



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
FACULDADE DE AGRONOMIA ELISEU MACIEL
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS- GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE SEMENTES**

**POTENCIAL FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE ARROZ TRATADAS COM
RIZOBACTÉRIAS OU TIAMETOXAM**

VANESSA NOGUEIRA SOARES

**Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de
Sementes da Universidade
Federal de Pelotas, como
requisito parcial à obtenção do
título de Mestre em Ciências
(área do conhecimento: Ciência
e Tecnologia de Sementes).**

**Pelotas,
Rio Grande do Sul – Brasil
Março de 2011**

Dados de catalogação na fonte:
(Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744)

S676p Soares, Vanessa Nogueira

Potencial fisiológico de sementes de arroz tratadas com rizobactérias ou tiametoxam / Vanessa Nogueira Soares ; orientador Maria Ângela André Tillmann; co-orientador Andrea Bittencourt Moura. - Pelotas, 2011.-62f. ; il..- Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel . Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2011.

1.Oryza sativa L. 2.Vigor 3.Bioativador 4.RPCPs I Tillmann, Maria Ângela André(orientador) II .Título.

CDD 633.18

POTENCIAL FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE ARROZ TRATADAS COM RIZOBACTÉRIAS OU TIAMETOXAM

AUTOR: Vanessa Nogueira Soares

Comitê de Orientação:

Prof^a. Dr^a. Maria Ângela André Tillmann (Orientadora)

Prof^a. Dr^a. Andréa Bittencourt Moura (Co-orientadora)

Banca examinadora

Prof^a. Dr^a. Andréa Bittencourt Moura

Prof. Dr. Francisco Amaral Villela

Eng. Agr. Dr. Géri Eduardo Meneghello

Prof^a. Dr^a. Luciana Bicca Dode

Prof^a. Dr^a. Maria Ângela André Tillmann

Dedico aos meus pais Maria do Carmo e Rovany, a minha irmã Michele e meu sobrinho Barto, minha família que sempre me apoiou e me incentivou na minha caminhada pessoal e profissional.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida, força, oportunidade e coragem para concluir este trabalho.

A professora Maria Ângela André Tillmann pela orientação, disponibilidade, paciência, compreensão e apoio dedicados ao longo do curso.

A professora Andréa Bittencourt Moura pela orientação, apoio e disposição e também a sua equipe de trabalho pela colaboração para o andamento do trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes pelos ensinamentos.

Aos meus pais, minha irmã e meu sobrinho pelo amor, paciência, compreensão, apoio e pelas palavras de incentivo.

Ao meu noivo, Engenheiro Agrônomo Daniel Bernardi pelo amor, incentivo, compreensão e o apoio que foram fundamentais e que mesmo a distância me auxiliou e me orientou nos momentos mais importantes desta jornada.

Às funcionárias do Laboratório de Análise de Sementes, Ireni, Verônica e Alessandra pela colaboração, apoio e, principalmente pela amizade que foram essenciais em diversos momentos.

Aos funcionários do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, Géri, Maria Alice e Bandeira pelo auxílio e cooperação sempre que foram solicitados.

Aos colegas Zarela, Silvia, Jucilayne e Neander pela ajuda na execução dos trabalhos, pelos momentos de descontração e principalmente pela amizade.

Aos estagiários Aline Klug Radke e Eduardo Silva Castro pela ajuda e disposição no desenvolvimento deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão da bolsa de estudo.

A todas as pessoas que de alguma forma auxiliaram no desenvolvimento deste trabalho.

ÍNDICE

Comitê de orientação.....	i
Dedicatória.....	ii
Agradecimentos.....	iii
Lista de figuras.....	v
Lista de tabelas.....	vi
Resumo.....	viii
Summary.....	ix
1.Introdução.....	1
2. Revisão bibliográfica.....	2
3. Material e métodos.....	8
3.1 Caracterização da qualidade inicial dos lotes	8
3.2 Aplicação dos isolados bacterianos e dosagens de tiametoxam às sementes.....	9
3.3 Experimento 1.....	10
3.4 Experimento 2.....	12
3.5 Delineamento experimental.....	14
4. Resultados e discussão.....	14
4.1 Caracterização da qualidade inicial dos lotes	14
4.2. Experimento 1.....	16
4.3. Experimento 2.....	27
5.Conclusão.....	40
6. Referências.....	41

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Padrões eletroforéticos da enzima α -amilase, em plântulas de arroz de diferentes lotes tratadas com tiametoxam, <i>Pseudomonas synxantha</i> e sem tratamento. A- 25°C; B- 20°C; C- 15°C.....	37
Figura 2	Padrões eletroforéticos da enzima esterase, em plântulas de arroz de diferentes lotes tratadas com tiametoxam, <i>Pseudomonas synxantha</i> e sem tratamento. A- 25°C; B- 20°C; C- 15°C.....	38
Figura 3	Padrões eletroforéticos da enzima peroxidase, em plântulas de arroz de diferentes lotes tratadas com tiametoxam, <i>Pseudomonas synxantha</i> e sem tratamento. A- 25°C; B- 20°C; C- 15°C.....	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Caracterização inicial dos lotes de sementes de arroz selecionados.....	14
Tabela 2	Ocorrência (%) de fungos associados a sementes de diferentes lotes de arroz.....	15
Tabela 3	Percentagem de germinação de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com doses de tiametoxam e isolados bacterianos.....	17
Tabela 4	Primeira contagem da germinação (%) de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com doses de tiametoxam e isolados bacterianos.....	17
Tabela 5	Percentagem de germinação após teste de frio de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com doses de tiametoxam e isolados bacterianos.....	20
Tabela 6	Comprimento (cm) da parte aérea de plântulas de arroz oriundas de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com doses de tiametoxam e isolados bacterianos aos 14 dias em casa de vegetação.....	20
Tabela 7	Comprimento (cm) da parte radicular de plântulas de arroz oriundas de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com doses de tiametoxam e isolados bacterianos aos 14 dias em casa de vegetação.....	21
Tabela 8	Comprimento total (cm) de plântulas de arroz oriundas de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com doses de tiametoxam e isolados bacterianos aos 14 dias em casa de vegetação.....	21
Tabela 9	Fitomassa seca (g) de raízes de plântulas de arroz oriundas de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com doses de tiametoxam e isolados bacterianos aos 14 dias em casa de vegetação.....	23
Tabela 10	Fitomassa seca (g) da parte aérea de plântulas de arroz oriundas de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com doses de tiametoxam e isolados bacterianos aos 14 dias em casa de vegetação.....	23
Tabela 11	Índice de velocidade de emergência de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com doses de tiametoxam e isolados bacterianos aos 14 dias em casa de vegetação.....	25

Tabela 12	Emergência (%) aos 14 dias de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com doses de tiametoxam e isolados bacterianos em casa de vegetação.....	25
Tabela 13	Comprimento (cm) da parte aérea de plântulas de arroz oriundas de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com doses de tiametoxam e isolados bacterianos aos 7 dias em rolo de papel.....	26
Tabela 14	Comprimento (cm) da parte radicular de plântulas de arroz oriundas de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com doses de tiametoxam e isolados bacterianos aos 7 dias em rolo de papel.....	26
Tabela 15	Percentagem de germinação a 25, 20 e 15°C de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com tiametoxam e o isolado bacteriano DFs185 (<i>Pseudomonas synxantha</i>).....	28
Tabela 16	Primeira contagem da germinação (%) a 25 e 20°C de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com tiametoxam e o isolado bacteriano DFs185 (<i>Pseudomonas synxantha</i>).....	30
Tabela 17	Velocidade de protusão de raiz (dias) a 25, 20 e 15°C de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com tiametoxam e o isolado bacteriano DFs185 (<i>Pseudomonas synxantha</i>).....	31
Tabela 18	Índice de velocidade de emergência a 25 e 20°C de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com tiametoxam e o isolado bacteriano DFs185 (<i>Pseudomonas synxantha</i>) aos 14 dias.....	32
Tabela 19	Percentagem de emergência a 25 e 20°C de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com tiametoxam e o isolado bacteriano DFs185 (<i>Pseudomonas synxantha</i>) aos 14 dias.....	33
Tabela 20	Comprimento da parte aérea de plântulas de arroz oriundas de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com tiametoxam e o isolado bacteriano DFs185 (<i>Pseudomonas synxantha</i>) a 25 e 20°C aos 7 dias em rolo de papel.....	34
Tabela 21	Comprimento da parte radicular de plântulas de arroz oriundas de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com tiametoxam e o isolado bacteriano DFs185 (<i>Pseudomonas synxantha</i>) a 25 e 20°C aos 7 dias em rolo de papel.....	35

RESUMO

POTENCIAL FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE ARROZ TRATADAS COM RIZOBACTÉRIAS OU TIAMETOXAM

AUTORA: Eng^a Agr^a Vanessa Nogueira Soares

ORIENTADORA: Prof^a. Maria Ângela André Tillmann, Dra.

RESUMO - O desenvolvimento de novas tecnologias visando ao aumento de produtividade em diferentes cultivos implica em investigações constantes sobre a eficiência e aplicação dessas novas técnicas no tratamento de sementes. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial fisiológico de sementes de arroz tratadas com rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (DFs185 (*Pseudomonas synxantha*), DFs223, (*P. fluorescens*), DFs306 (não identificado), DFs416 (*Bacillus* sp.) e duas doses de tiametoxam (100mL/L e 200mL/L do produto tiametoxam por 100kg de sementes) em condições ideais de desenvolvimento e condição de estresse por baixas temperaturas. Foram realizados dois experimentos, no primeiro as variáveis avaliadas foram: germinação, primeira contagem da germinação, teste de frio, comprimento da parte aérea, comprimento da parte radicular, comprimento total, fitomassa seca de raízes, fitomassa seca da parte aérea, índice de velocidade de emergência e emergência aos 14 dias. No segundo experimento utilizaram-se sementes tratadas com tiametoxam, DFs185 (*P. synxantha*) e sem tratamento, as variáveis avaliadas foram: germinação, primeira contagem da germinação, velocidade de germinação, índice de velocidade de emergência, emergência aos 14 dias comprimento da parte aérea e radicular e padrões eletroforéticos de isoenzimas α -amilase, esterase e peroxidase, todos os testes foram realizados nas temperaturas de 25, 20 e 15°C. O tratamento das sementes com rizobactérias e com tiametoxam estimula a qualidade fisiológica de sementes de arroz de baixa qualidade. As variáveis mais influenciadas pelo tratamento de sementes com tiametoxam e os isolados bacterianos DFs185 (*P. synxantha*), DFs223, (*P. fluorescens*), DFs306 (não identificado), DFs416 (*Bacillus* sp.) foram germinação e emergência. Os tratamentos tiametoxam e *P. synxantha* (DFs185) não alteraram a expressão e intensidade de expressão das isoenzimas esterase e peroxidase. A bactéria *P. synxantha* (DFs 185) é promissora para o tratamento de sementes de arroz por estimular a germinação e a emergência. Os tratamentos tiametoxam e *P. synxantha* (DFs185), não apresentam efeito benéfico na qualidade de sementes de arroz submetidas a estresse por baixas temperaturas.

Palavras-chave: *Oryza sativa* L., vigor, bioativador, RPCPs.

SUMMARY

PHYSIOLOGICAL POTENTIAL OF RICE SEEDS TREATED WITH RHIZOBACTERIA OR THIAMETHOXAM

AUTHOR: Eng^a Agr^a Vanessa Nogueira Soares

ADVISOR: Prof.^a Maria Ângela André Tillmann, Dr.

SUMMARY - The development of new technologies to increase productivity in various crops involves constant research on the effectiveness and implementation of these new techniques for seed treatment. The objective was to evaluate the physiological increase in rice seeds treated with PGPR promote plant growth (DFs185 (*Pseudomonas synxantha*) DFs223, (*P. fluorescens*), DFs306 (unidentified), DFs416 (*Bacillus* sp.) and two levels of thiamethoxam (100mL / L and 200 mL / L of thiamethoxam product per 100kg seed) under ideal conditions for development and stress conditions by low temperatures. Were used six lots of BRS Querência with differences in physiological quality. Two experiments were conducted, in the first the variables were: germination, first count germination, cold test, length of coleoptiles, length of roots, total length, dry weight of roots, coleoptiles dry weight, speed index emergency and emergency for 14 days. In the second experiment were used seeds treated with thiamethoxam, DFs185 (*P. synxantha*) and without treatment, the variables were: germination, first count germination, germination rate, rate of emergence, emergence to 14 days length of coleoptiles and roots and electrophoretic patterns of isoenzymes α -amylase, esterase and peroxidase, all tests were performed at temperatures of 25, 20 and 15 ° C. Seed treatment with thiamethoxam and rhizobacterial stimulates the physiological quality of seeds of low quality rice. The most influenced by seed treatment with thiamethoxam and the bacterial isolates DFs185 (*P. synxantha*) DFs223, (*P. fluorescens*), DFs306 (unidentified), DFs416 (*Bacillus* sp.) were germination and emergence. The treatments thiamethoxam and *P. synxantha* (DFs185) did not alter the expression and intensity of expression of esterase and peroxidase isoenzymes. The bacterium *P. synxantha* (DFs185) is promising for treatment of rice seeds to stimulate germination and emergence. Treatments thiamethoxam and *P. synxantha* (DFs185) showed not beneficial effect on quality of rice seeds subjected to low temperature stress.

Index terms: *Oryza sativa* L., vigor, bioactivator, PGPR.

1. INTRODUÇÃO

O arroz, um dos alimentos mais consumidos no mundo, é de extrema importância para os países em desenvolvimento por apresentar alto potencial para o combate à fome e sua fácil adaptação a diferentes ambientes. Porém, a produção anual deste cereal não atende a demanda mundial, e, apesar de a produção brasileira estar entre as dez maiores do mundo, ela não atende a demanda nacional.

Em diversas culturas, inclusive no arroz, estudos vêm demonstrando a capacidade de microrganismos e de bioativadores de incrementar o potencial fisiológico de sementes microbiolizadas com bactérias ou tratadas com o inseticida tiametoxam.

A microbiolização de sementes com rizobactérias promotoras de crescimento de plantas pode trazer benefícios como aumento da percentagem de germinação e emergência, aumento da fitomassa da matéria seca da parte aérea e raízes e aumento na produção de grãos e frutos. Estes benefícios podem ocorrer pela disponibilização de nutrientes às plantas, pelo antagonismo a patógenos e pela produção de hormônios e/ou enzimas por estas bactérias.

A descoberta da molécula tiametoxam (3-2(-cloro-tiazol-5-ilmetil)-5-metil-[1,3,5] oxadiazinan-4-ilideno-N-nitroamina), trouxe novas perspectivas para a agricultura, principalmente no tratamento de sementes. Diversos estudos comprovam a eficiência de tiametoxam como um bioativador, incrementando a germinação, emergência, comprimento de plântulas (raiz e parte aérea), matéria seca, melhorando o desempenho de plântulas em situações de estresse e aumentando os níveis totais de proteínas e enzimas nas plantas. A eficiência de tiametoxam foi comprovada principalmente para a soja, porém estudos com outras espécies, incluindo o arroz, demonstram que este produto possui um amplo espectro de ação.

Considerando a escassez de informações referentes aos tratamentos que incrementam o potencial fisiológico das sementes, o presente trabalho contempla dois experimentos: Experimento 1: Potencial fisiológico de sementes de arroz tratadas com bactérias promotoras de crescimento de plantas ou tiametoxam; Experimento 2: Comportamento fisiológico e enzimático de sementes de arroz tratadas com rizobactérias ou tiametoxam submetidas a diferentes temperaturas.

Este trabalho teve por objetivo avaliar o potencial fisiológico de sementes de arroz tratadas com bactérias promotoras de crescimento de plantas e tiametoxam.

2.Revisão bibliográfica

2.1. A cultura do arroz (*Oryza sativa* L.)

O arroz, um dos alimentos mais produzidos e consumidos no mundo, é uma poaceae anual, adaptada tanto ao clima tropical quanto ao subtropical, cultivada em todos os continentes, com exceção da Antártida (CHANDLER, 1984).

A produção mundial de arroz não vem acompanhando o crescimento do consumo. Nos últimos seis anos, a produção mundial aumentou cerca de 1,09% ao ano, enquanto a população cresceu 1,32% e o consumo 1,27%, havendo grande preocupação em relação à estabilização da produção mundial (EMBRAPA, 2010).

O Brasil está entre os dez principais produtores mundiais de arroz, com cerca de 11 milhões de toneladas para um consumo de 11,7 milhões de toneladas, base casca (EMBRAPA, 2010).

2.2. Microrganismos promotores de crescimento vegetal

O tratamento de sementes com alguns microrganismos tem sido utilizado visando o aumento da produtividade, pois, além de proteger as plantas contra fitopatógenos, pode promover o crescimento. Esses mecanismos referem-se ao desenvolvimento das plantas de forma geral, incluindo os efeitos benéficos na germinação de sementes, emergência e desenvolvimento das plântulas e produção de grãos e frutos (HARMAN, 2000).

A microbiolização de sementes com a mistura dos microrganismos *Trichoderma viride*, *T. polysporum*, *T. stromaticum*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e micorrizas reduz a germinação das sementes de alface. Porém, a inoculação de sementes de alface com *T. viride* e com reguladores de crescimento promovem aumento na emergência e no índice de velocidade de emergência das plântulas (DINIZ et. al., 2006).

A promoção de crescimento por microrganismos depende da concentração, idade do inóculo e vigor das sementes que, em ótimas condições fisiológicas e edáficas, proporciona pouco ou nenhum efeito benéfico (HARMAN, 2000).

2.3. Bactérias promotoras de crescimento vegetal

Estudos realizados com bactérias isoladas da rizosfera vêm demonstrando a capacidade destas de promoverem o crescimento de plantas. Bactérias promotoras de crescimento, conhecidas na literatura como “plant growth-promoting rhizobacteria” (PGPR) ou “rizobactéria promotora de crescimento de plantas” (RPCP), colonizam diferentes órgãos das plantas e exercem efeitos benéficos sobre as mesmas, podendo promover aumentos na taxa de germinação de sementes, no desenvolvimento de órgãos, na produção de flores e no rendimento das culturas em casa de vegetação e no campo (KLOEPPER ; SCHROTH, 1978; SCHROTH, 1982; AMORIM; MELO, 2002; DEY et al., 2004; SUSLOW).

Dentre os gêneros bacterianos promotores de crescimento destacam-se: *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Acetobacter*, *Burkholderia* e *Bacillus* (GLICK, 1995).

Existem relatos de promoção de crescimento em plantas por rizobactérias em várias culturas, como trigo (LUZ, 1991), alface (FREITAS; MELO; DONZELI, 2003), citros (FREITAS; AGUILAR-VILDOSO, 2004) e arroz (LUDWIG, 2005).

As bactérias podem promover o crescimento vegetal através de três mecanismos: (i) auxiliar na nutrição da planta, na absorção de nitrogênio, ferro ou fósforo; (ii) prevenção de doenças, produção de antibióticos ou (iii) estimular o crescimento vegetal diretamente quer por fornecer hormônios vegetais, tais como auxinas e citocininas ou por baixar os níveis de etileno através da enzima ACC deaminase (GLICK et al., 1999).

2.3.1. Promoção de crescimento por bactérias fornecedoras de nutrientes

Microrganismos exercem função importante na agricultura fixando ou fornecendo nutrientes, como fósforo e nitrogênio que são essenciais para o crescimento e desenvolvimento das plantas (ÇAKMAKÇI et. al., 2005).

As contribuições de bactérias diazotróficas na fixação biológica de nitrogênio foram verificadas inicialmente em fabaceas, mas plantas da família *Poaceae* também se mostraram eficientes, pela utilização dessas bactérias em diversos experimentos, apresentando potencial significativo, respondendo com aumento na produção, após a inoculação com estes microrganismos (BALDANI et al., 2002; PENG; BISWAS; LADHA, 2002). Sendo verificado também no cultivo de trigo (SALA et. al., 2005), arroz irrigado com aumento na produtividade em grãos (KUSS, 2006) e em milho (LOPES et. al., 2006). Bactérias do gênero *Azospirillum* têm sido utilizadas como

inoculante em sementes de várias espécies de plantas para promover o crescimento das raízes e a fixação biológica do nitrogênio atmosférico (BALDANI et al., 1997; DIDONET; MARTIN-DIDONET; GOMES, 2003).

A fixação de nitrogênio e a solubilização do fósforo por rizobactérias promotoras de crescimento vegetal foi constatada em canola (FREITAS; MELO; DONZELI, 1997), arroz (SUDHA; JAYAKUMAR; SEKAR, 1999) e beterraba (ÇAKMAKÇI; KANTAR; ALGUR, 1999; ÇAKMAKÇI et. al., 2005).

O efeito destas bactérias está relacionado com a capacidade da planta hospedeira de liberar metabólitos, uma vez que estes microrganismos dependem da liberação de metabólitos para expressar o seu potencial em fornecer nutrientes (PERIN et. al., 2003).

2.3.2. Promoção de crescimento por bactérias biocontroladoras

Dentre os objetivos da microbiolização de sementes com bactérias biocontroladoras estão: controlar os patógenos das sementes; controlar os patógenos que sobrevivem no solo e causam podridões das sementes, morte das plântulas e tombamento; aumentar a taxa de germinação e vigor das sementes; promover o crescimento de plantas e aumentar o rendimento das plantas (LUZ, 1993).

A bactéria *Pseudomonas fluorescens*, inoculada em sementes de centeio, promoveu o crescimento vegetal das plantas, aumentando a biomassa seca das folhas, através do antagonismo a *Fusarium culmorum* (KUREK; JAROSZUK- SCISEL, 2003).

Em amendoim, nove isolados bacterianos de *Pseudomonas* spp. antagonistas a *Aspergillus niger*, *A. flavus* e *Sclerotium rolfsii*, promoveram o aumento do comprimento de raízes e a biomassa total das plantas originadas de sementes microbiolizadas por essas bactérias (DEY et. al., 2004).

A eficiência das rizobactérias promotoras de crescimento através do biocontrole, apresentando atividade antagonista a *Puccinia psidii*, também foi comprovada em mudas de eucalipto (TEIXEIRA et. al., 2005).

Foi relatado o aumento de produção das plantas de arroz, com o aumento no número de panículas e de perfilhos, após as sementes de arroz terem sido microbiolizadas com isolados bacterianos biocontroladores de *Rhizoctonia solani*,

Bipolaris oryzae e *Gerlachia oryzae*, agentes etiológicos de doenças do arroz (LUDWIG, 2005).

O uso de agentes de bioproteção de plantas será, provavelmente, uma das táticas que poderá aumentar o rendimento das culturas, sem, no entanto, aumentar os custos e, reduzindo efeitos deletérios ao meio ambiente (JACOBSEN; BACKMAN, 1993; LEWIS; FRAVEL; PAPAVIZAS, 1995).

2.3.3. Promoção de crescimento por bactérias fornecedoras de hormônios e/ou enzimas

Algumas rizobactérias podem regular a fisiologia das plantas pela produção e/ou liberação de hormônios que regulam o crescimento e o desenvolvimento vegetal (RYU et.al., 2003).

Foi observada a promoção de crescimento de plantas de mostarda através de rizobactérias produtoras de auxinas, hormônio responsável pelo crescimento vegetal, isoladas de diversas espécies de Brássicas (ASGHAR et al., 2002).

Alguns microrganismos com atividade antagônica a patógenos também são capazes de promover o crescimento de plantas pela produção da enzima ACC deaminase (1-aminociclopropano-1-carboxilato) inibidora do etileno, hormônio responsável pela senescência de vegetais (GLICK et al., 2007).

A produção de ACC deaminase foi constatada em uma ampla gama de isolados bacterianos, incluindo *Azospirillum*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Achromo-bacter*, *Burkholderia*, *Ralstonia*, *Pseudomonas* e *Enterobacter* (BLAHA et al., 2006). Além disso, 62 de 88 cepas de *Pseudomonas* spp. com atividade de biocontrole, oriundas de diversas partes do mundo continham ACC deaminase (WANG et al., 2001).

A utilização de micronutrientes, aminoácidos, micorrizas e microrganismos de efeito antagônico a patógenos no tratamento de sementes demonstrou grande potencial para o aumento da produtividade em pimentão (DINIZ et. al., 2009).

Os resultados alcançados até hoje demonstraram que a incorporação de tais produtos em sementes é uma técnica promissora, mas ainda fornece resultados inconsistentes (DINIZ et. al., 2009).

2.4. Tiametoxam como bioativador de plantas

A aplicação de diferentes ingredientes ativos no tratamento de sementes é uma prática que confere proteção ao ataque de insetos e patógenos. Por outro lado, o uso de inseticidas sistêmicos, dependendo da sua composição química, pode influenciar o comportamento fisiológico de genótipos no campo. O desconhecimento do efeito de alguns destes tratamentos sobre o comportamento fisiológico das sementes, sua influência sobre o estabelecimento da cultura, seu crescimento e rendimento, pode levar ao não aproveitamento destas novas tecnologias com perdas significativas na atividade agrícola. O tiametoxam é uma destas tecnologias que vem demonstrando seu potencial em aumentar o vigor e a produtividade de vários cultivos (ACEVEDO; CLAVIJO, 2008).

O tiametoxam, utilizado com sucesso no controle de pragas iniciais de diversas culturas, faz parte de uma nova geração de inseticidas pertencente ao grupo químico dos neonicotinóides (CASTRO et al., 2008). Devido aos numerosos relatos de campo, observou-se que o produto possui um efeito fitotônico, ou seja, apresenta capacidade de aumentar o vigor, o desenvolvimento e a produtividade de sementes de soja tratadas com este produto, mesmo na ausência de pragas (CASTRO; PEREIRA, 2008). Desta maneira foi definido como um bioativador por CASTRO et al. (2008).

Os bioativadores são substâncias orgânicas complexas modificadoras do crescimento, capazes de atuar na transcrição do DNA na planta; expressão gênica que possui os processos de transcrição, tradução, processamento da proteína, características influenciadas pelo ambiente, proteínas da membrana, enzimas metabólicas e nutrição mineral (CASTRO; PITELLI; PERES, 2005).

Este bioativador é transportado dentro da planta através das células ativando várias reações fisiológicas como a expressão de proteínas. Estas proteínas interagem com vários mecanismos de defesa de estresses da planta, permitindo que ela enfrente melhor condições adversas. Em soja foi observado aumento do vigor, produtividade, área foliar e radicular, estande mais uniforme, uniformidade na emergência e melhor arranque inicial em plântulas originadas de sementes tratadas com esse bioativador. (CASTRO, 2006; TAVARES et al., 2007).

Porém, Castro et al. (2008) constatou que não houve diferença no crescimento das raízes de plantas de soja, cuja, sementes foram tratadas com tiametoxam.

Utilizado como tratamento de sementes de soja, o tiametoxam acelera a germinação, induz maior desenvolvimento do eixo embrionário minimizando os efeitos negativos em situações de presença de alumínio, salinidade e deficiência hídrica. Segundo Cataneo et al, (2006), o produto acelera a germinação, por estimular a atividade da peroxidase, prevenindo o estresse oxidativo. A ação do tiametoxam sobre a germinação reduz o tempo para estabelecimento da cultura no campo, diminuindo os efeitos negativos de competição com plantas daninhas ou por nutrientes essenciais presentes no solo (CATANEO et al., 2006).

Além disso, o produto tiametoxam estimula o desempenho fisiológico de sementes de cenoura, aumentando significativamente a germinação e o vigor (ALMEIDA et. al., 2009).

Em estudo realizado por Acevedo e Clavijo, (2008), sementes de arroz, algodão, feijão, milho e soja tratadas com tiametoxam foram avaliadas quanto à embebição de água, germinação, emergência, crescimento e desenvolvimento de raízes e vigor. Quanto à embebição de água, em geral, foi possível observar que tiametoxam incrementou as taxas de embebição em todos os materiais. Uma maior disponibilidade de água no interior dos tecidos das sementes acelera a germinação, por efeito do incremento na atividade enzimática.

A aplicação de tiametoxam aumenta a percentagem e a velocidade de germinação nos genótipos estudados, principalmente em soja. Segundo Acevedo; Clavijo (2008), este efeito se relaciona com um possível incremento na atividade de algumas enzimas envolvidas no processo de germinação, os quais aceleram o metabolismo das sementes. Os resultados também foram positivos para os testes de emergência, crescimento e desenvolvimento de raízes, aumentando o peso seco e comprimento das mesmas, e vigor para todas as espécies.

O tiametoxam também aumenta os níveis totais de proteínas em arroz, feijão, milho e soja (ACEVEDO; ZAMORA; CLAVIJO, 2008; CATANEO, 2008). Quanto ao efeito enzimático em sementes de arroz, este produto aumenta a atividade de enzimas como α -amilase, facilitando a decomposição do amido e mobilização das reservas, glicose 6-fosfato desidrogenase e peroxidase, que atua na defesa das plantas expostas a estresse ambiental facilitando o estabelecimento da cultura (ACEVEDO et al., 2008).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório Didático de Análise de Sementes, no Laboratório de Bacteriologia Vegetal e em casa de vegetação da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas (UFPeL), Pelotas-RS.

Foram utilizados seis lotes de sementes de arroz da cultivar BRS Querência com diferentes qualidades fisiológicas.

3.1 Caracterização da qualidade inicial dos lotes

Foram conduzidos os testes de germinação e vigor (primeira contagem da germinação) para seleção e caracterização da qualidade inicial dos lotes a serem utilizados. As sementes não receberam tratamento.

Germinação: foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes de cada lote, distribuídas em papel germitest umedecido com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel, colocados em germinador regulado a temperatura constante de 25°C. As contagens foram efetuadas aos sete e quatorze dias após a semeadura, e as avaliações, realizadas de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), exceto pelo dia da primeira avaliação, computando-se as percentagens de plântulas normais para cada repetição.

Primeira contagem da germinação: foi realizada conjuntamente com o teste de germinação, constituindo do registro das plântulas normais verificadas na primeira contagem do teste de germinação, realizada aos sete dias após a semeadura, seguindo as recomendações das Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), exceto pelo dia da avaliação.

Após a seleção dos lotes foi realizada a análise da sanidade e a determinação do grau de umidade.

Grau de umidade: determinada pelo método de estufa a 105°C por 24 horas. Sendo utilizadas duas amostras de 5g de sementes inteiras, segundo as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

Sanidade: o exame das sementes foi realizado após incubação utilizando o método do papel filtro. Foram utilizadas oito repetições de 25 sementes, colocadas em caixa tipo gerbox contendo papel filtro umedecido com água destilada. As caixas tipo gerbox contendo as sementes foram levadas para a câmara de incubação a $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ por sete dias em regime intermitente de 12h de luz/12h de escuro. A avaliação foi realizada sob microscópio estereoscópico, observando-se as estruturas dos patógenos, e quando necessário utilizou-se também o microscópio biológico para identificação mais segura dos patógenos associados, segundo as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

3.2. Aplicação dos isolados bacterianos e dosagens de tiametoxam às sementes

Foram aplicados às sementes suspensões de quatro isolados bacterianos e duas concentrações de tiametoxam (3-2(-cloro-tiazol-5-ilmetil)-5-metil-[1,3,5] oxadiazinan-4-ilideno-N-nitroamina).

As rizobactérias utilizadas foram: Dfs185 (*Pseudomonas synxantha* (Ehrenberg) Holland), Dfs223, (*P. fluorescens* Migula), Dfs306 (não identificado), Dfs416 (*Bacillus* sp.Cohn). Estes isolados foram pré-selecionados para o controle de doenças do arroz e promoção de crescimento por Moura *et al.* (1998), Ludwig; Moura (2007) e Ludwig; Moura (2009). Esses isolados foram preservados em água destilada ou emulsificados em glicerina, como também repicados para tubos com tampa rosqueável, contendo meio 523 de Kado e Heskett (1970), segundo metodologia descrita por Romeiro (2001).

As sementes de arroz foram microbiolizadas em suspensão bacteriana de cada um dos isolados com 24h de crescimento em meio 523 (KADO; HESKETT, 1970). Cada suspensão foi preparada com solução salina (NaCl 0,85%), com a concentração ajustada para $\text{OD}_{540}=0,5$. Para a microbiolização foi realizada a imersão das sementes na suspensão bacteriana e agitação por 30 minutos à temperatura de 10°C .

Para a obtenção da concentração do produto tiametoxam as sementes foram tratadas com o correspondente a 100mL e 200mL do produto por 100kg de sementes de arroz. O produto foi aplicado diretamente no fundo de um saco plástico antes de colocar as sementes, que foram agitadas até ficarem uniformemente tratadas. Foi utilizado um volume de calda (produto+água) suficiente para promover

uma distribuição uniforme do produto sobre as sementes. Para medir as quantidades do produto e de água destilada foram utilizadas micropipetas.

3.3. Experimento 1: Potencial fisiológico de sementes de arroz tratadas com bactérias promotoras de crescimento de plantas ou tiametoxam

Germinação: foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes de cada lote, distribuídas em papel germitest umedecido com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel, colocados em um germinador regulado para manter a temperatura constante de 25°C. As contagens foram efetuadas aos sete e quatorze dias após a semeadura, e as avaliações, realizadas de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), exceto pelo dia da primeira avaliação, computando-se as percentagens de plântulas normais.

Primeira contagem da germinação: foi realizada conjuntamente com o teste de germinação, constituindo do registro das plântulas normais verificadas na primeira contagem do teste de germinação, realizada aos sete dias após a semeadura, seguindo as recomendações das Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), exceto pelo dia da avaliação.

Teste de frio sem solo: as sementes foram semeadas da mesma forma que aquelas submetidas ao teste de germinação e os rolos de papel colocados em sacos plásticos e mantidos durante sete dias em câmara a 10°C. Após este período, os rolos foram levados a um germinador regulado à temperatura de 25°C por sete dias. Após este período, a avaliação foi realizada de acordo com o descrito para o teste de germinação.

Comprimento de parte aérea, raiz e total em rolo de papel: Foram utilizadas quatro repetições de dez sementes, semeadas no terço superior de papel germitest umedecido com quantidade de água destilada equivalente a 2,5 vezes o peso do papel e colocados em um germinador regulado para manter a temperatura constante de 25°C. Foram medidas separadamente a parte aérea e a raiz das plântulas normais. O comprimento total da parte aérea e da raiz foi obtido somando-

se as medidas de cada repetição e dividindo pelo número de plântulas, com resultados expressos em centímetros.

Avaliações em casa de vegetação

Comprimento de parte aérea, raiz e comprimento total de plântulas: foram utilizadas quatro repetições de dez sementes, semeadas em células individuais de bandejas de poliestireno (isopor), contendo substrato comercial Plantimax® e as avaliações realizadas ao décimo quarto dia. Foram medidas separadamente a parte aérea e a raiz das plântulas normais. O comprimento total da parte aérea e da raiz foi obtido somando-se as medidas de cada repetição e dividindo pelo número de plântulas, com resultados expressos em centímetros.

Fitomassa seca: foram utilizadas quatro repetições de dez sementes, semeadas em células individuais de bandejas de poliestireno (isopor), contendo substrato comercial Plantimax®. Após catorze dias foram retiradas as plântulas normais e foram colocadas em sacos de papel e levadas para estufa a 60°C até atingir peso constante. A massa da matéria seca das plântulas foi obtida somando-se as massas de cada repetição e dividindo pelo número de plântulas, com resultados expressos em miligramas.

Emergência e índice de velocidade de emergência (IVE): foram utilizadas quatro repetições de 100 sementes, semeadas em células individuais de bandeja de poliestireno (isopor), contendo substrato comercial Plantimax® e as avaliações ocorreram diariamente até o décimo quarto dia, sendo esses dados aplicados na fórmula proposta por Maguire (1962) para obter-se o IVE e a emergência expressa em percentagem.

Sendo: N = número de plântulas emergidas/ dia

D= número de dias após a semeadura

$$IVE = \frac{N_1}{D_1} + \frac{N_2}{D_2} + \dots + \frac{N_n}{D_n}$$

3.4. Experimento 2: Comportamento fisiológico e enzimático de sementes de arroz tratadas com rizobactérias ou tiametoxam, submetidas a diferentes temperaturas.

Após um ano de armazenamento das sementes, sem a adição de tiametoxam ou microbiolização com rizobactérias e tratadas com tiametoxam na dose correspondente a 200mL.100kg⁻¹ de sementes em câmara fria e seca à temperatura de 17°C e umidade relativa de 45-50%, foi avaliada a qualidade fisiológica das sementes e realizada a análise enzimática das plântulas. Cada avaliação foi realizada em diferentes temperaturas, 15°, 20° e 25°C. As sementes correspondentes ao isolado bacteriano DFs185 (*P. synxantha*) foram microbiolizadas no momento da instalação do experimento.

Germinação: foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes de cada lote, distribuídas em papel germitest umedecido 2,5 vezes o peso do papel, colocados em um germinador regulado a temperatura constante de 25 e 20°C e em câmara de germinação a 15°C. As contagens foram efetuadas aos sete e quatorze dias após a semeadura, e as avaliações, realizadas de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), exceto pelo dia da primeira avaliação, computando-se as percentagens de plântulas normais para cada repetição.

Primeira contagem da germinação: foi realizada conjuntamente com o teste de germinação, constituindo no registro das plântulas normais verificadas na primeira contagem do teste de germinação, realizada ao sétimo dia após a semeadura, seguindo as recomendações das Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), exceto pelo dia da avaliação.

Velocidade de protrusão da radícula: foram semeadas quatro repetições de dez sementes em papel germitest umedecido com quantidade de água destilada equivalente a 2,5 vezes o peso do papel. Os rolos de papel foram levados para o germinador a 25 e 20°C e para câmara de germinação a 15°C. As avaliações ocorreram aos sete dias consecutivos após o início do teste, com o auxílio de uma régua milimetrada, considerando 2mm de raiz primária como o início do processo de

germinação. Posteriormente, estes dados foram aplicados a fórmula proposta por Edmond e Drapala (1958 apud VIEIRA; CARVALHO, 1994):

Sendo:

G1, G2, Gn= número de plântulas normais na primeira, na segunda e na enésima contagem.

N1, N2, Nn= número de dias da semeadura a primeira, segunda e a enésima contagem.

$$VG = \frac{(N1G1) + (N2G2) + \dots + (NnGn)}{G1 + G2 + \dots + Gn}$$

Emergência e índice de velocidade de emergência (IVE): foram utilizadas quatro repetições de 100 sementes colocadas em caixas tipo gerbox, que foram levadas para germinadores a 20°C e 25°C e para câmara de germinação a 15°C. As avaliações ocorreram diariamente até o décimo quarto dia, sendo esses dados aplicados na fórmula proposta por Maguire (1962) para obter-se o IVE e a emergência expressa em percentagem.

Sendo: N = número de plântulas emergidas por dia

D= número de dias após a semeadura

$$IVE = \frac{N1}{D1} + \frac{N2}{D2} + \dots + \frac{Nn}{Dn}$$

Comprimento da raiz e parte aérea da planta: foram utilizadas quatro repetições de 10 sementes, semeadas sobre papel germitest umedecido com quantidade de água destilada equivalente a 2,5 vezes o peso do papel e avaliado após sete dias o comprimento de plântulas normais, medindo a raiz e a parte aérea, com auxílio de uma régua milimetrada.

Atividade enzimática: foi realizada a determinação de isoenzimas pelo método eletroforético. Para obtenção das plântulas, foi utilizada a mesma metodologia do teste de germinação, porém com a retirada das mesmas no quinto dia, exceto para a avaliação a 15°C, onde foi necessário a retirada das plântulas aos 14 dias. As plântulas tiveram a parte aérea separada da raiz. As amostras da parte aérea, foram pesadas e colocadas em tubos eppendorf, após foram maceradas com

bastão de vidro e a elas foi adicionado o extrator numa proporção de 1:2 (p/v) para cada uma das enzimas avaliadas, α -amilase (ALFENAS, 1998), esterase e peroxidase (SCANDÁLIOS, 1969). Após a adição do extrator nas amostras, estas foram armazenadas durante a noite em refrigerador. No dia seguinte, as amostras foram centrifugadas em centrífuga refrigerada sob temperatura de 4°C. Foram aplicados 20 a 25µL do sobrenadante em cada canaleta do gel. A placa contendo o gel foi colocada em uma cuba, conectada a uma fonte com uma tensão de 90V, com solução tampão para proceder a corrida. O gel foi retirado da placa e colocado em uma bandeja com a solução reveladora específica para cada enzima.

3.5. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento foi inteiramente casualizado para os dois experimentos. O experimento 1 em esquema bifatorial 7x6 [(4 isolados bacterianos + 2 doses tiametoxam + controle) e seis lotes], e o experimento 2 em esquema bifatorial 6x3 (seis lotes, (DFs185 + tiametoxam + controle)] avaliados em três temperaturas. Os dados com valores expressos em percentagem foram transformados com a aplicação da fórmula: $\arcsen(\sqrt{x+100})$. Foi utilizado o teste de Tukey para a comparação das médias dos tratamentos em nível de 5% probabilidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Caracterização da qualidade inicial dos lotes

Dentre os lotes avaliados, foram selecionados seis lotes com qualidades diferentes. A seleção foi realizada de acordo com o vigor (primeira contagem da germinação) e germinação (tab. 1).

Tabela 1. Caracterização inicial dos lotes de sementes de arroz selecionados

Lote	Umidade (%)	1ª contagem da germinação	Germinação (%)
1	11,0	69 b	74 bc
2	11,0	81 a	90 a
3	12,0	70 b	82 b
4	11,0	49 c	71 c
5	11,0	62 b	80 bc
6	12,0	84 a	90 a

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Nesta etapa, os lotes foram classificados em três níveis, alto vigor (lotes 2 e 6), médio vigor (lotes 1, 3 e 5) e baixo vigor (lote 4).

A análise sanitária das sementes (tab. 2) destacou o lote 4 em relação aos demais, ao apresentar incidência de bactérias em 10% das sementes avaliadas, enquanto dentre os outros cinco lotes, apenas o lote 6 apresentou 3%.

Tabela 2. Ocorrência (%) de microrganismos associados a sementes de lotes de arroz

Microrganismo	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 4	Lote 5	Lote 6
<i>Alternaria</i> sp.	5,0	7,0	4,5	0	16,5	9,0
<i>Aspergillus</i> sp.	56,5	55,5	42,5	17,5	36,5	23,5
<i>Cladosporium</i> sp.	24,5	3,5	2,5	6,0	3,5	3,5
<i>Curvularia</i> sp.	12,0	6,5	1,5	0	39,0	19,5
<i>Epicocum</i> sp.	1,0	0	0	0	0	0
<i>Fusarium</i> sp.	14,5	14,5	3,0	8,0	22,5	4,5
<i>Gerlachia</i> sp.	1,0	1,0	3,5	0	1,0	1,0
<i>Nigrospora</i> sp.	54,5	40,5	43,0	61,0	56,5	60,0
<i>Penicillium</i> sp.	70,0	59,0	46,5	22,0	42,0	31,0
<i>Periconia</i> sp.	0	0	0	0	1,0	0,5
<i>Phoma</i> sp.	6,5	3,0	5,5	0	9,0	7,0
<i>Rhizoctonia</i> sp.	0	0	0	0	9,5	5,0
<i>Rhizopus</i> sp.	22,5	2,5	9,5	4,0	64,0	1,5
<i>Trichotecium</i> sp.	9,0	0	0	0	0	0
Bactérias	0	0	0	10,0	0	3,0

Destaca-se o alto percentual de contaminação das sementes por fungos de armazenamento *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp., gêneros que costumam causar invasão e deterioração das sementes em condições de baixa umidade (CHRISTENSEN, 1973). Outros gêneros de fungos com alta incidência foram *Nigrospora* e *Cladosporium* (lote 1), o primeiro causador de manchas de grãos que depreciam o produto visualmente, antes do beneficiamento (BALARDIN, 2003) e o segundo ocorre em inúmeras espécies vegetais podendo estar associado à mudança de cor dos grãos em cereais.

4.2. Experimento 1: Potencial fisiológico de sementes de arroz tratadas com bactérias promotoras de crescimento de plantas ou tiametoxam.

Conforme os resultados apresentados na tabela 3 foi possível observar um comportamento geral dos lotes de alto vigor de não responderem aos isolados bacterianos e ao tiametoxam. Para os lotes de baixo vigor houveram respostas positivas aos isolados bacterianos e ao tiametoxam. O lote 1 com 74% de plântulas normais não possuía a percentagem mínima de germinação de 80%, estabelecida por instrução normativa do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2005), atingiu percentuais de até 88% de germinação ao ser microbiolizado com o DFs416, isso representa um aumento de 14 pontos percentuais.

Os isolados bacterianos, DFs306, DFs223 e tiametoxam 100 e 200 também conferiram ao lote 1 percentuais de germinação estabelecidos pela legislação. O lote 4, com germinação de 71% (controle) apresentou um percentual de germinação de 83% após ser microbiolizado com DFs306. Os resultados positivos obtidos com tiametoxam estão de acordo com Acevedo e Clavijo (2008) que observaram o aumento no percentual de germinação de sementes de arroz, feijão, algodão, milho e soja quando tratadas com tiametoxam. Segundo Cataneo et al. (2006), o tiametoxam acelera a germinação, por estimular a atividade da peroxidase, prevenindo o estresse oxidativo.

O estímulo à germinação ocasionado pelos isolados bacterianos pode estar relacionado à produção de hormônios como giberilinas (HOLL et al., 1988) e auxinas (ARAUJO; HENNING; HUNGRIA, 2005).

Em conformidade com os dados apresentados na tabela 4, os percentuais obtidos na primeira contagem da germinação apresentam o mesmo comportamento da germinação, de não haver resposta dos lotes de alto vigor. O lote 5, respondeu aos isolados bacterianos, apresentando um aumento de 15 pontos percentuais após microbiolização com DFs416, 13 pontos percentuais com DFs223 e 12 pontos percentuais com DFs306 e ao tiametoxam 100 (aumento de 11 pontos percentuais). O lote 4 respondeu positivamente aos isolados bacterianos DFs306 e DFs185, aumentando em 14 pontos percentuais a germinação aos sete dias, após a microbiolização com DFs306. Aumento da germinação de sementes de arroz, amendoim e quiabo inoculadas com espécies de *Pseudomonas* spp. *fluorescentes* isoladas do rizoplane de arroz e pimentão foi observado por Dileep; Kumar; Dube (1998).

Tabela 3. Percentagem de germinação de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com doses de tiametoxam e isolados bacterianos

Lotes	Sem tratamento		Tiametoxam 200		Tiametoxam 100		DFs 185		DFs223		DFs306		DFs 416	
1	74	bc C	83	b ABC	85	ab AB	78	b BC	85	a AB	86	a AB	88	a A
2	90	a A	86	ab A	90	a A	90	a A	85	a A	90	a A	83	a A
3	82	b AB	79	b AB	77	b AB	83	ab AB	85	a A	75	b B	85	a A
4	71	c BC	68	c C	65	c C	78	b AB	73	b BC	83	ab A	72	b BC
5	79	bc B	81	b AB	88	a A	81	b AB	82	a AB	84	ab AB	86	a AB
6	90	a A	91	a A	88	a A	89	a A	85	a A	89	a A	91	a A

CV= 4,74%

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.
CV= Coeficiente de variação.

Tabela 4. Primeira contagem da germinação (%) de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com doses de tiametoxam e isolados bacterianos

Lotes	Sem tratamento		Tiametoxam 200		Tiametoxam 100		DFs 185		DFs223		DFs306		DFs 416	
1	69	b AB	75	b A	65	bc B	69	cd AB	65	b B	64	cd B	76	b A
2	81	a A	73	b AB	73	b AB	78	b AB	76	a AB	75	ab AB	70	b B
3	70	b AB	61	c BC	59	c C	72	bc A	79	a A	73	bc A	79	b A
4	49	c C	38	d D	55	c ABC	60	d AB	53	c BC	63	d A	49	c BC
5	62	b B	70	bc AB	73	b A	69	cd AB	75	a A	74	ab A	77	b A
6	84	a A	83	a A	85	a A	86	a A	81	a A	82	a A	88	a A

CV= 4,88%

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.
CV= Coeficiente de variação.

O teste de frio não conseguiu detectar diferença na qualidade dos lotes (tab. 5), inclusive do lote 4, uma hipótese para este fato é que o frio tenha inibido o desenvolvimento de algum patógeno presente neste lote 4, fazendo com que o percentual de germinação fosse maior após o teste de frio. Porém, não foi possível verificar efeito benéfico do tiametoxam e dos isolados bacterianos, ocorrendo uma redução de germinação após frio de 34 e 14 pontos percentuais, respectivamente, para os lotes 4 e 6 após a microbiolização com DFs223. Neste teste, nem as rizobactérias e nem o tiametoxam conferiram efeito positivo, à semelhança do observado por Tonin (2008) em sementes de milho ao não encontrar efeito do tiametoxam na germinação após o teste de frio e por Tarumoto et al. (2010) ao observarem, efeito negativo do bioativador para a mesma variável. Assim como o frio pode ter inibido o desenvolvimento de patógenos presentes no lote 4, pode também ter inibido ou prejudicado o desenvolvimento dos isolados bacterianos impedindo o efeito benéfico dos mesmos.

Não houve efeito das rizobactérias e das doses de tiametoxam para o comprimento da parte aérea em casa de vegetação (tab. 6), exceto para o lote 3, sendo que tiametoxam 100, DFs223 e DFs306 aumentaram o comprimento da parte aérea. O primeiro foi responsável por um aumento de 3,34 cm (30%) comparados com plântulas originadas de sementes não tratadas. Os lotes mostraram-se uniformes quanto ao comprimento da parte radicular em casa de vegetação, não diferindo entre si (tab.7). Em geral, não houve resposta dos lotes aos isolados bacterianos e ao bioativador para esta variável. Tiametoxam 100, DFs306 e DFs416 aumentaram o comprimento da parte radicular do lote 2, enquanto que para o lote 4 somente o DFs306 mostrou-se eficiente. Para o comprimento total de plântulas em casa de vegetação (tab. 8), também não foi observado efeito do tiametoxam e dos isolados bacterianos, somente o lote 3 diferiu da testemunha ao ser microbiolizado com os isolados bacterianos DFs223 e DFs306.

Esses resultados de comprimento de plântula (partes aérea, radicular e total) demonstram que as rizobactérias e o bioativador não apresentam efeito tóxico às plântulas de arroz. Os resultados de comprimento de plântula para o tiametoxam estão de acordo com Pereira (2008) que estudando o efeito de diferentes doses de tiametoxam em cana de açúcar não observou alteração na altura da parte aérea de plântulas e, com Castro et al. (2008) que avaliando o crescimento de raízes de soja, originadas de sementes tratadas com tiametoxam concluíram que o inseticida não

proporcionou maior crescimento de raízes. Em relação aos isolados bacterianos, Borges et al. (2009), trabalhando com os isolados DFs185, DFs223 e DFs416, também não encontraram efeito desses para as variáveis comprimento da parte aérea e do sistema radicular.

Tabela 5. Percentagem de germinação após teste de frio de diferentes lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com doses de tiametoxam e isolados bacterianos

Lotes	Sem tratamento		Tiametoxam 200		Tiametoxam 100		DFs 185		DFs223		DFs306		DFs 416	
1	78	a AB	78	ab AB	81	ab AB	87	a A	81	a AB	77	a B	78	ab AB
2	78	a A	78	ab A	85	a A	78	ab A	80	ab A	79	a A	78	ab A
3	79	a A	80	ab A	85	a A	78	ab A	80	ab A	79	a A	78	ab A
4	83	a A	85	a A	77	ab AB	67	b BC	49	d D	59	b CD	68	b BC
5	74	a A	71	b A	71	b A	81	a A	70	bc A	74	a A	77	ab A
6	80	a AB	71	b BC	74	b ABC	84	a A	66	c C	83	a A	83	a A

CV= 5,83%

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

CV= Coeficiente de variação.

Tabela 6. Comprimento (cm) da parte aérea de plântulas de arroz oriundas de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com doses de tiametoxam e isolados bacterianos aos 14 dias em casa de vegetação

Lotes	Sem tratamento		Tiametoxam 200		Tiametoxam 100		DFs 185		DFs223		DFs306		DFs 416	
1	14,18	a AB	14,50	a AB	12,51	a B	12,53	a B	15,41	a A	13,32	ab AB	13,88	a AB
2	14,54	a A	14,26	a A	11,78	a A	13,64	a A	13,35	ab A	13,03	ab A	12,23	a A
3	10,90	b B	12,45	a AB	14,24	a A	12,89	a AB	14,05	ab A	14,02	ab A	12,85	a AB
4	14,00	a A	14,27	a A	13,83	a A	13,50	a A	14,73	a A	14,62	ab A	12,07	a A
5	15,16	a A	15,19	a A	13,34	a A	14,29	a A	14,05	ab A	15,01	a A	14,03	a A
6	13,29	ab A	12,92	a A	13,75	a A	11,83	a A	11,95	b A	12,04	b A	13,24	a A

CV= 9,94%

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

CV= Coeficiente de variação.

Tabela 7. Comprimento (cm) da parte radicular de plântulas de arroz oriundas de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com doses de tiametoxam e isolados bacterianos aos 14 dias em casa de vegetação

Lotes	Sem tratamento		Tiametoxam 200		Tiametoxam 100		DFs 185		DFs223		DFs306		DFs 416	
1	4,14	a AB	4,47	a A	4,21	a AB	3,78	a B	4,12	a AB	4,28	a AB	4,03	a AB
2	3,95	a D	4,18	a BCD	4,85	a A	4,00	a CD	3,98	a D	4,78	a AB	4,66	a ABC
3	3,86	a A	4,23	a A	4,51	a A	4,30	a A	3,98	a A	4,25	a A	4,19	a A
4	4,02	a B	4,04	a B	4,27	a AB	3,92	a B	3,97	a B	4,87	a A	4,11	a B
5	4,04	a A	4,46	a A	4,37	a A	4,06	a A	4,12	a A	4,26	a A	4,35	a A
6	4,39	a AB	3,92	a AB	4,44	a AB	3,90	a B	3,90	a B	4,58	a A	4,08	a AB
CV= 7,46%														

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.
CV= Coeficiente de variação.

Tabela 8. Comprimento total (cm) de plântulas de arroz oriundas de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com doses de tiametoxam e isolados bacterianos aos 14 dias em casa de vegetação

Lotes	Sem tratamento		Tiametoxam 200		Tiametoxam 100		DFs 185		DFs223		DFs306		DFs 416	
1	17,36	ab AB	18,52	ab A	16,17	a AB	15,17	b B	18,39	a A	16,02	a AB	17,03	a AB
2	17,97	a A	18,07	ab A	16,89	a A	16,75	ab A	16,37	ab A	17,18	a A	16,06	a A
3	14,75	b B	16,76	b AB	17,57	a AB	17,33	ab AB	18,05	ab A	18,28	a A	16,09	a AB
4	17,27	ab AB	18,34	ab A	16,97	a AB	17,41	ab AB	18,14	a A	17,84	a AB	15,25	a B
5	18,48	a AB	20,08	a A	17,69	a AB	18,38	a AB	17,13	ab B	18,41	a AB	17,93	a AB
6	17,68	a A	16,83	b A	17,67	a A	14,83	b A	15,33	b A	17,54	a A	15,30	a A
CV= 7,93%														

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. CV= Coeficiente de variação.

Para a fitomassa seca da parte radicular (tab. 9) e da parte aérea (tab. 10) não houve diferença entre os tratamentos, exceto pela redução na fitomassa seca da parte aérea do lote 6 ocasionado pelo Dfs185. Esses resultados estão de acordo com Cuchiara et al. (2009) que ao utilizarem os isolados Dfs185, Dfs223 e Dfs416 na avaliação das mesmas variáveis em plântulas de arroz, relataram que não houve diferença em relação às sementes não tratadas, e com Borges et al. (2009) que observaram redução do peso da fitomassa seca de raízes de plântulas de arroz ocasionada por Dfs185 comparativamente às sementes não tratadas.

O índice de velocidade de emergência (IVE) não foi alterado positivamente, ocorrendo uma redução neste índice para o lote 1 ocasionado pelo tiametoxam 100, Dfs185 e Dfs223 (tab. 11). A velocidade de emergência, conforme Dan et al. (2010), salientaram que é um fator preponderante para um rápido estabelecimento das plântulas em condições de campo, embora não tenham encontrado efeito do tratamento com tiametoxam na velocidade de emergência de plântulas de soja.

De acordo com os dados apresentados na tabela 12, os isolados bacterianos e as duas doses de tiametoxam tiveram resposta positiva na emergência pelo menos para um dos lotes avaliados. Apesar dos resultados negativos para o IVE do lote 1, esse mesmo lote, de média qualidade, foi o mais influenciado positivamente pelo tiametoxam 100, Dfs185, Dfs223, Dfs306 e Dfs416 na sua emergência aos 14 dias. Destaca-se o isolado Dfs185 por aumentar a percentagem final de emergência de cinco dos seis lotes avaliados, obtendo, respectivamente, 21 e 14 pontos percentuais a mais para os lotes 1 e 3 comparativamente com as sementes controle.

Na microbiolização de sementes de arroz com diferentes isolados bacterianos, Borges et al. (2009) também observaram a capacidade do Dfs185 em aumentar o percentual de emergência. O tiametoxam 200 foi o único tratamento que promoveu aumento da emergência do lote 4 (13 pontos percentuais), sendo eficiente também para o lote 2, de alta qualidade. O isolado Dfs306 apresentou resposta positiva para os lotes 1 e 6 e para o lote 1 de baixa qualidade, o isolado proporcionou aumento de 23 pontos percentuais em relação às sementes não tratadas.

Tabela 9. Fitomassa seca (mg) de raízes de plântulas de arroz oriundas de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com doses de tiametoxam e isolados bacterianos aos 14 dias em casa de vegetação

Lotes	Sem tratamento	Tiametoxam 200	Tiametoxam 100	DFs 185	DFs223	DFs306	DFs 416
1	38,9 a A	36,4 a A	49,9 a A	31,6 a A	35,8 a A	40,5 a A	41,1 a A
2	35,5 a A	37,3 a A	48,3 a A	35,6 a A	35,1 a A	46,9 a A	46,2 a A
3	34,8 a A	31,5 a A	44,8 a A	34,2 a A	39,0 a A	36,8 a A	39,7 a A
4	30,6 a A	35,8 a A	50,9 a A	34,5 a A	33,2 a A	45,1 a A	37,0 a A
5	40,0 a A	35,3 a A	50,9 a A	32,5 a A	41,2 a A	49,3 a A	39,2 a A
6	31,3 a AB	32,9 a AB	46,8 a AB	17,1 a B	48,2 a AB	54,6 a A	34,3 a AB
CV= 41,09%							

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.
CV= Coeficiente de variação.

Tabela 10. Fitomassa seca (mg) da parte aérea de plântulas de arroz oriundas de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com doses de tiametoxam e isolados bacterianos aos 14 dias em casa de vegetação

Lotes	Sem tratamento	Tiametoxam 200	Tiametoxam 100	DFs 185	DFs223	DFs306	DFs 416
1	72,0 a A	83,4 a A	72,0 a A	56,6 ab A	71,1 a A	61,3 a A	66,5 a A
2	72,2 a A	84,3 a A	70,6 a A	63,1 ab A	62,9 a A	65,5 a A	65,8 a A
3	60,8 a A	65,9 a A	72,6 a A	70,3 ab A	64,4 a A	55,1 a A	63,9 a A
4	61,3 a A	69,5 a A	70,4 a A	72,9 a A	58,4 a A	63,2 a A	46,1 a A
5	80,8 a A	76,1 a A	77,1 a A	61,0 ab A	69,8 a A	73,9 a A	69,5 a A
6	74,5 a A	72,7 aAB	64,9 a AB	41,9 b B	58,0 a AB	66,1 a AB	55,7 a AB
CV= 22,39%							

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.
CV= Coeficiente de variação.

Efeito positivo da microbiolização de rizobactérias (*B. cereus* e *P. fluorescens*) foi relatado por Saravanakumar et al. (2007) que incrementarem entre 37 a 50% a percentagem de emergência de sementes de *Camellia sinensis* (L.) comparativamente à testemunha. Aumentos de 12 a 19% na emergência de plântulas de amendoim foram observados por Kishore e Pande (2007), trabalhando com *B. megaterium*.

Considerando a possibilidade de o crescimento das raízes em casa de vegetação ter sido limitado pela dimensão das células das bandejas, foi avaliado o comprimento da parte aérea (tab. 13) e parte radicular (tab. 14) de plântulas de arroz em rolo de papel. Em geral não houve diferença significativa para as duas variáveis, exceto no lote 4 houve redução do comprimento de raízes e parte aérea de plântulas originadas de sementes tratadas com DFs185. Esses resultados concordam com os obtidos por Castro et al. (2008) Pereira (2008) e Borges et al. (2009). Embora não tenha ocorrido diferença significativa entre os tratamentos, ocorreu diferença em valores absolutos. Principalmente para o comprimento de raízes, houve diferença entre os percentuais das plântulas tratadas com tiametoxam e os isolados bacterianos, comparativamente às sementes sem tratamento. Destaca-se o incremento de 25% no comprimento da parte aérea do lote 2, conferido pelo isolado bacteriano DFs306. Para o comprimento de raízes, essas diferenças chegaram a 41 e 29% de aumento no comprimento de raízes para os lotes 4 e 3, respectivamente, ao serem tratados com tiametoxam 200. Ainda para o lote 3 os isolados DFs185 e DFs416 conferiram, respectivamente, 23% e 18% de incremento no comprimento das raízes. O lote 2 tratado com DFs185 e tiametoxam 200 apresentou acréscimo de 22% na variável avaliada e os mesmos ocasionaram aumentos de 13 e 14% para raízes de plântulas do lote 6. O isolado bacteriano DFs416 conferiu ao lote 5 um incremento de 18% ao comprimento de raízes.

Tabela 11. Índice de velocidade de emergência de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com doses de tiametoxam e isolados bacterianos aos 14 dias em casa de vegetação

Lotes	Sem tratamento	Tiametoxam 200	Tiametoxam 100	DFs 185	DFs223	DFs306	DFs 416
1	4,93 a AB	4,24 ab BC	3,84 ab C	3,60 b C	3,93 ab C	4,27 b BC	5,59 a A
2	3,87 bc AB	4,81 a A	4,04 ab AB	3,44 b B	4,31 a AB	4,32 b AB	4,61 b A
3	4,42 ab A	3,79 b A	4,13 ab A	3,93 ab A	3,91 ab A	4,23 bc A	4,31 b A
4	3,36 c A	3,56 b A	3,51 b A	3,55 b A	3,31 b A	3,31 c A	3,13 c A
5	4,39 ab AB	3,85 b B	4,28 ab AB	3,79 ab B	4,05 ab AB	5,02 ab A	4,25 b AB
6	4,79 ab AB	4,08 ab B	4,64 a AB	4,57 a AB	4,08 ab B	5,28 a A	3,96 bc B

CV= 11,16%

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.
CV= Coeficiente de variação.

Tabela 12. Emergência (%) aos 14 dias de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com doses de tiametoxam e isolados bacterianos em casa de vegetação

Lotes	Sem tratamento	Tiametoxam 200	Tiametoxam 100	DFs 185	DFs223	DFs306	DFs 416
1	65 c C	69 c C	80 b B	86 a AB	82 ab AB	88 ab A	85 a AB
2	75 ab BC	85 ab A	67 d C	84 a A	80 b AB	82 b AB	67 Cc
3	72 bc BC	78 b B	71 cd BC	86 a A	70 c BC	70 c BC	68 cC
4	73 bc B	86 a A	71 cd BC	67 b BC	63 c C	66 c BC	62 cC
5	82 a BC	84 ab ABC	79 bc C	90 a A	88 a AB	82 b BC	79 ab C
6	83 a CD	82 ab CD	88 a ABC	90 a AB	84 ab BCD	92 a A	78 b D

CV= 4,44%

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.
CV= Coeficiente de variação.

Tabela 13. Comprimento (cm) da parte aérea de plântulas de arroz oriundas de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com doses de tiametoxam e isolados bacterianos aos 7 dias em rolo de papel

Lote	Sem tratamento	Tiametoxam 200	Tiametoxam 100	DFs185	DFs223	DFs306	DFs416
1	2,95 a A	2,92 a A	3,15 a A	2,83 ab A	2,96 a A	3,58 a A	2,90 a A
2	2,79 a A	2,81 a A	3,22 a A	3,22 a A	3,33 a A	3,50 a A	3,25 a A
3	2,69 a A	2,70 a A	2,54 a A	3,03 ab A	2,45 a A	3,27 a A	2,60 a A
4	2,77 a AB	2,78 a AB	2,62 a AB	2,00 b B	2,65 a AB	2,41 a A	2,73 a AB
5	2,87 a A	2,26 a A	2,77 a A	3,03 ab A	2,93 a A	3,10 a A	3,26 a A
6	2,64 a A	2,86 a A	2,51 a A	2,90 ab A	3,00 a A	2,84 a A	2,74 a A
CV=17,6%							

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

CV= Coeficiente de variação.

Tabela 14. Comprimento (cm) da parte radicular de plântulas de arroz oriundas de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com doses de tiametoxam e isolados bacterianos aos 7 dias em rolo de papel

Lote	Sem tratamento	Tiametoxam 200	Tiametoxam 100	DFs185	DFs223	DFs306	DFs416
1	4,56 a A	4,26 a A	3,99 a A	4,53 a A	4,48 a A	4,86 a A	3,80 ab A
2	4,12 a A	5,02 a A	4,46 a A	5,03 a A	4,87 a A	4,77 a A	4,41 ab A
3	3,72 a A	4,80 a A	3,82 a A	4,58 a A	4,41 a A	3,83 a A	4,52 ab A
4	3,15 a AB	4,47 a A	3,00 a AB	2,53 b B	3,89 a AB	3,60 a AB	2,99 b AB
5	4,53 a A	4,78 a A	4,68 a A	4,52 a A	4,69 a A	4,65 a A	5,37 a A
6	4,67 a A	5,36 a A	4,44 a A	5,30 a A	4,99 a A	4,29 a A	4,98 a A
CV=16,8%							

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

CV= Coeficiente de variação.

Dentre as rizobactérias, o DFs185 (*P. synxantha*) e DFs306 (não identificado) foram as que obtiveram melhor desempenho nas variáveis avaliadas. Entretanto, o isolado bacteriano DFs185 destacou-se pela emergência de plântulas, ao apresentar efeito positivo para cinco dos seis lotes avaliados, somente não ocasionou efeito positivo para o lote 4. Porém, somente ao ser tratado com tiametoxam 200, o lote 4 apresentou emergência superior às sementes não tratadas.

O isolado bacteriano DFs185 conferiu melhor desempenho na emergência de plântulas para os lotes avaliados e o tiametoxam 200, foi o único eficaz no aumento da emergência do lote 4. Por esse motivo foram selecionados para o experimento 2 o DFs185 e o tiametoxam 200.

4.3. Experimento 2: Comportamento fisiológico e enzimático de sementes de arroz tratadas com rizobactérias e com tiametoxam submetidas a diferentes temperaturas.

O objetivo deste experimento foi avaliar em diferentes temperaturas, o potencial fisiológico e a atividade enzimática das plântulas originadas de sementes tratadas com rizobactérias e com tiametoxam.

Para a germinação a 25°C (tab. 15), não houve efeito do tiametoxam 200 e de DFs185, resultados semelhantes foram obtidos por Cuchiara et al. (2009) para sementes de arroz microbiolizadas com DFs185, por Araújo et al. (2010) para sementes de arroz armazenadas por um ano e inoculadas com diferentes estirpes de bactérias diazotróficas e por Conceição et al. (2008) em sementes de milho. Em relação ao tiametoxam, também não foram obtidos resultados positivos para soja (DAN et al., 2010; TAVARES et al., 2007) e feijão (BARROS; YOKOYAMA; COSTA, 2001). Porém, para a mesma variável avaliada a 20°C (tab.15) o tiametoxam e o isolado bacteriano DFs185 apresentaram aumentos de 20 e 18 pontos percentuais, respectivamente, em relação às sementes não tratadas para o lote 1. Enquanto que para os lotes 3 e 6, o DFs185 também conferiu maior percentual de germinação, 9 e 11 pontos percentuais, respectivamente, mostrando-se eficaz para metade dos lotes avaliados e com tendência a apresentar maior efeito positivo sobre lotes de baixa qualidade.

O percentual de germinação a 15°C do lote 1, de baixa qualidade, (tab.15) foi maior nas sementes tratadas com tiametoxam e DFs185, sendo o primeiro

tratamento mais eficiente do que o segundo. No entanto, para o lote 6, considerado de alta qualidade, somente o isolado bacteriano DFs185 apresentou efeito positivo em relação às sementes não tratadas. O lote 2, após o tratamento, sofreu redução da germinação em relação às sementes não tratadas e o lote 3, tratado com tiametoxam, também sofreu diminuição da germinação.

Tabela 15. Percentagem de germinação a 25, 20 e 15°C de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com tiametoxam e o isolado bacteriano DFs185 (*Pseudomonas synxantha*)

25°C								
LOTE	SEM TRATAMENTO			TIAMETOXAM 200			DFs185	
1	84	a	A	80	a	A	81	a A
2	82	ab	A	87	a	A	83	a A
3	74	b	A	67	b	A	70	b A
4	45	c	A	41	c	A	44	c A
5	82	ab	A	80	a	A	87	a A
6	85	a	A	86	a	A	83	a A
Média	75			74			75	
CV= 4,4%								
20°C								
LOTE	SEM TRATAMENTO			TIAMETOXAM 200			DFs185	
1	56	b	B	76	a	A	74	a A
2	73	a	A	76	a	A	72	ab A
3	55	b	B	57	b	AB	64	b A
4	16	c	A	13	c	A	16	c A
5	73	a	A	68	a	AB	64	b B
6	66	a	B	72	a	AB	77	a A
CV= 4,61%								
15°C								
LOTE	SEM TRATAMENTO			TIAMETOXAM 200			DFs185	
1	14	c	C	33	a	A	20	b B
2	31	a	A	19	bc	B	14	b B
3	19	bc	A	13	c	B	17	b AB
4	2	d	A	1	d	A	2	c A
5	24	ab	A	22	b	A	21	b A
6	21	b	B	22	b	B	40	a A
CV= 8,79%								

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha em cada temperatura, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

CV= Coeficiente de variação.

A baixa germinação a 15°C pode ser explicada pelo fato de a temperatura ideal para o desenvolvimento do arroz situar-se entre 25°C e 30°C (YOSHIDA, 1981b). Temperaturas abaixo desse intervalo podem ocasionar um estresse por frio, o qual é considerado um dos estresses abióticos mais importantes para o arroz (MERTZ et al., 2009). Segundo Yoshida (1981a), danos como falhas na germinação, atraso na emergência e redução na estatura de plantas são comuns em decorrência do frio.

Em condições de baixa temperatura o DFs185 conferiu aumento no percentual de germinação em lotes de alta e baixa qualidade a 20 e 15°C, reduzindo a germinação de apenas um lote, enquanto o tiametoxam demonstrou efeito positivo sobre um lote de baixa qualidade e negativo para um lote de alta e outro de baixa qualidade.

Os resultados da primeira contagem da germinação a 25°C apresentaram a mesma tendência da germinação a 25°C (tab. 16). A 20°C, o isolado DFs185 e o tiametoxam tiveram efeito positivo para um lote de baixa qualidade, o lote 1, apresentando melhor desempenho comparativamente às sementes não tratadas, porém o lote 2 (alta qualidade), sofreu redução na percentagem de germinação da primeira contagem quando tratado (tab. 16). O tiametoxam também apresentou efeito negativo para os outros dois lotes de baixa qualidade. O mesmo variável não pôde ser avaliado a 15°C, pois não haviam sementes germinadas aos sete dias.

Tabela 16. Primeira contagem da germinação (%) a 25 e 20°C de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com tiametoxam e o isolado bacteriano DFs185 (*Pseudomonas synxantha*)

25°C						
LOTE	SEM TRATAMENTO		TIAMETOXAM 200		DFs185	
1	81	a A	72	ab A	77	ab A
2	78	a A	76	ab A	82	a A
3	54	b A	64	b A	61	b A
4	28	c A	13	c B	24	c AB
5	80	a A	73	ab A	81	a A
6	73	a A	81	a A	76	ab A
CV= 7,96%						
20°C						
LOTE	SEM TRATAMENTO		TIAMETOXAM 200		DFs185	
1	45	c B	56	a A	57	a A
2	67	a A	58	a B	58	a B
3	47	c A	36	b B	42	b AB
4	6	d A	4	c A	4	c A
5	55	bc AB	61	a A	51	ab B
6	61	ab A	58	a A	61	a A
CV= 6,19%						

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha em cada temperatura não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

CV= Coeficiente de variação.

Conforme os dados apresentados na tabela 17 é possível verificar que para a velocidade de germinação, avaliada pela protrusão de raiz, a 25°C não houve diferença de tratamentos. A 20°C, também não houve efeito dos isolados bacterianos e do tiametoxam sobre os lotes para a velocidade de germinação, exceto pelo lote 5 que teve a velocidade de germinação afetada negativamente pelo tiametoxam e DFs185, enquanto os outros lotes não sofreram influência do bioativador e das rizobactérias avaliadas.

Tabela 17. Velocidade de protrusão de radícula (dias) a 25, 20 e 15°C de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com tiametoxam e o isolado bacteriano DFs185 (*Pseudomonas synxantha*)

25°C						
LOTE	SEM TRATAMENTO		TIAMETOXAM 200		DFs185	
1	2,90	a A	2,86	a A	2,68	a A
2	2,89	a A	2,97	a A	2,69	a A
3	2,96	a A	3,00	a A	2,62	a A
4	4,25	b A	3,89	b A	3,99	b A
5	2,48	a A	2,83	a A	2,76	a A
6	2,55	a A	2,74	a A	2,48	a A
Média	3,01		3,05		2,87	
CV= 11,59%						
20°C						
LOTE	SEM TRATAMENTO		TIAMETOXAM 200		DFs185	
1	3,29	b B	3,52	a B	3,33	a B
2	3,03	b B	3,21	a B	3,34	a B
3	3,29	b B	3,29	a B	3,59	a B
4	3,50	b A	4,50	b B	4,58	b B
5	3,04	b B	3,11	a B	3,17	a B
6	3,18	b B	3,24	a B	3,19	a B
Média	3,22		3,48		3,53	
CV= 6,61%						
15°C						
LOTE	SEM TRATAMENTO		TIAMETOXAM 200		DFs185	
1	5,96	c B	5,96	c B	4,75	a A
2	5,86	bc B	5,82	ab B	5,26	b A
3	5,52	a B	5,70	a B	5,24	b A
4	0,00	d B	0,00	e B	0,00	e B
5	5,68	ab A	5,95	c B	5,78	c AB
6	5,81	bc A	6,20	d B	6,14	d B
Média	4,81		4,94		4,53	
CV= 2,13%						

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha em cada temperatura não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

CV= Coeficiente de variação.

A velocidade de germinação a 15°C foi afetada positivamente nos lotes 1,2 e 3, de baixa qualidade após as sementes serem tratadas com DFs185. No entanto, o efeito foi negativo para o lote 6 ao ser tratado e o lote 5 tratado com tiametoxam (tab. 17).

O índice de velocidade de emergência (IVE) a 25°C, diferiu pouco entre os tratamentos, apresentando aumento significativo para o lote 1 com tiametoxam que se igualou ao DFs185 e uma redução também significativa para os lotes 2 e 4 ao serem tratados com tiametoxam e o isolado bacteriano DFs 185 (tab. 18). Plântulas com maior IVE possuem melhor desempenho e, conseqüentemente, maior capacidade de resistir a estresses que possam interferir no crescimento e no desenvolvimento da planta (DAN et al., 2010). A mesma variável a 20°C não apresentou diferença para sementes não tratadas e microbiolizadas com rizobactérias ou tratadas com tiametoxam (tab. 18).

Tabela 18. Índice de velocidade de emergência a 25 e 20°C de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com tiametoxam e o isolado bacteriano DFs185 (*Pseudomonas synxantha*) aos 14 dias

25°C								
LOTE	SEM TRATAMENTO			TIAMETOXAM 200			DFs185	
1	9,12	bc	B	10,21	a	A	10,15	a AB
2	10,75	a	A	9,16	ab	B	9,26	a B
3	7,80	bc	A	6,96	c	A	7,02	b A
4	2,31	d	A	0,83	d	B	0,94	c B
5	8,01	bc	A	8,74	b	A	8,96	a A
6	9,32	b	A	9,58	ab	A	9,51	a A
CV= 7,01%								
20°C								
LOTE	SEM TRATAMENTO			TIAMETOXAM 200			DFs185	
1	4,96	a	A	4,39	a	A	4,86	a A
2	5,24	a	A	5,09	a	A	4,37	a A
3	2,89	ab	A	3,67	a	A	2,42	a A
4	0,80	b	AB	0,41	b	B	2,44	a A
5	5,27	a	A	5,30	a	A	4,87	a A
6	4,73	a	A	4,39	a	A	4,18	a A
CV= 25,29%								

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha em cada temperatura não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

CV= Coeficiente de variação.

De acordo com a tabela 19, o percentual de emergência a 25°C para os lotes 1 e 6 sofreu influência positiva do tiametoxam e DFs185, mas para o lote 3 somente o isolado bacteriano DFs185 afetou positivamente a emergência do lote, diferindo da média das sementes não tratadas. Esses resultados estão de acordo

com Kloepper et al. (1986) que ao conduzir experimentos em condições controladas e em condições de campo observaram aumento da emergência de plântulas em até 100%, ocasionados por rizobactérias do gênero *Pseudomonas*. No entanto, para os lotes 2 e 4 houve redução na percentagem de emergência de sementes tratadas com tiametoxam e microbiolizadas com DFs185. Esses resultados demonstram que sementes com DFs185 e tiametoxam respondem de forma diferente à emergência em casa de vegetação (experimento 1) e em germinadores com temperatura constante.

A 25°C houve efeito positivo, porém apenas para o lote 4 houve diferença entre os tratamentos para a mesma variável a 20°C com DFs 185, mostrou-se superior ao tiametoxam e às sementes não tratadas (tab. 19).

Tabela 19. Percentagem de emergência a 25 e 20°C de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com tiametoxam e o isolado bacteriano DFs185 (*Pseudomonas synxantha*) aos 14 dias

25°C			
LOTE	SEM TRATAMENTO	TIAMETOXAM 200	DFs185
1	78 b C	91 a A	86 a B
2	87 a A	82 b B	81 b B
3	58 c B	60 c AB	64 c A
4	29 d A	13 d B	14 d B
5	79 b A	82 b A	82 ab A
6	82 b B	88 a A	86 a A
CV= 2,68%			
20°C			
LOTE	SEM TRATAMENTO	TIAMETOXAM 200	DFs185
1	68 ab A	74 a A	68 ab A
2	66 a A	65 a A	74 ab A
3	48 a A	51 a A	52 b A
4	15 b B	11 b B	19 b A
5	76 a A	76 a A	75 a A
6	67 a A	62 a A	69 ab A
CV= 14,91%			

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha em cada temperatura não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

CV= Coeficiente de variação.

Em geral, o tiametoxam e o DFs185 não foram eficientes para aumentar a emergência de plântulas de arroz a 20°C. As variáveis IVE e emergência não

puderam ser avaliados a 15°C porque não houve emergência de plântulas aos 14 dias em câmara de germinação com temperatura constante.

Não houve efeito para o comprimento da parte aérea de plântulas a 25°C (tab. 20) ocasionado por DFs185 ou tiametoxam. Resultados semelhantes foram obtidos por Neves (2001) e Harthmann (2009) ao relatarem que a microbiolização de rizobactérias em sementes de cebola não afetou a altura da parte aérea de mudas de cebola. Somente a 20°C, o isolado bacteriano DFs185 aumentou o comprimento da parte aérea de plântulas do lote 3 (tab. 20).

Tabela 20. Comprimento da parte aérea de plântulas de arroz oriundas de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com tiametoxam e o isolado bacteriano DFs185 (*Pseudomonas synxantha*) a 25 e 20°C aos 7 dias em rolo de papel

25°C							
LOTE	SEM TRATAMENTO		TIAMETOXAM 200		DFs185		
1	4,27	a A	4,07	a A	3,53	b A	
2	4,40	a A	3,57	a A	4,47	ab A	
3	4,30	a A	4,70	a A	4,57	ab A	
4	4,13	a A	3,63	a A	3,60	b A	
5	3,97	a A	4,63	a A	5,03	a A	
6	4,17	a A	3,47	a A	4,10	a b A	
CV= 14							
20°C							
LOTE	SEM TRATAMENTO		TIAMETOXAM 200		DFs185		
1	1,73	a AB	1,60	a B	1,97	a A	
2	1,66	a B	1,86	a AB	2,00	a A	
3	1,56	a A	1,67	a A	1,57	a A	
4	1,10	b A	0,87	b A	0,97	c A	
5	1,73	a A	1,67	a A	1,70	ab A	
6	1,66	a A	1,86	a A	1,77	ab A	
CV= 8,74							

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha em cada temperatura não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

CV= Coeficiente de variação.

Para o comprimento da parte radicular a 25°C (tab. 21), não houve efeito positivo do tiametoxam e do DFs185. O tiametoxam apresentou efeito negativo para os lotes de alta qualidade e para um de baixa qualidade e o DFs185 também apresentou efeito negativo para um lote de baixa e outro de alta qualidade.

Porém, esse efeito não se repetiu a 20°C, situação na qual não houve diferença entre sementes tratadas e não tratadas (tab. 21).

Os comprimentos das partes aérea e radicular a 15°C não puderam ser avaliados, pois aos sete dias quando foram efetuadas as avaliações, as sementes nessas condições não haviam germinado.

Tabela 21. Comprimento da parte radicular de plântulas de arroz oriundas de lotes de sementes de arroz não tratadas e tratadas com tiametoxam e o isolado bacteriano DFs185 (*Pseudomonas synxantha*) a 25 e 20°C aos 7 dias em rolo de papel

25°C							
LOTE	SEM TRATAMENTO			TIAMETOXAM 200		DFs185	
1	8,20	a	A	4,60	a B	4,33	c B
2	5,37	b	AB	4,33	a B	6,20	bc A
3	7,47	ab	A	6,07	a A	6,73	b A
4	7,47	ab	A	4,53	a A	6,10	bc A
5	7,47	ab	A	6,30	a B	9,17	a A
6	7,47	ab	A	5,93	a B	6,17	bc B
CV= 14,02%							
20°C							
LOTE	SEM TRATAMENTO			TIAMETOXAM 200		DFs185	
1	3,10	a	A	3,33	a A	3,63	a A
2	3,00	a	A	3,33	a A	3,53	a A
3	3,17	a	A	3,63	a A	3,47	a A
4	1,60	a	A	2,07	a A	1,90	b A
5	3,00	a	A	3,33	b A	3,10	a A
6	3,20	b	A	3,57	a A	3,37	a A
CV= 10,53%							

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

CV= Coeficiente de variação.

Em geral, o bioativador e a rizobactéria foram capazes de incrementar o vigor de diferentes lotes de sementes de arroz submetidos a baixas temperaturas, obtendo respostas positivas isoladamente para alguns lotes.

Esses resultados demonstram que apesar dos relatos (TAVARES; CASTRO, 2005; ALMEIDA, 2008; SILVA et al., 2009) de que o tiametoxam possui efeito benéfico as sementes em situações de estresse por restrição hídrica, profundidade de semeadura e elevadas temperaturas, nas condições de baixa temperatura avaliadas neste trabalho, o bioativador não demonstrou essa

capacidade. Porém, os resultados obtidos com o tiametoxam podem ter sido influenciados pelo armazenamento das sementes tratadas, conforme relatam Dan et al., (2010) que recomendam o tratamento de sementes com tiametoxam próximo ao momento de semeadura, pois com o prolongamento do armazenamento de sementes tratadas com o bioativador foi observada redução da qualidade fisiológica de sementes de soja. Segundo Tonin (2008) e Tarumoto et al (2010), a redução na viabilidade e vigor de sementes de milho tratadas com tiametoxam intensifica-se com o prolongamento do armazenamento. Diferentemente do que observaram Pereira et al. (2010) que tratando sementes de milho com tiametoxam e armazenando-as constataram que a germinação não foi afetada após 12 meses de armazenamento em condições controladas, apesar da redução na emergência nas mesmas condições de armazenamento.

Na fig. 1 é possível visualizar os padrões eletroforéticos da enzima α -amilase a 25, 20 e 15°C. Observa-se que a 25°C não há acentuada diferença entre plântulas originadas de sementes microbiolizadas com DFs185 ou com tiametoxam para a expressão da α -amilase, provavelmente pelas condições favoráveis de germinação.

No entanto, a 20°C e a 15°C é possível observar ocorrência ocasional de aumento da atividade enzimática em plântulas oriundas de sementes microbiolizadas com *P. synxantha* (T2). A α -amilase é a enzima predominante sintetizada durante a germinação e atua mobilizando as reservas de amido no endosperma, disponibilizando substratos para utilização da plântula até que ela se torne fotossinteticamente auto-suficiente (BEWLEY; BLACK, 1994; NEDEL; ASSIS; CARMONA, 1996; VIEIRA et al., 2008).

No sistema isoenzimático esterase a 25°C (fig.2), foi possível identificar a presença de 6 alelos (EST 1, EST 2, EST 3, EST 4, EST 5 e EST 6). Porém, a 20°C e a 15°C 4 alelos foram observados (EST 1, EST 2, EST 3 e EST 4), mostrando que houve influência da temperatura e que o bioativador e a rizobactéria não apresentaram efeito sobre a expressão e intensidade de expressão da enzima. Esse efeito pode ser explicado pelo fato de as esterases estarem envolvidas em reações de hidrólise de ésteres, portanto diretamente ligadas ao metabolismo de lipídios, que foi mais acelerado em temperatura ótima. Esses resultados estão de acordo com Mertz et al.(2009) que, avaliando alterações fisiológicas em sementes de arroz expostas ao frio na fase de

germinação, relatam que o frio provocou diminuição na expressão da enzima esterase.

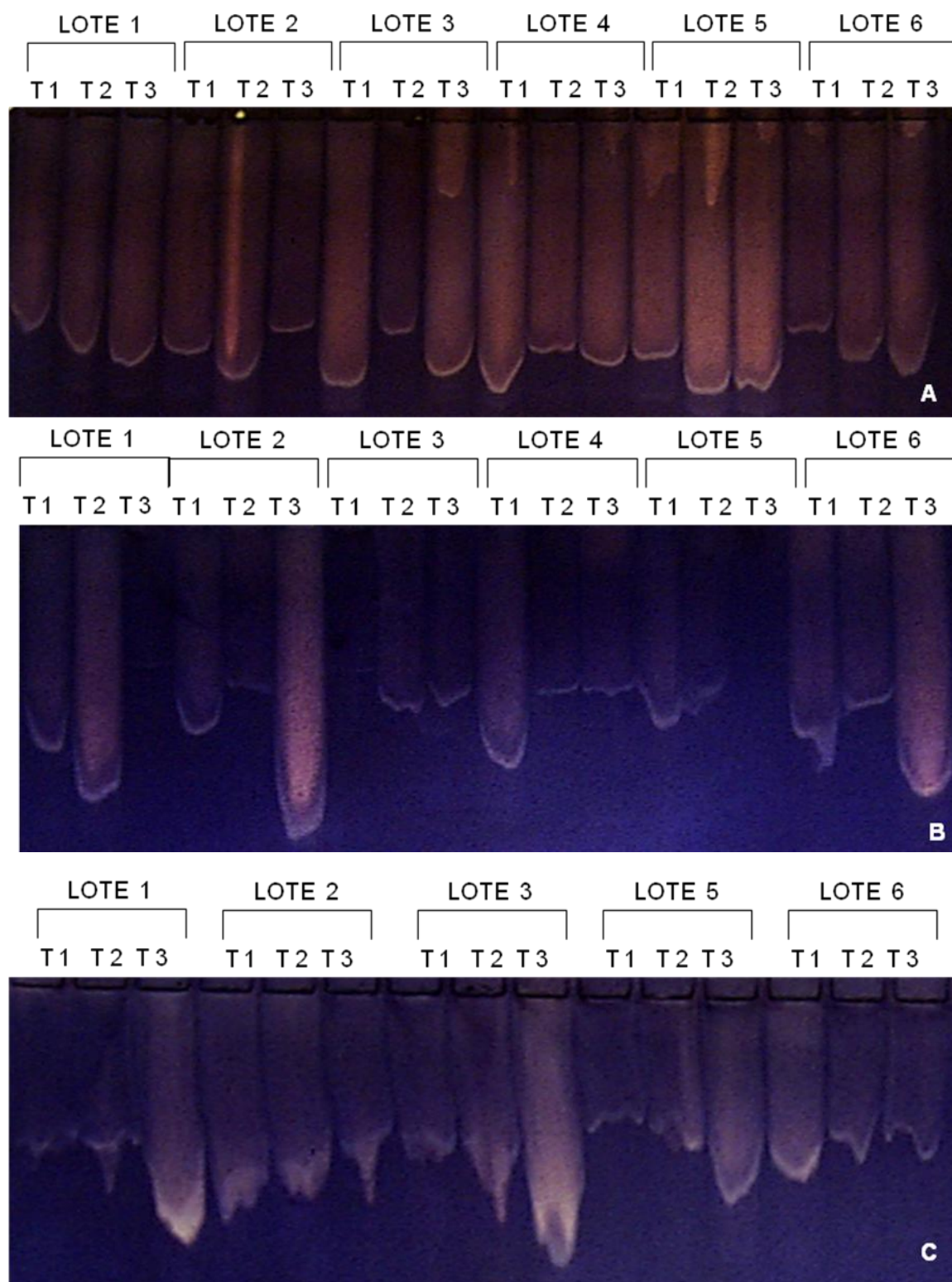


Figura 1. Padrões eletroforéticos da enzima α -amilase, em plântulas de arroz de lotes sem tratamento (T 1) aos cinco dias (25 e 20°C) e aos 14

dias (15°C), tratadas com tiametoxam (T 2) e *Pseudomonas synxantha* (T 3). A 25°C; B 20°C; C 15°C.

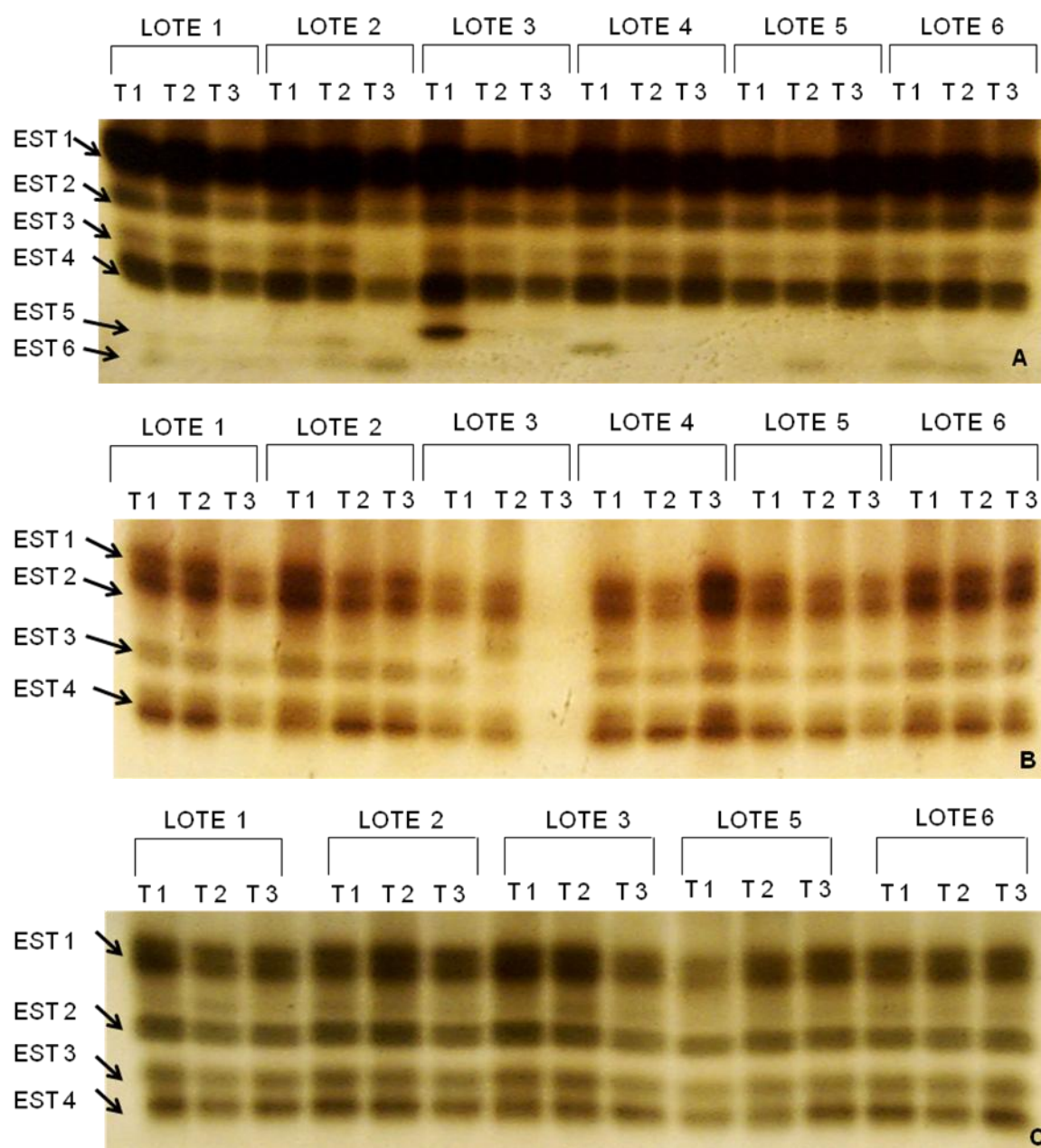


Figura 2. Padrões eletroforéticos da enzima esterase, em plântulas de arroz de lotes sem tratamento (T 1) aos cinco dias (25 e 20°C) e aos 14 dias (15°C), tratadas com tiametoxam (T 2) e *Pseudomonas synxantha* (T 3). A 25°C; B 20°C; C 15°C.

Pelo perfil isoenzimático da peroxidase (fig.3) foi possível observar que não houve diferença na expressão e intensidade das bandas que pudesse ser atribuída ao tiametoxam ou ao DFs185. A 25 e a 15°C, os padrões eletroforéticos

apresentaram quatro alelos (PO1, PO2, PO3 e PO4), porém a 20°C foi possível constatar a presença de três alelos. As peroxidases são isoenzimas associadas a mudanças nos processos fisiológicos de plantas submetidas a estresses (GASPAR et al., 1985).

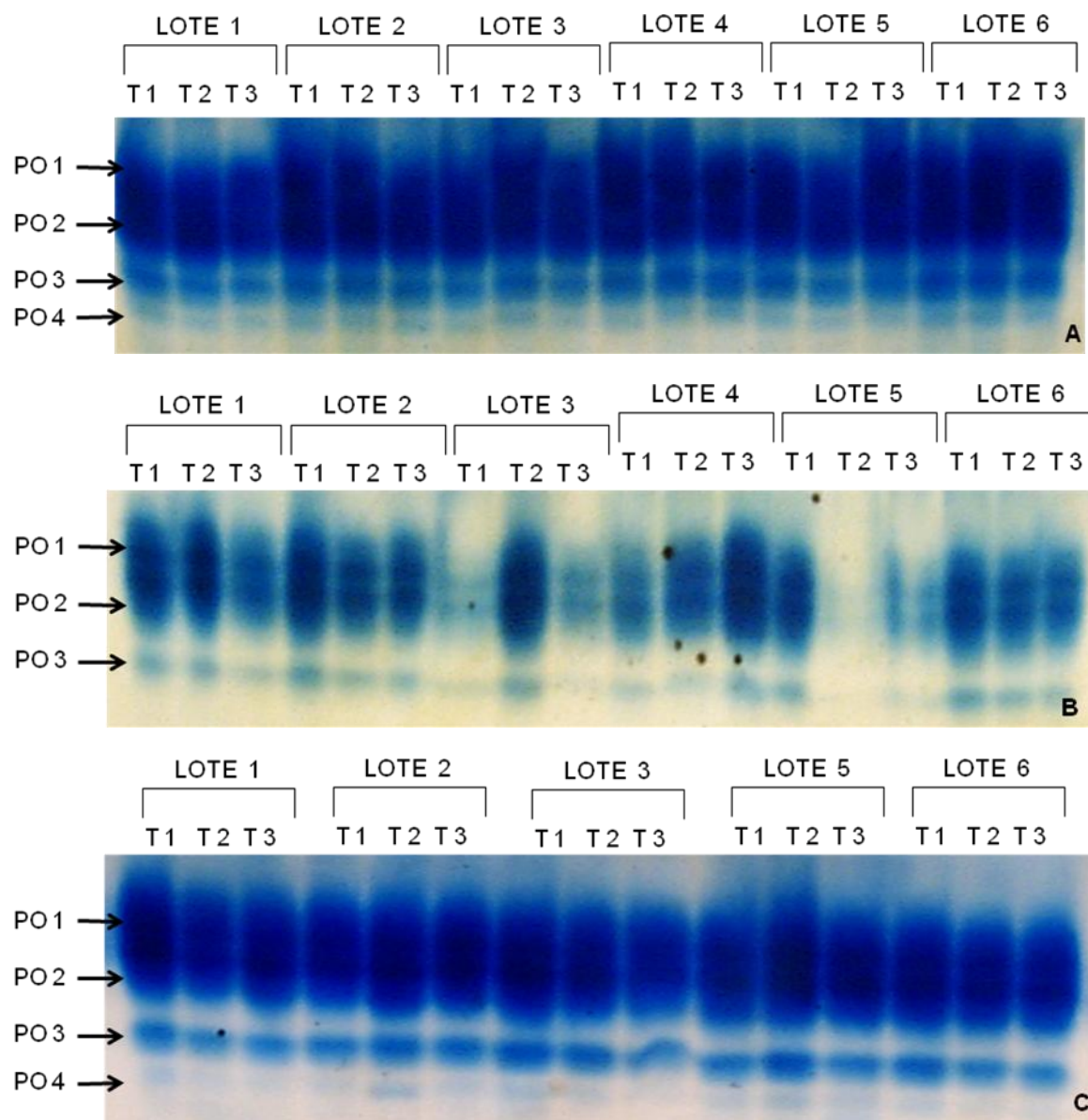


Figura 3. Padrões eletroforéticos da enzima peroxidase, em plântulas de arroz de lotes sem tratamento (T 1), tratadas com tiametoxam (T 2) e *Pseudomonas synxantha* (T 3) aos cinco dias (25 e 20°) e as 14 dias (15°C). A 25°C; B 20°C; C 15°C.

A presença de quatro alelos a 25°C pode estar relacionada com o processo germinativo que em temperatura favorável foi mais acelerado do que a 20°C. No entanto, a 15°C, possivelmente houve maior expressão e intensidade da enzima devido ao estresse causado pela baixa temperatura. Segundo Vieira et al. (2008),

o efeito das peroxidases na germinação de sementes é devido, tanto à sua ação benéfica oxidativa dos compostos fenólicos, possíveis inibidores naturais da germinação, quanto ao seu efeito competidor pelo oxigênio disponível, neste caso, retardando-a ou inibindo-a. O papel das peroxidases está associado na lignificação da parede celular, oxidação do ácido indol acético, do etileno e participação no processo de dormência das sementes, sendo que em alguns casos o seu efeito pode ser acentuado quando associado a fatores bióticos e abióticos, servindo como marcador bioquímico de estresse (MENEZES et al., 2004).

Não foi possível avaliar os padrões eletroforéticos das isoenzima para o lote 4 a 15°C, pois aos 14 dias a esta temperatura não ocorreu germinação para este lote.

5. Conclusões

1. O tratamento das sementes com rizobactérias e com tiametoxam estimula a qualidade fisiológica de sementes de arroz de baixa qualidade.

2. As variáveis mais influenciadas pelo tratamento de sementes com tiametoxam e os isolados bacterianos DFs185 (*P. synxantha*), DFs223, (*P. fluorescens*), DFs306 (não identificado), DFs416 (*Bacillus* sp.) foram germinação e emergência.

3. Tiametoxam e *P. synxantha* (DFs185) não alteraram a expressão e intensidade de expressão das isoenzimas esterase e peroxidase.

4. A bactéria *P. synxantha* (DFs 185) é promissora para o tratamento de sementes de arroz por estimular a germinação e a emergência.

5. Tiametoxam e *P. synxantha* (DFs185), não apresentam efeito benéfico na qualidade de sementes de arroz submetidas a estresse por baixas temperaturas.

6. Referências

ACEVEDO, J.C.; CLAVIJO, J. Investigación agronómica em Colombia. In: **Tiametoxam: Un nuevo concepto en vigor y productividad**. Ed. Syngenta, p. 41-91, 2008.

ACEVEDO, J.C.; ZAMORA, H.; CLAVIJO, J. Investigación bioquímica en Colombia. In: **Tiametoxam: Un nuevo concepto en vigor y productividad**, J. Clavijo. Ed. Syngenta, p. 93-122, 2008.

ALFENAS, A.C. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins**. Viçosa; editora: UFV, 1998. 574p.

ALMEIDA, A.S.; TILLMANN, M. A. A.; VILLELA, F.A.; PINHO, M. S. Bioativador no desempenho fisiológico de sementes de cenoura. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n.3, p.87-95, 2009.

AMORIM, E.P.R.; MELO, I.S.. Ação antagônica de rizobactérias contra *Phytophthora* parasítica e *P. citrophthora* e seu efeito no desenvolvimento de plântulas de citros. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.24, p.565-568, 2002.

ARAUJO, A. E.S.; ROSSETTO, C. A. V.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. Germinação e vigor de sementes de arroz inoculadas com bactérias diazotróficas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 4, p.932- 939, 2010.

ARAUJO, F. F.; HENNING, A.; HUNGRIA, M. Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root development. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Dordrecht, v.21, p. 1639-1645, 2005.

ASGHAR, H. N.;ZAHIR, Z. A.;ARSHAD, M.;KHALIQ, A. Relationship between in vitro production of auxins by rhizobacteria and their growth-promoting activities in *Brassica juncea* L. **Biol Fertil Soils**, v.35, p.231-237, 2002.

BALDANI, J. I.; REIS, V. R. S.; TEIXEIRA, K. R. S.; BALDANI, V. L. D. Potencial biotecnológico de bactérias diazotróficas associativas e endofíticas. In: SERAFINI, L. A.; BARROS, N. M.; AZEVEDO, J. L. (org) **Biotecnologia: avanços na agricultura e na agroindústria**. EDUCS, Caxias do Sul, 433p., 2002.

BALDANI, J. I.; CARUSO, L.; BALDANI, V. L. D.; GOI, S. R.; DÖBEREINER, J. Recent advances in BNF with non-legume plants. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 29, n. 5/6, p. 911-922, 1997.

BARLADIN, R.S. **Doenças do Arroz**. Santa Maria: Orium, 2003. 60 p.

BARROS, R.G.; YOKOYAMA, M.; COSTA, J.L. da S. Compatibilidade do inseticida thiamethoxan com fungicidas utilizados no tratamento de sementes de feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.31, n.2, p.153-157, 2001.

BEWLEY, J.D. & BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2nd ed. Plenum Press, New York, 1994, 445p.

BLAHA, D., PRIGENT-COMBARET, C., MIRZA, M. S., & MOE'NNE-LOCCOZ, Y. Phylogeny of the 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase-encoding gene *acdS* in phytobeneficial and pathogenic Proteobacteria and relation with strain biogeography. **FEMS Microbiology Ecology**, v.56, p.455–470, 2006.

BORGES, C.S.; CUCHIARA, C. C.; RIBEIRO, M. F.; OLIVEIRA-NAPOLEÃO, I. T.; MOURA, A. B.; MORAES, D. M. Efeito da microbiolização no crescimento de plântulas de arroz (*Oryza sativa* L.). XVIII Congresso de Iniciação Científica XI Enpos. **Anais do...**2009. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**, Brasília: SNDA/DNPV/ CLAV, 2009, 395p.

CASTRO, P.; PEREIRA, M. Bioativadores na agricultura. In: **Tiametoxam: Uma revolução na Agricultura Brasileira**, Gazzoni, D.L.. Ed. Vozes, São Paulo, p. 101-108, 2008.

CASTRO, G. S. A.; BOGIANI, J. C.; SILVA da, M. G.; GAZOLA, E.; ROSOLEM, C. A. Tratamento de sementes de soja com inseticidas e um bioestimulante. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.1311-1318, 2008.

CASTRO, P.R.C. Agroquímicos de controle hormonal na agricultura tropical. Piracicaba: ESALQ, **Série Produtor Rural**, v.32, 46p., 2006.

CASTRO, P.R.C.; PITELLI, AM.C.M.; PERES, L.E.P. Avaliação do crescimento de raiz e parte aérea de plântulas de tomateiro MT, DGT E BRT germinadas em diferentes concentrações do inseticida thiametoxan. In ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA “LUIZ DE QUEIROZ”. **Relatório técnico ESALQ/Syngenta** Piracicaba, p.14-25, 2005.

CATANEO, A.C. Ação do tiametoxam (thiametoxam) sobre a germinação de soja (*Glycine max* L.): enzimas envolvidas na mobilização de reservas e na proteção contra situações de estresses deficiência hídrica, salinidade e presença de alumínio). In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam: uma revolução na agricultura brasileira**. São Paulo: Vozes, 2008. p.284-308.

CATANEO, A C.; ANDRÉO, Y.; SEIFFERT, M.; BÚFALO, J.; FERREIRA, L.C. Ação do inseticida Cruiser sobre a germinação do soja em condições de estresse. In IV CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, **Anais do...** Londrina, p.90, 2006.

CHANDLER, R.F. **Arroz en los trópicos: guia para el desarrollo de programas nacionales**. San Jose, Costa Rica: IICA, 1984. 304p.

CONCEIÇÃO, P.M.; VIEIRA, H.D.; CANELLAS, L.P.; MARQUES JUNIOR, R.B.; OLIVARES, F.L. Recobrimento de sementes de milho com ácidos húmicos e bactérias diazotróficas endofíticas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, n.4, p.545-548, 2008.

CHRISTENSEN, C.M. Loss of viability in storage: microflora. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.1, n.3, p.547-562, 1973.

CUCHIARA, C. C.; RIBEIRO, M. F.; BORGES, C. S.; OLIVEIRA-NAPOLEÃO, I.T.; MOURA, A. B.; MORAES, D. M. Germinação e vigor de sementes de arroz (*Oriza sativa* L.) submetidas à microbiolização. XVIII Congresso de Iniciação Científica XI Enpos. **Anais do...**2009. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas.

ÇAKMAKÇI, R.; DÖNMEZ, F.; AYDIN, A.; SAHIN, F. Growth promotion of plants by plant growth-promoting rhizobacteria under greenhouse and two different field soil conditions. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 38, p.15-18, 2005.

ÇAKMAKÇI R., KANTAR F., ALGUR Ö.F. Sugar beet and barley yields in relation to *Bacillus polymyxa* and *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum* inoculation. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 162, p. 437– 442, 1999.

DAN, L. G. M.; DAN, H. A.; BARROSO, A. L. L.; BRACCINI, A. L. Qualidade fisiológica de sementes de soja tratadas com inseticidas sob efeito do armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, v.25, n.1, p.25-28, 2010.

DEY, R.; PAL, K.K.; BHATT, D.M.; CHAUHAN, S.M. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. **Microbiological Research**, v. 159, p. 371-394, 2004.

DIDONET, A.D.; MARTIN-DIDONET, C.C.G.; GOMES, G.F. Avaliação de Linhagens de Arroz de Terras Altas Inoculadas com *Azospirillum lipoferum* Sp59b e *A. brasilense* Sp245. **Comunicado Técnico**, 69. EMBRAPA Arroz e Feijão, Goiânia, 2003.

DILEEP, C.; KUMAR, B. S. D.; DUBE, H. C. Promotion of plant growth and yield by two rhizoplane fluorescent pseudomonads. **Indian Journal of Experimental Biology**. v. 36, n.4, p.399-402; 1998.

DINIZ,K.A.; OLIVEIRA,J.A.; GUIMARÃES,R.M.; CARVALHO,M.L.M.; MACHADO, J.C. Incorporação de microrganismos, aminoácidos, micronutrientes e

reguladores de crescimento em sementes de alface pela técnica de peliculização. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 28, n. 3, p.37-43, 2006.

DINIZ, K. A.; SILVA, P.A.; OLIVEIRA, J.A.;EVANGELISTA, J.R.E. Sweet pepper seed responses to inoculation with microorganisms and coating with micronutrients, aminoacids and plant growth regulators. **Scientia agrícola**, Piracicaba, v. 66, n.3, p.293-297, 2009.

EMBRAPA Clima Temperado: Cultivo do Arroz Irrigado no Brasil: **Importância Econômica, Agrícola e Alimentar do Arroz**. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Arroz/ArrozIrrigadoBrasil/cap01.htm>> Acesso em: 16 nov. 2010.

FREITAS, S.S.; AGUILAR-VILDOSO, C.I. Rizobactérias e promoção de crescimento de plantas cítricas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, p. 987-994, 2004.

FREITAS, S.S.; MELO, A.M.T.; DONZELI, V.P. Promoção de crescimento de alface por rizobactérias. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.27, p. 61-70, 2003.

FREITAS, J.R., BANERJEE, M.R., GERMIDA, J.J. Phosphate-solubilizing rhizobacteria enhance the growth and yield but not phosphorus uptake of canola (*Brassica napus* L.). **Biology and Fertility of Soils**, v. 24, p.358–364, 1997.

GASPAR, T.; PENEL, C.; CASTILLO, F.J.; GREPPIN, H.A. Two step control of basic and acidic peroxidase and significance for growth and development. **Physiologia Plantarum**, v.64, p.418-423, 1985.

GLICK, B. R. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. **Canadian Journal of Microbiology**, v.41,p.109–117, 1995.

GLICK, B. R., PATTEN, C. L., HOLGUIN, G.; PENROSE, D.M. (1999). Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth promoting bacteria. **London: Imperial College Press**, 1999.

GLICK, B. R.; CHENG,Z. ; CZARNY, J.; DUAN,J. Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria. **European Journal of Plant Pathology**, v.119, p.329-339, 2007.

HARMAN, G.E. Myth and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T- 22. **Plant Disease**, St. Paul, v.84, p.377-393, 2000.

HARTHMANN, O. E. L. **Microbiolização de sementes com rizobactérias na produção de cebola**. 2009. 117f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal). Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

HOLL, F.B.; CHANWAY, C.P.; TURKINGTON, R.; RADLEY, R. A. Response of crested wheatgrass (*Agropyron crystatum* L.), perennial ryegrass (*Lolium perenne*) and White clover (*Trifolium repens* L.) to inoculation with *Bacillus polymyxa*. **Soil Biology and Biochemistry**, London, v.20, p. 19-24, 1988.

KADO, C.I.; HESKETT, M.S. Seletive media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. **Phytopathology**, Saint Paul, v.60, p.969-976, 1970.

KISHORE, G.K.; PANDE, S. Chitin-supplemented foliar application of chitinolytic *Bacillus cereus* reduces severity of *Botrytis* gray mold disease in chickpea under controlled conditions. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v.44, p.98-105, 2007.

KLOEPPER, J. W.; SHER, F. M.; LALIBERTE, M.; TIPPING, B. Emergence promoting rhizobacteria: description and implications for agriculture. Swinburn, T.R.(ed.) In: **Iron, siderophores and plant disease**. New York, Plenum Press, p.155-164, 1986.

KLOEPPER, J.W.; SCHROTH, M.N. Plant growth promoting rhizobacteria on radish. In: **Proceedings of the Fourth Conference Plant Pathogenic Bacteria** (Ed. Station de Pathogenic Vegetale et Phytobacteriologic). INRA, Angers, p. 879–882, 1978.

KUREK, E.; JAROSZUK- SCISEŁ, J. Rye (*Secale cereale*) growth promotion by *Pseudomonas fluorescens* strains and their interactions with *Fusarium culmorum* under various soil conditions. **Biological Control**, v. 26, p. 48–56, 2003.

KUSS, A.V. **Fixação de nitrogênio por bactérias diazotróficas em cultivares de arroz irrigado**. 2006. 110f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

JACOBSEN, B.J.; BACKMAN, P.A. Biological and cultural plant disease controls: alternatives and supplements to chemicals in IPM systems. **Plant Disease**, v.77, p.311-315, 1993.

LEWIS, J.A.; FRAVEL, D.R.; PAPAVIZAS, G.C. *Cladorrhinum foecundissimum*: a potential biological control agent for the reduction of *Rhizoctonia solani*. **Soil Biology e Biochemistry**, v.27, n.7, p.863-869, 1995.

LOPES, A.A.C.; REIS-JUNIOR, F.B.; MENDES, I.D.; ALVES, G.B.; MARRIEL, I.E.; REIS, V.M. Efeito da inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* sobre a produtividade do milho nos períodos de safra e safrinha. In: IX Simpósio Nacional do Cerrado, **Resumos**, Brasília, 2006.

LUDWIG, J. **Biocontrole de doenças no arroz irrigado (*Oryza sativa* L.) pela microbiolização das sementes**. 2005. 35f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

LUDWIG, J.; MOURA, A.B. Controle biológico da queima-das-bainhas em arroz pela microbiolização de sementes com bactérias antagonistas. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, p.381-386, 2007.

LUDWIG, J.; MOURA, A.B. Controle biológico de *Bipolaris oryzae* em arroz irrigado. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B. (Ed.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p.317-330.

LUZ, W.C. **Revisão Anual de Fitopatologia de Plantas**. 1.ed. Passo Fundo: EMBRAPA TRIGO, v.1, 1993. 416p.

LUZ, W.C. Controle biológico de doenças na espermosfera. In: EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Defensivos Agrícolas (Jaguariúna, SP). **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna, p. 25-31, 1991.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selectyon and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, n.1, p.176-177, 1962.

MAPA (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento). **Instrução normativa nº 25**, de 16 de dezembro de 2005. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>. Acesso em 07 de fevereiro de 2011.

MENEZES, S. M. de; TILLMANN, M. A. A.; BICCA DODE, L.; VILELLA, F. A. Detecção de soja geneticamente modificada tolerante ao glifosato por métodos baseados na atividade de enzimas. **Revista Brasileira de Sementes**, v.26, n.2, p.150-155. 2004.

MERTZ, L. M.; HENNING, F. A.; SOARES, R.C BALDIGA, R. F.; PESKE, F. B.; MORAES, D. M. Alterações fisiológicas em sementes de arroz expostas ao frio na fase de germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 2, p.254-262, 2009.

MOURA, A.B.; PIEROBOM, C.R.; NAVA, D.E.; AFONSO, A.P. Tratamento de sementes de arroz para seleção massal de procariotas potenciais antagonistas a *Bipolaris oryzae*. **Fitopatologia Brasileira**, v.23 (Suplemento), 1998. (Resumo).

NEDEL, J.L.; ASSIS, F.N.; CARMONA, P.S. A planta de arroz-morfologia e fisiologia. Pelotas: UFPEL, 1996. 56p. (Módulo 1 - **Curso de Especialização em Produção de Sementes de Arroz Irrigado**).

NEVES, D. M. S. Controle **biológico de *Pseudomonas marginalis* Pv. *Marginalis*** e promoção de crescimento de cebola pela microbiolização de sementes. Pelotas, 2001, 47p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia). Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

PENG, S.; BISWAS, J. C.; LADHA, J. K. et al. Influence of rhizobial inoculation on photosynthesis and grain yield of rice. **Agronomy Journal**, n. 94, p. 925- 929, 2002.

PEREIRA, E. M.; SILVA, L. H. C.; OLIVEIRA, J. A.; PEREIRA, LAÍS A.; VON PINHO, E. V.R.; DELLY, A. V.; NASCIMENTO, V. E. Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de milho tratadas com inseticidas e armazenadas. XXVIII Congresso Nacional de Milho e Sorgo, **Anais do...** 2010, Goiânia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo. CD-Rom.

PEREIRA, J. M. **Efeitos do inseticida thiamethoxam no desenvolvimento, na produtividade da cana-de-açúcar e no controle de *Mahanarva fimbriolata* (Stål) (Hemiptera: Cercopidae)**. 2008. 61f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Produção Vegetal). Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

PERIN, L.; SILVA, M.F.; FERREIRA, J.S.; CANUTO, E.L.; MEDEIROS, A.F.A.; OLIVARES, F.L.; REIS, V.M. Avaliação da capacidade de estabelecimento endofítico de estirpes de *Azospirillum* e *Herbaspirillum* em milho e arroz. **Agronomia**, Seropédica, v. 37, n. 2, p. 47 – 53, 2003.

ROMEIRO, R.S. **Métodos em bacteriologia de plantas**. Viçosa: Editora UFV, 2001. 297p.

RYU, C.M.; FARAG, M.A.; HU, C.H.; REDDY, M.S.; WEI, H.X.; PARÉ, P.W.; KLOPPER, J.W. Bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*. **Plant Biology**, v.100, n.8, p. 4927–4932, 2003.

SALA, V.M.R.; FREITAS, S.S.; DONZELI, V.P.; FREITAS, J.G.; GALLO, P.B.; SILVEIRA, A.P.D. Ocorrência e efeito de bactérias diazotróficas em genótipos de trigo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 29, p.345-352, 2005.

SARAVANAKUMAR, D.; VIJAYAKUMAR, C.; KUMAR, N. SAMIYAPPAN, R. PGPR induced defense responses in the tea plant against blister blight disease. **Crop Protection**, v.26, p.556-565, 2007.

SCANDÁLIOS, J.G. Genetic control of multiple molecular forms of enzymes in plants. **Biochemical Genetic**, New York, v.3, p.37-39,1969.

SILVA, C. P. L.; FAGAN, E. B.; ALVES, V. A. B.; CAIXETA, D. F.; SILVA, R. B.; GONÇALVES, L. A.; BORGES, A. F.; MARTINS, K. V. Avaliação do efeito de inseticidas em sementes de milho em diferentes profundidades de semeadura. **Revista da FZVA**, v.16, n.1, p. 14-21, 2009.

SUDHA, S.N., JAYAKUMAR, R., SEKAR, V. Introduction and expression of the cry1Ac gene of *Bacillus thuringiensis* in a cereal-associated bacterium, *Bacillus polymyxa*. **Current Microbiology**, New York, v. 38, p.163–167, 1999.

SUSLOW, T.V.; SCHROTH, M.N. Rhizobacteria of sugarbeets: effects of seed application and root colonization on yield. **Phytopathology**, v. 72, p.199–206, 1982.

TARUMOTO, M. B.; VAZQUEZ, G. H.; ARF, O.; SÁ, M. E. Qualidade fisiológica de sementes de milho tratadas com inseticidas e armazenadas em duas condições de ambiente. XXVIII Congresso Nacional de Milho e Sorgo, **Anais do...** 2010, Goiânia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo. CD-Rom.

TAVARES, S.; CASTRO, P.R.C.; RIBEIRO, R.V.; ARAMAKI, P.H. Avaliação dos efeitos fisiológicos de thiametoxan no tratamento de sementes de soja. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v.82, p.47-54, 2007.

TAVARES, S.; CASTRO, P.R.C. Avaliação dos efeitos fisiológicos de Cruiser 35FS após tratamento de sementes de soja. In: ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA "LUIZ DE QUEIROZ". **Relatório técnico ESALQ/Syngenta**, 2005. p.1-13.

TEIXEIRA, D.A.; ALFENAS, A.C.; MAFIA, R.G.; MAFFIA, L.A.; FERREIRA, E.M. Evidências de indução de resistência sistêmica à ferrugem do eucalipto mediada por rizobactérias promotoras do crescimento de plantas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, p.350-356, 2005.

TONIN, R. F. B. **Qualidade de sementes de milho híbrido tratadas com inseticidas, armazenadas em duas condições de ambiente**. 2008 51f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Sementes). Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

VIEIRA, A. R.; OLIVEIRA, J. A.; GUIMARÃES, R. M.; VON PINHO, E. V. R.; PEREIRA, C. E.; CLEMENTE, A. C. S. Marcador isoenzimático de dormência em sementes de arroz. **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, n.1, p.81-89, 2008.

VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M., **Teste de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994, 164p.

WANG, C.; RAMETTE, A.; PUNJASAMARNWONG, P.; ZALA, M.; NATSCH, A.; MOENNE-LOCCOZ, Y. & DE FAGO, G. Cosmopolitan distribution of *phlD*-

containing dicotyledonous crop-associated pseudomonads of worldwide origin. **FEMS Microbiology Ecology**, v.37, p.105–116, 2001.

YOSHIDA, S. **Fundamentals of rice crop science**. Los Baños: International Rice Research Institute, 1981. cap.1, p.1-63a.

YOSHIDA, S. **Fundamentals of rice crop science**. Los Baños: International Rice Research Institute, 1981. cap.2, p.65-110b.