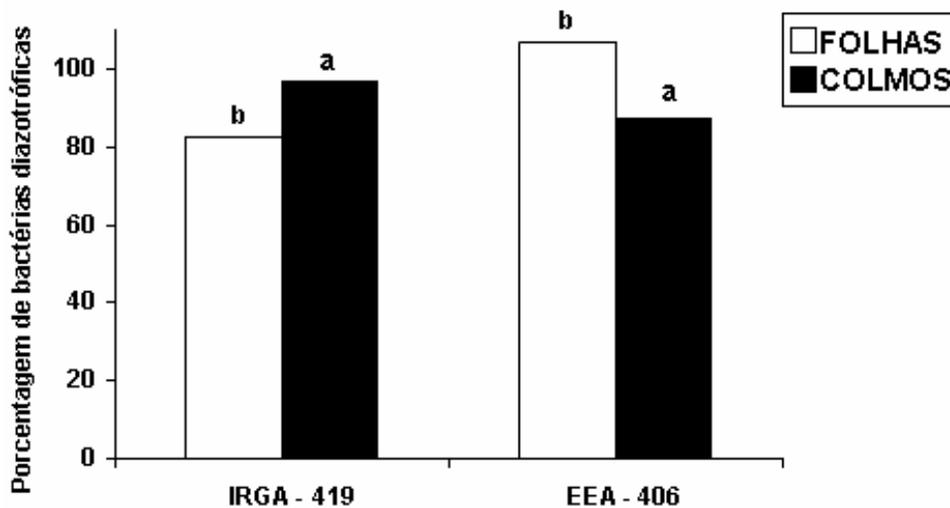


Figura 6 - Porcentagem do número mais provável (NMP) de bactérias diazotróficas em relação às bactérias totais (100%) nas folhas e nos colmos da cultura do arroz irrigado, cultivares IRGA-419 e EEA-406.

Independentemente dos aspectos levantados para justificar os valores da porcentagem de bactérias diazotróficas em relação às bactérias totais, a população de bactérias fixadoras de nitrogênio encontrada neste experimento é significativa. A partir daqui seria fundamental uma caracterização morfofisiológica desta população, especialmente das diazotróficas endofíticas, já que estas, em geral, apresentam uma maior eficiência no desempenho do processo de FBN. Com isso seria possível avaliar o papel de

cada espécie e se determinar a real importância destas populações bacterianas para a cultura do arroz irrigado.

#### CONCLUSÕES

As folhas e os colmos das cultivares de arroz irrigado EEA-406 e IRGA-419 apresentaram populações de bactérias diazotróficas numericamente significativas.

A população de bactérias diazotróficas dos colmos do

arroz irrigado é significativamente maior do que a encontrada nas folhas da cultura.

A população de bactérias totais das folhas e dos colmos do arroz irrigado é constituída em grande parte por bactérias diazotróficas.

A população de bactérias diazotróficas do colmo não apresentou variação numérica entre as cultivares EEA-406 e IRGA-419, e nem entre as doses de nitrogênio avaliadas.

Na cultivar moderna IRGA-419, a população de bactérias diazotróficas das folhas foi reduzida pela adubação nitrogenada, mostrando-se menos numerosa do que a população de bactérias diazotróficas presentes nas folhas da cultivar tradicional EEA-406.

## AGRADECIMENTOS

À CAPES pela bolsa de estudos durante o curso de Mestrado.

## REFERÊNCIAS

- APP, A. A.; WATANABE, I.; VENTURA, T.S. et al. The effect of cultivated and wild rice varieties on the nitrogen balance of flooded soil. **Soil Science**, Baltimore, v. 141, p. 448-452, 1986.
- Arroz irrigado: recomendação técnicas da pesquisa para o sul do Brasil**. Pelotas: EMBRAPA Clima Temperado/EPAGRI/IRGA, 1999. 124 p. (Documento 57).
- BARRAQUIO, W. L.; REVILLA, L.; LADHA, J. K. Isolation of endophytic diazotrophic bacteria from wetland rice. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 194, p. 15-24, 1997.
- BATTARAI, T.; HESS, D. Yield responses of Nepalese spring wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars to inoculation with *Azospirillum* spp. of Nepalese origin. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 151, p. 67-76, 1993.
- DÖBEREINER, J. *Azotobacter paspali* sp. n., uma bactéria fixadora de nitrogênio na rizosfera de *Paspalum*. Rio de Janeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 1, p. 357-365, 1966.
- DÖBEREINER, J. Fixação de Nitrogênio em Gramíneas. Campinas-SP. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 1, p. 1-9, 1977.
- DÖBEREINER, J. History and new perspectives of diazotrophs in association with non-leguminous plants. **Symbiosis**, Tel-Aviv, v. 13, p. 1-13, 1992.
- DÖBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas**. Itaguaí, RJ: EMBRAPA- CNPAB, 1995. 60p.
- DONZELI, V. P.; FREITAS, S. S.; SILVEIRA, A. P. D. et al. Ocorrência de bactérias diazotróficas endofíticas em diferentes genótipos de milho sob três doses de N. In: Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, 24ª REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 8,2000, Santa Maria ;SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 6, 2000, Santa Maria; REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 2000, Santa Maria. **Anais...**Santa Maria: UFSM, 2000. p. 146.
- ELBETAGY, A.; NISHIOKA, K.; SATO, T. et al. Endophytic colonization and in plant nitrogen fixation by a *Herbaspirillum* sp. isolated from wild rice species. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 67, n. 11, p. 5285-5293, 2001.
- EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Disponível em: Acesso em: 10 maio 2007.
- FAGERIA, N. K. Adubação e calagem. In: VIEIRA, N. R. A.; SANTOS, A. B.; SANT'ANA, E. P. **A cultura do arroz no Brasil**. Santo Antonio de Goiás: EMBRAPA Arroz e Feijão, 1999. cap. 11, p. 329-353.
- FRIES, M. R.; ZHOU, J.; CHEE-SANFORD, J. et al. Isolation, characterization, and distribution of denitrifying toluene degraders from a variety of habitats. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 60, n. 8, p. 2802-2810, 1994.
- GRACIOLLI, L. A.; FREITAS, J. R.; RUSCHEL, A. P. Bactérias fixadoras de nitrogênio nas raízes, caules e folhas de cana-de-açúcar (*Saccharum* sp.). **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 14, n. 3, p.191-196, 1993.
- GROFFMAN, P. M.; ALTABET, M. A.; BOHLKE, J. K. et al. Methods for measuring denitrification: approaches to a difficult problem. **Ecological Applications**, Washington, v. 16, n. 6, p. 2091-2122, 2006.
- GUIMARÃES, S. L.; SABINO, D. C. C.; FERREIRA, J. S. et al. Efeito da inoculação de estirpes de *Burkholderia* spp em 3 cultivares de arroz inundado crescidas em condições geobióticas. In: Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, 24ª Reunião Brasileira sobre Micorrizas, 8º Simpósio Brasileiro de Microbiologia do Solo, 6ª Reunião Brasileira de Biologia do Solo, 2000, Santa Maria. **Anais...**Santa Maria: UFSM, 2000. p. 146.
- IRGA - INSTITUTO RIOGRANDENSE DO ARROZ. Acesso em: 10 maio 2007.
- MARIANO, R. L. R. Potencial de Bactérias Endofíticas para Utilização na Agricultura. In: REUNIÃO DE CONTROLE BIOLÓGICO DE FITOPATÓGENOS, 7., 2001, Bento Gonçalves. **Anais...**Bento Gonçalves: EMBRAPA Uva e Vinho, 2001. p.7-24.
- PEREIRA, P. A. A.; VON BULOW, J. F. W.; NEYRA, C. A. Atividade da nitrogenase, nitrato redutase e acumulação de nitrogênio em milho braquítico *Zea mays* L. (cv. Piranão) em dois níveis de adubação nitrogenada. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 2, p. 28-33, 1978.
- PINHEIRO, B. S. Características morfofisiológicas da planta relacionadas à produtividade. In: VIEIRA, N. R. A.; SANTOS, A. B.; SANT'ANA, E. P. **A cultura do arroz no Brasil**. Santo Antonio de Goiás: EMBRAPA Arroz e Feijão, 1999. cap. 5, p. 116-147.
- REIS JUNIOR, F. B.; SILVA, L. G.; REIS, V. M.; DÖBEREINER, J. Ocorrência de bactérias diazotróficas em diferentes genótipos de cana-de-açúcar. Brasília. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 5, p. 985-994, 2000.
- RODRIGUES, O.; DIDONET, A. D.; GOUVEIA, J. A. et al. Nitrogen translocation in wheat inoculated with *Azospirillum* and fertilized with nitrogen. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, p. 1473-1481, 2000.
- SANO, Y.; FUJI, T.; IYAMA, S. et al. Nitrogen fixation in the rhizosphere of cultivated and wild rice strains. **Crop Science**, Madison, v. 21, p. 758-760, 1981.
- SILVA, D. M. **Bactérias diazotróficas na cultura do arroz irrigado**. 2002. 160f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.
- STRECK, E. V.; KÄMPF, N.; DALMOLIN, R. S. D. et al. **Solos do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2002. 107p.
- SYLVIA, D. M.; FUHRMANN, J. J.; HARTEL, P. G. et al. **Principles and applications of soil microbiology**. New Jersey: Printice Hall, 1998, 550p.
- VAN, V. T.; NGÔKE, S.; BERGE, O.; et al. Isolation of *Azospirillum lipoferum* from the rhizosphere of rice by a new,

simple method. **Canadian Journal Microbiology**, Ottawa, v. 43, p. 486-490, 1997.

WATANABE, I. ; CABRERA, D. R. Nitrogen fixation associated with the rice plant grown in water culture. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 37, n. 3, p. 373-378, 1979.

WOOMER, P. L. **Most probable number counts**. In: Weaver, R. W.; Angle, S.; Bottomley, P.; Bezdiecek, D.; Smith, S.; Tabatabai, A.; Wollum, A. **Methods of soil analysis**. Wisconsin: Soil Science Society American, 1994. cap. 2, p. 59-79.