



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO DE MESTRADO E DOUTORADO EM AGRONOMIA**

MARCELA CRISTIANE FERREIRA RÊGO

**MITIGAÇÃO DE DÉFICIT HÍDRICO E ALELOPATIA POR RIZOBACTÉRIAS EM
PLANTAS DE ARROZ DE TERRAS ALTAS**

**BELÉM
2017**

1
2
3
4 MARCELA CRISTIANE FERREIRA RÊGO
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15

16 MITIGAÇÃO DE DÉFICIT HÍDRICO E ALELOPATIA POR RIZOBACTÉRIAS EM
17 PLANTAS DE ARROZ DE TERRAS ALTAS
18
19
20
21
22
23
24

25 Tese apresentada à Universidade Federal Rural da
26 Amazônia, como parte das exigências do curso de
27 mestrado e doutorado em Agronomia, área de
28 concentração Agronomia, para obtenção do título
29 de Doutora.
30

Orientadora: Prof^{fa}. Dr^a. Gisele Barata da Silva
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45

BELÉM
2017

MITIGAÇÃO DE DÉFICIT HÍDRICO E ALELOPATIA POR RIZOBACTÉRIAS
EM PLANTAS DE ARROZ DE TERRAS ALTAS

Tese apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação de Mestrado e Doutorado em Agronomia, área de concentração em manejo e conservação de recursos ambientais, para obtenção do título de Doutora.

BANCA EXAMINADORA

Eng. Agrônoma, Prof.^a Gisele Barata da Silva
Presidente/Orientadora
Universidade Federal Rural da Amazônia

Dra. Fernanda Ilkiu Borges de Souza
1º Examinadora
Embrapa Amazônia Oriental

Professor Dra. Fabio Lopes Olivares
2º Examinador
Universidade Estadual do Norte Fluminense

Professor Dr. Rafael Gomes Viana
Universidade Federal Rural da Amazônia
3º Examinador

Dr. Walter Vellasco Duarte Silvestre
4º Examinador
Universidade Federal Rural da Amazônia

Professora Dr. Telma de Fatima Batista Vieira
Examinador (Suplente)
Universidade Federal Rural da Amazônia

96
97
98
99
100
101
102
103
104
105
106
107
108
109
110
111
112
113
114
115
116
117
118
119
120
121
122
123
124
125
126
127
128
129

DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho às minhas filhas Emily,
Milene e Elen e ao meu companheiro Emerson
Gomes que tenho como meus significados de
Vida.*

Agradecimento

Agradeço a minha mãe Regina (*in memoriam*), ao meu pai Carlos e meu irmão Marcio Monte, por fazerem parte da construção inicial de meus valores.

Ao meu companheiro Emerson, e minhas filhas: Emily, Milene e Elen, pelo apoio e compreensão durante toda a minha caminhada acadêmica.

A coordenação do programa de pós-graduação em agronomia, a secretaria Samanta e a todos os professores do programa que contribuíram no curso em especial a minha orientadora professora Dra. Gisele Barata, pelo tempo dedicado a orientação do trabalho e a minha formação profissional, me orientando e apoiando sempre. Auxiliando na busca do meu aperfeiçoamento profissional.

A todos os integrantes do Laboratório de Proteção de Plantas (UFRA) que me ajudaram e me apoiaram durante todo o período do curso de doutorado em agronomia em especial a Thayná, Amarildo, Gleiciane, Aline, Sueyla e Gledson.

A CAPES pela bolsa de pesquisa, e ao CNPq por financiar o projeto de pesquisa.

166 **Capítulo 2. Tolerância ao déficit hídrico de plantas de arroz de terras altas induzidas**
167 **por PGPR¹**

Figura 1. Crescimento da PGPR (*Pseudomonas fluorescens* - BRM- 45

3211 e *Burkholderia pyrrocinia* BRM-3213) em condições de estresses abiótico de salinidade e temperatura (A-B), pressão osmótica (C) e formação de biofilme (D). ANOVA, teste de Duncan ($p < 0.05$). Erro padrão ($p < 0.05$).

Figura 2. Biomassa da parte aérea (A - B), potencial hídrico foliar 46

antemanhã (C - D), água evapotranspirada (E - F), em plantas de arroz de terras altas: controle (não inoculada) (♦) e inoculadas com *Pseudomonas fluorescens* (BRM-3211) (▲) e *Burkholderia pyrrocinia* (BRM-3213) (■), em lâminas de água no solo: 100, 70, 50 e 30 % da capacidade de campo. Análise de regressão e ANOVA, teste de Duncan ($p < 0.05$). Erro padrão ($p < 0.05$).

Figura 3. Área foliar (A - B) e conteúdo relativo de clorofila (C - D), 47

em plantas de arroz de terras altas: controle (não inoculada) (♦) e inoculadas com *Pseudomonas fluorescens* (BRM-3211) (▲) e *Burkholderia pyrrocinia* (BRM-3213) (■), em lâminas de água no solo: 100, 70, 50 e 30 % da capacidade de campo. Análise de regressão e ANOVA, teste de Duncan ($p < 0.05$). Erro padrão ($p < 0.05$).

Figura 4. Comprimento da planta (A - B) e largura da folha (C - D), 48

em plantas de arroz de terras altas: controle (não inoculada) (♦) e inoculadas com *Pseudomonas fluorescens* (BRM-3211) (▲) e

Burkholderia pyrrocinia (BRM-3213) (■), em lâminas de água no solo: 100, 70, 50 e 30 % da capacidade de campo. Análise de regressão e ANOVA, teste de Duncan ($p < 0.05$). Erro padrão ($p < 0.05$).

Figura 5. Biomassa radicular (A – B) e comprimento da raiz (C – D), 49 em plantas de arroz de terras altas: controle (não inoculada) (◆) e inoculadas com *Pseudomonas fluorescens* (BRM-3211) (▲) e *Burkholderia pyrrocinia* (BRM-3213) (■), em lâminas de água no solo: 100, 70, 50 e 30 % da capacidade de campo. Análise de regressão e ANOVA, teste de Duncan ($p < 0.05$). Erro padrão ($p < 0.05$).

Figura 6. Folha e raízes de plantas de arroz, provenientes de 50 sementes inoculadas com PGPR e submetidas a déficit hídrico - Controle: 100 % (A1), 70 % (A2), 50 % (A3), 30 % (A4); *Burkholderia pyrrocinia* - BRM-3213: 100 % (B1), 70 % (B2), 50 % (B3), 30 % (B4); *Pseudomonas fluorescens* - BRM-3211: 100 % (C1), 70 % (C2), 50 % (C3), 30 % (C4); da capacidade de campo.

Capítulo 3. Mitigação do déficit hídrico por rizobactérias em plantas de arroz de terras altas

Figura 1. Germinação de sementes com água (A) e Polietilenoglicols 78 - 6000(PA) (-1,2 Mpa) (B), e germinação aos cinco dias após semeadura (C), comprimento da planta (D), biomassa da planta (E) e potencial hídrico antemanhã (Ψ_{am}), aos 28 dias após semeadura e provenientes de sementes inoculadas com BRM-32111, BRM-32113 e controle com água.

Figura 2. Anatomia de raiz of adventitious roots of rice, diâmetro da raiz (A), vascular cylinder (B), protoxylem poles (C), and metaxylem vessel elements (D), cortex (E), densidade estomática (F), comprimento do estômato (CP) (G), APE (μm^2) (H), at 28 days after germination, in soil no residue (NR) and soil with residue (WR) Rice plants. Treament control (not inoculated), and plants inoculated with *Burkholderia pyrocinia*-BRM-32113 and *Pseudomonas fluorescens* BRM-32111. Barras seguidas de mesma letra minúscula não diferem (Duncan, $p < 0,05$), $n=20$

Figure 3. Eletromicrografias de raízes adventícias de arroz obtida a partir de sementes tratadas com PGPRs, 28 dias após a semeadura. Plantas controle (Não inoculadas) e inoculadas com *Burkholderia pyrocinia*-BRM-3213 e *Pseudomonas fluorescens*-BRM-3211, submetidas a lâminas de água no solo de 100 % da capacidade de campo (1), e 50 % da capacidade de campo. Estômatos (seta branca), Cilindro vascular (vc), pólos protoxilema (px), e elementos de vasos de metaxilema (mx), cortex (c), e diâmetro da raiz.

Figure 4. Taxa de assimilação líquida de carbono (A) ($\text{mmol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ S}^{-1}$) (A), condutância estomática ao vapor de água (g_s) ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ S}^{-1}$) (B), carbono intercelular (C_i) ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ S}^{-1}$)(C), taxa de transpiração (E) ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ S}^{-1}$)(D), uso eficiente da água (WUE) (A / E)(E), eficiência de carboxilação da rubisco (A / C_i), at 28 days after germination, in soil no residue (NR) and soil with residue (WR) Rice plants. Treament control (not inoculated), and plants inoculated with *Burkholderia pyrocinia*-BRM-32113 and *Pseudomonas*

fluorescens BRM-32111. Barras seguidas de mesma letra minúscula não diferem (Duncan, $p < 0,05$), $n=20$

Figure 5. Chlorophyll a ((micro g / g de MF)(A), chlorophyll b (micro g / g de MF)(B), chlorophyll a + b (micro g / g de MF)(C), chlorophyll a / b (micro g / g de MF)(D), Prolina (E), MDA (F), at 28 days after germination, in soil no residue (NR) and soil with residue (WR) Rice plants. Treament control (not inoculated), and plants inoculated with *Burkholderia pyrrocinia*-BRM-32113 and *Pseudomonas fluorescens* BRM-32111. Barras seguidas de mesma letra minúscula não diferem (Duncan, $p < 0,05$), $n=20$.

170 Capítulo 4. Mitigação de compostos alelopáticos no arroz de terras altas por rizobactérias³

Figura 1. Parte aérea e raízes de plantulas e plantas de arroz, aos 7 e 108 21 dias após a germinação, in soil no residue (NR) and soil with residue (WR) Rice plants. Treament Control (not inoculated), and plants inoculated with *Burkholderia pyrrocinia* BRM-32113 and *Pseudomonas fluorescens* BRM-32111

Figure 2. Germination (A), seedling length (B), and seedling dry 109 weight (C), seven days after germination, and plant biomass (D), plant lenght (E), leaf area (F), chlorophyll (SPAD)(G), root biomass (H) root length (I), at 21 days after germination, in soil no residue (NR) and soil with residue (WR) Rice plants. Treament control (not inoculated), and plants inoculated with *Burkholderia pyrrocinia*-BRM-32113 and *Pseudomonas fluorescens* BRM-32111. Barras seguidas de mesma letra minúscula não diferem (Duncan, $p < 0,05$).

Para analise das plantulas $n=100$, e das plantas $n=20$

Figura 3. Treament control (not inoculated), and plants inoculated 110 with *Burkholderia pyrrocinia*-BRM-32113 and *Pseudomonas*

fluorescens BRM-32111. Comprimento do poro estomático (CPE) (A), área do poro estomático (APE) (B), densidade estomática (C), $DFT = (\text{massa fresca da folha} / (\text{unidade de área foliar} \times \text{espessura da folha}))$ (D), at 21 days after germination, in soil no residue (NR) and soil with residue (WR) Rice plants. Barras seguidas de mesma letra minúscula não diferem (Duncan, $p < 0,05$), $n=20$.

Figure 4. Chlorophyll a ((micro g / g de MF)(A), chlorophyll b 111 (micro g / g de MF)(B), chlorophyll a + b (micro g / g de MF)(C), chlorophyll a / b (micro g / g de MF)(D), at 21 days after germination, in soil no residue (NR) and soil with residue (WR) Rice plants. Treament control (not inoculated), and plants inoculated with *Burkholderia pyrrocinia*-BRM-32113 and *Pseudomonas fluorescens* BRM-32111. Barras seguidas de mesma letra minúscula não diferem (Duncan, $p < 0,05$), $n=20$.

Figure 5. Taxa de assimilação líquida de carbono (A) ($\text{mmol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ S}^{-1}$) (A),condutância estomática ao vapor de água (gs) ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ S}^{-1}$) (B),carbono intercelular (Ci) ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ S}^{-1}$)(C), taxa de transpiração (E) ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ S}^{-1}$)(D), uso eficiente da água (WUE) (A / E)(E), eficiência de carboxilação da rubisco (A / Ci), at 21 days after germination, in soil no residue (NR) and soil with residue (WR) Rice plants. Treament control (not inoculated), and plants inoculated with *Burkholderia pyrrocinia*-BRM-32113 and *Pseudomonas fluorescens* BRM-32111. Barras seguidas de mesma letra minúscula não diferem (Duncan, $p < 0,05$), $n=20$.

Figure 6. Electromicrographs da face abaxial de folhas of rice 113

obtained from seeds treated with PGPR, 21 days following sowing

em solo sem resíduo (NR) e com resíduo (WR). Control em solo NR

(A), e BRM-32111 WR(B), BRM-32113 WR(C), Control WR (D).

Estomatos (setas vermelhas).

171

172

173

174

175

176

177

178

179

180

181

182

183

184

185

186

187

188

189

190

191

192

193

194

195

196

197

Resumo

Em virtude do consumo mundial e elevado de grãos de arroz, e das perdas na produtividade devido a danos causados por estresses abióticos (déficit hídrico e alelopatia), sobre tudo na fase inicial de desenvolvimento da cultura, estudos que busquem a mitigação dos danos são necessários, neste sentido o objetivo foi estudar os possíveis efeitos benéficos na morfo-anatomia e fisiologia nas plantas submetidas aos estresses pelo uso de rizobactérias promotoras de crescimento (PGPR) (*Pseudomonas fluorescens* BRM-32111 e *Burkholderia pyrrocinia* BRM-32113) que foram previamente selecionadas e identificadas em estudos anteriores, foi identificar a potencial ação em plantas de arroz de terras altas. Nos estudos relacionados a déficit hídrico foi possível verificar. Nos estudos relacionados ao déficit hídrico as com BRM-32113 e BRM-32111, verificou-se que foram tolerantes aos estresses abióticos de salinidade, temperatura e seca e ambas isoladas e combinadas promoveram tolerância ao estresse a seca em plantas de arroz em lamina de água no solo de até 30% da capacidade de campo em biomassa, teor relativo de clorofila, número de folhas, biomassa e comprimento radicular. As sementes com PEG e inoculadas com BRM-32111 apresentaram maior a germinação, e as plantas tiveram maior Ψ_{am} , e plantas com BRM 32113 tiveram maior IVG. As plantas inoculadas com BRM 32111 e BRM-32113 tiveram maior diâmetro radicular, número de poros de protoxilema, espessura do córtex, redução de poro estomático e aumento na densidade de estômatos, e aumento em A, C_i / Ca , WUE e A / C_i , maior acúmulo de clorofila a e clorofila b, prolina e redução em MDA. E quando as BRM 32111 e BRM-32113 foram testadas em relação a indução de tolerância aos aleloquímicos ocorreu o aumento biomassa, área foliar, comprimento e biomassa radicular, clorofila a e clorofila a + b, A, A / C_i e WUE. Esses efeitos que os isolados de BRM 32111 e BRM 32113 induziram nas plantas em condições de estresses, mostram a eficiência no estímulo da tolerância de plantas de arroz de terras altas ao estresse com aleloquímicos e déficit hídrico.

Palavras-chave: Arroz, déficit hídrico, alelopatia, Rhizobacteria, *Pseudomonas fluorescens*, *Burkholderia pyrrocinia*.

232	Sumário	
233	Resumo	12
234	1. Contextualização	17
235	O cultivo de arroz de terras altas	18
236	Principais desafios para o cultivo de serais	18
237	Uso estratégico das PGPR.....	18
238	Interação inicial entre planta e PGPR	19
239	Efeito de PGPR nas plantas.....	20
240	Plantas sobre estresses bióticos com PGPR	20
241	Plantas sobre danos abióticos com PGPR.....	21
242	Referência	23
243	2. Tolerância ao déficit hídrico de plantas de arroz de terras altas induzidas por PGPR ¹	28
244	Introdução	30
245	Material e métodos.....	31
246	Tolerância de <i>Pseudomonas fluorescens</i> (BRM-3211) e <i>Burkholderia pyrrocinia</i> (BRM-	
247	3213) aos estresses abióticos múltiplos e formação de biofilme	31
248	Salinidade e Temperatura	31
249	Deficiência hídrica induzida por polietilenoglicol (PEG-6000 PA)	32
250	Formação de Biofilme	32
251	Tolerância à deficiência hídrica em plantas de arroz inoculadas com PGPR.....	33
252	Análise estatística	34

253	Resultados e Discussão	35
254	Tolerância de <i>Pseudomonas fluorescens</i> (BRM-3211) e <i>Burkholderia pyrrocinia</i> (BRM-	
255	3213) aos estresses abióticos múltiplos e formação de biofilme	35
256	Tolerância à deficiência hídrica em plantas de arroz inoculadas com PGPR.....	35
257	Referências	41
258	3. Mitigação do déficit hídrico por rizobactérias em plantas de arroz de terras altas ²	52
259	Resumo	53
260	Introdução	54
261	Material e métodos.....	55
262	Microrganismos, material vegetal, e condição de crescimento.....	55
263	Crescimento da planta e potencial hídrico.....	56
264	Anatomia de raízes e estômatos.....	57
265	Troca gasosa.....	57
266	Quantificação de pigmentos.....	57
267	Prolina	58
268	Determinação da concentração de aldeído malônico (MDA)	59
269	Análise estatística.....	59
270	Resultados	59
271	Germinação, Crescimento de plantas e potencial hídrico	59
272	Anatomia de estômatos e raízes.....	60
273	Trocas gasosas	60

274	Pigmentos fotossintetizantes e osmorreguladores.....	61
275	Discussão	61
276	Germinação, Crescimento de plantas e potencial hídrico	61
277	Anatomia de estômatos e raízes.....	62
278	Trocas gasosas	64
279	Pigmentos fotossintetizantes e osmorreguladores.....	66
280	Conclusão	68
281	Referência	69
282	4. Mitigação de compostos alelopáticos no arroz de terras altas por rizobactérias ³	84
283	Resumo	86
284	1. Introdução	88
285	2. Material e métodos.....	90
286	2.1. Material vegetal e microrganismos	90
287	2.2. Germinação de sementes e vigor de plântula	91
288	2.3. Promoção do crescimento.....	91
289	2.4. Estudo anatômico da folha	92
290	2.5. Quantificação de pigmentos	92
291	2.6. Troca gasosa.....	93
292	2.7. Análise estatística	93
293	3. Resultados	93

294	3.1. Germinação de sementes e vigor de plântula e promoção de crescimento em plantas.	93
295	3.2. Quantificação de pigmentos	94
296	3.3. Troca gasosa.....	94
297	4. Discussão.....	95
298	4.1. Germinação de sementes, vigor de plântula e promoção de crescimento em plantas...	95
299	4.2. Quantificação de pigmentos	97
300	4.3. Troca gasosa.....	98
301	5. Conclusão	100
302	Referência	101
303	4. Conclusões gerais.....	114
304		
305		
306		
307		
308		
309		
310		
311		
312		
313		
314		
315		
316		
317		

318

319

320

321

322

323

324

325

326

327

328

329

330

331

Capítulo 1

332

333

334

335

336

337

338

339

340

341

342

343

344

345

346

1. Contextualização

O cultivo de arroz de terras altas

Entre as culturas que sofrem maior pressão de produção, está a cultura do arroz, dos quais podem ser produzidos em dois sistemas diferentes, o sistema irrigado e de terras altas. O sistema de produção de arroz de terras altas tem menor produtividade, podem ter problemas no crescimento ocasionado pelo déficit hídrico com a ocorrência de veranicos, infestação de plantas daninhas, deficiência nutricional, e ocorrência de doenças como brusone, queima da bainha das folhas e escaldadura. No entanto, este sistema possui economia do uso da água o que é um fator importante diante do problema global de água na agricultura (Mishra 1999; Wade 2003).

O arroz (*Oryza sativa* L.) é uma cultura consumida por um terço da população mundial, sendo os maiores produtores no mundo China e Índia, o Brasil configura com nono maior produtor mundial (AMIS, 2016), e o estado com maior produção de arroz de terras altas no Brasil é o Mato Grosso, e de irrigado o Rio Grande do Sul (Asch 2005). Deste modo, este estudo é uma literatura sobre a viabilidade do uso de rizobactérias (BRM-32111 e BRM-32113) na promoção de crescimento, e mitigação de danos causados por agentes bióticos e abióticos em plantios de arroz de terras altas com uso de isolados de rizobactérias obtidas em plantios de arroz de mesmo sistema de plantio.

Principais desafios para o cultivo de cereais

O principal desafio nas ciências agrárias é desenvolver tecnologias para aumentar o rendimento das culturas, com segurança nutricional e sustentabilidade (Gepstein e Glick, 2013, Patel et al., 2015; Hamilton et al., 2016). Os problemas mais relevantes na agricultura são: o crescimento populacional, mudança drásticas no clima global ocasionadas por fenômenos como El Niño e consequentemente a ocorrência de veranicos, diminuição de terras agrícolas, urbanização e uso intensivo de agroquímicos que tem afetado a produção vegetal mundial, além de acúmulo de compostos tóxicos no solo para planta (Gepstein, 2013, Rashid et al., 2016).

Uso estratégico das PGPR

Uma estratégia para gerir a produtividade agrícola, crescimento econômico, proteger a biodiversidade por meio de diminuição do uso de fertilizantes químico, herbicidas e pesticidas para atender as crescentes exigências alimentares é o uso de populações de rizobactérias

380 promotoras do crescimento de plantas (PGPR) (Pereg e McMillan, 2015; Hamilton et al., 2016).
381 Este termo foi inicialmente definido por Kloepper e Schroth (1978).

382 A rizosfera é a zona do solo em torno de uma raiz de planta onde a biologia e a química
383 do solo são influenciadas pelas raízes (Lugtenberg e Kamilova 2009). Os exsudados radiculares
384 incluem aminoácidos, ácidos orgânicos, carboidratos, açúcares, mucilagem e proteínas. A
385 capacidade das rizobactérias de usar ácidos orgânicos como fontes de carbono está relacionado
386 a diversidade microbiológica em torno da zona radicular, que também é determinada pela
387 espécie de planta, pois as diferem na composição e as quantidades de exsudados da raiz, o que
388 provavelmente afeta as populações microbianas (Droge et al., 2012).

390 Interação inicial entre planta e PGPR

391 Estudos com *Pseudomonas fluorescens* foram capazes de indicar a sequência de eventos
392 que ocorrem na interação bactéria planta, o início do processo de interação das bactérias com a
393 superfície radicular ocorre através de compostos produzidos por estas, as bactérias liberam
394 material amorfo em volta das células bacterianas próximo a raiz, e por sua vez as raízes liberam
395 os exsudados radiculares o que auxilia na formação de um biofilme. Estudos relatam que
396 aproximadamente entre 5 a 21% de carbono interno (*C_i*) fixado nas folhas é transportado para
397 as raízes e liberados na rizosfera através da exsudação radicular (Marschner, 1995).

398 Os exsudados radiculares exercem uma atração das bactérias pelas raízes, após esta
399 etapa ocorre a fixação bacteriana na epiderme das raízes, e em seguida a penetração e
400 colonização ao longo da raiz (Mazzucchi, 1983). Estes processos culminam na formação do
401 *Quorum sense*, que são agregações de microcolônias bacterianas nas junções das paredes
402 adjacentes epidérmicas, deste modo essas áreas são sugeridas como locais preferenciais de
403 penetração e posterior replicação. O processo de penetração inicia com hidrolização de
404 pequenas áreas da parede celular por ação enzimática (celulases), que são produzidas pelas
405 bactérias para enfraquecer localmente ou afrouxar a parede celular da epiderme, facilitando
406 assim a disseminação das bactérias nos tecidos da raiz (Campbell et al., 1987).

407 As características que a bactéria necessita para ser consideradas como rizobactérias
408 promotoras do crescimento das plantas (PGPR) são ser eficientes para colonizar a superfície da
409 raiz, deve sobreviver, multiplicar e competir com outros microrganismos da microbiota, pelo
410 menos durante o tempo necessário para expressar a atividade de promoção de crescimento e/ou
411 proteção das plantas (Kloepper, 1994).

Efeito de PGPR nas plantas

As PGPR estimulam o crescimento das plantas por de diversos mecanismos, que incluem a melhoria da transformação e aquisição de nitrogênio, auxilia na mineralização de fósforo, estimula a produção de fitohormônios, e alguns gêneros podem ter sinergismo com outras interações bactérias-plantas, e mitigação de danos ocasionados por estresses em plantas (Rashid et al., 2016; Singh e Kapoor, 1999; Vimal et al., 2016; Bhattacharyya e Jha, 2012; Bell et al., 2015; Kurepin et al., 2015) (Quadro 1), essa promoção de crescimento pode ocorrer de forma direta (induzindo alterações fisiológicas, bioquímicas, molecular e morfo-anatomica) ou indireta (através de indução de resistência a estresse) deste modo os promotores de crescimento também podem proteger plantas através do controle de fitopatógenos no solo e nas sementes, indução de resistência sistêmicas e produção de compostos voláteis que podem inibir o crescimento de micróbios deletérios nos tecidos vegetais (Bhattacharyya et al., 2015; Jain et al., 2013; Bach et al., 2016). Alguns destes efeitos foram identificados nos estudos de plantas de arroz com *Pseudomonas fluorescens* BRM-32111 e *Burkholderia pyrrocinia* BRM-32113 (Filippi et al., 2011; Rêgo et al., 2014; Nascente et al., 2016; Bueno et al., 2017).

Quadro 1. Associações de planta-rizobacterias (*Pseudomonas fluorescens* BRM-32111 e *Burkholderia pyrrocinia* BRM-32113) em estudos de promoção de crescimento em plantas e indução de resistência a patógeno de plantas arroz de terras altas nos estados do Pará e Goiás.

Rizobactérias	Traços de indutores de crescimento e resistências	Referências
<i>P. fluorescens</i> <i>B. pyrrocinia</i>	Produção de sideróforo	(Filippi et al., 2011)
	Supressão da brusone (<i>Magnaporthe oryzae</i>)	
	Atividade peroxidase	
	Atividade chitinase	
	Atividade b-1,3-glucanase	
	Incremento de comprimento e biomassa nas plantas	(Rêgo et al., 2014)
<i>P. fluorescens</i>	Compostos fenólicos totais	
	Flavonoides	
	Monômeros de lignina	(Nascente et al., 2016)
<i>P. fluorescens</i>	Aumento na atividade celulase	
	Aumentos nas concentrações de N, K, Ca	(Bueno et al., 2017)
	Supressão da escaldadura (<i>Monographella albescentis</i>)	
	Aumento na concentração de Silício nas folhas	
<i>P. fluorescens</i>	Aumento nas concentrações de Fe e Mn	(Nascente et al., 2016)
	Solubilizador de fosfato	
<i>B. pyrrocinia</i>	Ácido indolacético (AIA)	(Nascente et al., 2016)

Plantas sobre estresses bióticos com PGPR

Em geral a competição por nutrientes, exclusão de nichos, resistência e produção de metabólitos antifúngicos são modos de atividade de controle biológico induzidos pelas PGPR. Muitas rizobactérias têm sido relatadas como produtoras de metabólitos antifúngicos como, HCN, fenazinas, pirrolnitrina, 2,4-diacetilfloroglucinol, pioluteorina, viscosinamida e tensin (Bhattacharyya e Jha, 2012) (Lugtenberg e Kamilova, 2009). (Glick, 2012). Essa interação de alguns rizobactérias com as raízes das plantas pode resultar em resistência contra algumas bactérias patogênicas, fungos e vírus. Este Fenômeno é chamado de resistência sistêmica induzida (ISR) (Lugtenberg e Kamilova, 2009).

Dentre as enfermidades que mais acometem a cultura do arroz no Brasil temos a brusone e a escaudadura. A brusone é causada por *Magnaporthe oryzae* B.Couch [*Pyricularia Grisea* (Cooke) Sacc.] sendo a doença mais destrutiva em todo o mundo, e já causou perdas de rendimento de 100% em surtos no Brasil, na cultivar de arroz de terras altas, Colosso (Prabhu et al., 2009; Filippi et al., 2011), e a escaudadura nas folhas é causada pelo fungo necrotrófico *Monographella Albescens* (= *Rhynchosporium oryzae*) e ocorre em várias partes do mundo onde o arroz é cultivado, no Brasil a doença é mais severa no norte do país (Kimati et al., 2011; Bueno et al., 2017). O uso de PGPR induz a supressão de doenças por diversos mecanismos (Tabela 2).

Plantas sobre danos abióticos com PGPR

As rizobactérias podem contribuir para estabilidade ambiental pela produção de exopolímeros (EPS), na agregação do solo que aderem às raízes sob diferentes tensões ambientais (Nunkaew et al., 2015). O EPS microbiano liga as partículas do solo auxiliando na manutenção de micro e macroagregados juntamente com hifas fúngicas e assim estabiliza os solos resultando em um aumento da disponibilidade de água e fertilizantes (Upadhyay et al., 2011, Sandhya et al., 2009), outro problema comum no solo, é o acúmulo de compostos que causam menor crescimento e perda de produtividade, como herbicidas, pesticidas e compostos orgânicos, aleloquímicos, presentes no solo devido a intensas atividades agrícolas. Um passo chave durante a remediação com rizobactérias consiste na seleção de rizobactérias degradantes de poluentes que vivem na rizosfera e que utilizam os exsudatos radiculares como fonte de energia para manutenção da atividade (Kuiper et al., 2001). Estas bactérias, além de degradar os compostos poluentes, frequentemente auxiliam diretamente na remediação produzindo hormônios, fixando nitrogênio atmosférico, solubilizando fosfato ou secretando sideróforos ou mesmo na modulação de genes (Denton 2007, Rahman et al., 2002). Deste modo muitos estudos

468 são necessários para elucidar a habilidade da *Pseudomonas fluorescens* BRM-32111 e
469 *Burkholderia pyrrocinia* BRM-32113 em mitigar estes danos abióticos.

470

471

472

473

474

475

476

477

478

479

480

481

482

483

484

485

486

487

488

489

490

491

492

Referência

- Asch, F. 2005. Drought-induced changes in rooting patterns and assimilate partitioning between root and shoot in upland rice. *Field Crops Research*, Amsterdam 93: 223-236.
- Bach E, Seger G D S, Fernandes G C, Lisboa B B, Passaglia L M P. 2016. Evaluation of biological control and rhizosphere competence of plant growth promoting bacteria. *Appl Soil Ecol.* 99: 141-149
- Bell C W, Asao S, Calderon F, Wolk B, Wallenstein M D. 2015. Plant nitrogen uptake drives rhizosphere bacterial community assembly during plant growth. *Soil Biol Biochem.* 85: 170-182.
- Bhattacharyya PN, Jha DK (2012) Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World J Microbiol Biotechnol* 28:1327-1350
- CAMPBELL J. N.; CASS, D. D.; PETEYA, D. J. Colonization and penetration of intact canola seedling roots by an opportunistic fluorescent *Pseudomonas* sp. and the response of host tissue. *Phytopathology.* v. 77, p.1166-1173. 1987.
- CAMPBELL J. N.; CASS, D. D.; PETEYA, D. J. Colonization and penetration of intact canola seedling roots by an opportunistic fluorescent *Pseudomonas* sp. and the response of host tissue. *Phytopathology.* v. 77, p.1166-1173. 1987.
- Denton B. Advances in phytoremediation of heavy metals using plant growth promoting bacteria and fungi. *MMG 445 Basic Biotechnol* 2007;3:1-5.
- Dilfuza E, S Shrivastava, A Varma *Editors*. Plant-GrowthPromoting Rhizobacteria (PGPR) and Medicinal Plants. *Soil Biology*. Springer. Vol 42.
- Dourado, M. N., Martins, P. F., Quecine, M. C., Piotto, F.A., Suoza, L.A., Franco M.R., Tezotto, T., Azevedo, R. A. 2013 *Burkholderia* sp. SCMS54 reduces cádmium toxicity and promotes growth in tomato. *Ann. Appl. Biol.* 163, 494-507.
- Drogue B, Doré H, Borland S, Wisniewski-Dyé F, Prigent-Combaret C. Which specificity in cooperation between phytostimulating rhizobacteria and plants? *Res Microbiol* 2012;163:500-520
- Duan, Z.-Q., Bai, L., Zhao, Z.G., Zhang, G.P., Cheng, F.M., Jiang, L.-X., Chen, K.-M., 2009. Drought-stimulated activity of plasma membrane nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase and its catalytic properties in rice. *J. Integr. Plant Biol.* 51, 1104e1115.

- 524 Filippi, M.C.C.; Silva, G.B.; Silva-Lobo, V.L.; Côrtes, M.V.C.B.; Moraes, A.J.G.; Prabhu, A.S.
525 2011. Leaf blast (*Magnaportheoryzae*) suppression and growth promotion by rhizobacteria on
526 aerobic rice in Brazil. *Biological Control* 58: 160–166.
- 527 Gallego, S.M., Pena, L.B., Barcia, R.A., Azpilicueta, C.E., Iannone, M.F., Rosales, E.P.,
528 Zawoznik, M.S., Groppa, M.D., Benavides, M.P., 2012. Unraveling cadmium toxicity and
529 tolerance in plants: insight into regulatory mechanism. *Environ. Exp. Bot.* 83, 33e46.
- 530 Gepstein S, Glick B R. 2013. Strategies to ameliorate abiotic stress-induced plant senescence.
531 *Plant Mol Biol.* 82: 623– 633
- 532 Global rice market situation and outlook for 2016/17 - FAO, Rome. <http://www.amis-AMIS>,
533 2016.
- 534 Hamilton C E, Bever J D, Labb'e J, Yang X H, Yin H F. 2016. Mitigating climate change
535 through managing constructed microbial communities in agriculture. *Agr Ecosyst Environ.*
536 216: 304–308.
- 537 INGRAHAM. J.L., INGRAHAM C.A. 2010. Introdução a microbiologia: Uma abordagem
538 baseada em estudos de caso, 3ª edição Norte Americana, editora CENGAGE Learning
- 539 Jain A, Singh A, Singh S, Singh H B. 2013. Microbial consortium-induced changes in oxidative
540 stress markers in pea plants challenged with *Sclerotinia sclerotiorum*. *J Plant Growth Regul.*
541 32: 388–398.
- 542 Joyce, D.C., Aspinall, D., Edwards, G.R., 1983. Water deficit and the growth and anatomy of
543 the radish fleshy axis. *New Phytol.* 93, 439–446.
- 544 Kar, R. K. 2011. Plant responses to water stress. Role of reactive oxygen species. *Plant Signal.*
545 *Behav.* 6, 1741-1745.
- 546 Kimati H, Amorim L, Bergamin Filho A, Camargo LEA, Rezende JAM, 2011. Manual de
547 Fitopatologia: Doenças de Plantas Cultivadas. 5th edn. São Paulo, Brazil: Agronomica Ceres.
- 548 Kloepper JW, Schroth MN (1978) Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. In:
549 Proceedings of the 4th international conference on plant pathogenic bacteria. Gilbert-Clarey,
550 Tours, pp 879–882.
- 551 Kloepper, J.W., 1994. Plant growth-promoting rhizobacteria (other systems). In: Okon, Y.
552 (Ed.), *Azospirillum/Plant Associations*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp. 111–118.

- 553 Kuiper I, Bloemberg GV, Lugtenberg BJJ. Selection of a plant–bacterium pair as a novel tool
554 for rhizostimulation of polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacteria. *Mol Plant*
555 *Microbe Interact* 2001;14:1197–205.
- 556 Kurepin L V, Park M J, Lazarovits G, Bernards M A. 2015. *Burkholderia phytofirmans*-induced
557 shoot and root growth promotion is associated with endogenous changes in plant growth
558 hormone levels. *Plant Growth Regul.* 75: 199–207.
- 559 Lugtenberg B, Kamilova F. Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annu Rev Microbiol*
560 2009;63:541–56.
- 561 Marschner, H., 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press, London.
- 562 Martins, M.B.G., Zieri, R., 2003. Leaf anatomy of rubber-tree clones. *Sci. Agric.* 60, 709–713.
- 563 MAZZUCCHI, U. Recognition of bacteria by plants. In: Callow JA
564 MAZZUCCHI, U. Recognition of bacteria by plants. In: Callow JA (ed) *Biochemical plant*
565 *pathology*. John Wiley & Sons Ltd, New York, pp 299–322. 1983
- 566 Miller, G., Suzuki, N., Ciftci-Yilmaz, S., Mittler, R., 2010. Reactive oxygen species
567 homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. *Plant Cell Environ.* 33,
568 453e467
- 569 Mishra, G.N. (1999). Strategic approaches for boosting upland rice yield. *Indian Farming*,
570 48(2): 9
- 571 Nunkaew T, Kantachote D, Nitoda T, Kanzaki H, Ritchie R J. 2015. Characterization of
572 exopolymeric substances from selected *Rhodopseudomonas palustris* strains and their ability
573 to adsorb sodium ions. *Carbohydr Polym.* 115: 334–341.
- 574 Patel J S, Singh A, Singh H B, Sarma B K. 2015. Plant genotype, microbial recruitment and
575 nutritional security. *Front Plant Sci.* 6: 1–3
- 576 Pereg L, McMillan M. 2015. Scoping the potential uses of beneficial microorganisms for
577 increasing productivity in cotton cropping systems. *Soil Biol Biochem.* 80: 349–358
- 578 Prabhu, A.S., Filippi, M.C., Silva, G.B., Lobo, V.L.S., Moraes, O.P., 2009. An unprecedented
579 outbreak of rice blast on a newly released cultivar BRS Colosso in Brazil. In: Wang, G.L.,
580 Valente, B. (Eds.), *Advances in Genetics, Genomics and Control of Rice Blast Disease*.
581 Springer, New York, pp. 257 – 266.
- 582 Rahman KS, Rahman T, Lakshmanaperumalsamy P, Banat IM. Occurrence of crude oil
583 degrading bacteria in gasoline and diesel station soils. *J Basic Microbiol* 2002;42:284–91.

584 Rashid M A, Mujawar L H, Shahzad T, Almeelbi T, Ismail I M I, Oves M. 2016. Bacteria and
585 fungi can contribute to nutrients bioavailability and aggregate formation in degraded soils.
586 *Microbiol Res.* 183: 26–41.

587 Rêgo, M.C.F.; Ilkiu-Borges, F., Filippi, M.C.C.; Gonçalves, L.A; SILVA, G.B. 2014.
588 Morphoanatomical and Biochemical Changes in the Roots of Rice Plants Induced by Plant
589 Growth-Promoting Microorganisms. *Journal of Botany* 2014: 1-10.

590 Reinhardt, D. H. & Rost, T. L. "Salinity accelerates endodermal development and induces an
591 exodermis in cotton seedling roots," *Environmental and Experimental Botany*, vol. 35, no. 4,
592 pp. 563–574, 1995.

593 Sandhya V, Ali S K Z, Grover M, Reddy G, Venkateswarlu B. 2009. Alleviation of drought
594 stress effects in sunflower seedlings by the exopolysaccharides producing *Pseudomonas putida*
595 strain GAP-P45. *Biol Fert Soils.* 46: 17–26.

596 Singh S, Kapoor KK. Inoculation with phosphate-solubilizing microorganisms and a vesicular-
597 arbuscular mycorrhizal fungus improves dry matter yield and nutrient uptake by wheat grown
598 in a sandy soil. *Biol Fertil Soils* 1999;28:139–44.

599 Upadhyay S K, Singh J S, Singh D P. 2011. Exopolysaccharideproducing plant growth-
600 promoting rhizobacteria under salinity condition. *Pedosphere.* 21: 214–222.

601 Vimal S R, Singh J S, Arora N K, Singh D P. 2016. PGPR—an effective bioagent in stress
602 agriculture management. *In* Sarma B K, Jain A (eds.) *Microbial Empowerment in Agriculture:*
603 *A Key to Sustainability and Crop Productivity.* Biotech Books, New Delhi. pp. 81–108.

604 Wade, L.J. (2003). *Introduction to the Diverse Ecosystems of Rice cultivation.* IRRI, Los
605 Banos, Phillippines.

606

607

608

609

610

611

612

613

614

615

616
617
618
619
620
621
622
623
624
625
626
627
628
629
630
631
632
633
634
635
636
637
638
639
640
641
642
643
644
645
646
647

Capítulo 2

648 2. Tolerância ao déficit hídrico de plantas de arroz de terras altas induzidas por PGPR ¹
649

650 Marcela Cristiane Ferreira Rêgo¹, Gledson Luiz Salgado de Castro¹, Marta Cristina Corsi de
651 Filippi², Anna Cristina Lanna², Telma Fátima Vieira Batista¹, Gisele Barata da Silva^{1*}.

652
653 ¹ Plant Protection Laboratory, Institute of Agrarian Sciences, Federal Rural University of
654 Amazon, CEP.066.077-830.Belém, Pará, Brazil.

655 ² Phytopathology Laboratory, Brazilian Enterprise for Agricultural Research - Rice and
656 Beans, CEP 75375-000, Goiânia, Goiás, Brazil.

657 * Corresponding author: <gisele.barata@ufra.edu.br>

658

659

660

661

662

663

664

665

666

667

668

669

670

671

672 ¹ Este capítulo segue as normas de apresentação do Checklist. da Journal of Agricultural Science

673 and Technology

675

676 O consumo elevado de água pela agricultura é um problema global, e os danos ao
677 crescimento causado pelos veranicos agravam este problema, o arroz (*Oryza sativa* L.)
678 cultivado em sistema irrigado e apresenta uma alta demanda hídrica, o objetivo foi determinar
679 a Lamina de água no solo (LAS) crítica, através das alterações morfo-anatômicas induzidas por
680 PGPR (*Burkholderia pyrrrocinia* - BRM-3213 e *Pseudomonas fluorescens* BRM-3211), em
681 plantas de arroz sob diferente LAS. As PGPR foram submetidas aos estresses abióticos de:
682 temperatura (30, 35 e 40 °C), salinidade (0.5 % e 7.5%) e déficit hídrico (0, -0.2, -0.4, -0.6, -
683 0.8, -1.0 e -1.2 Mpa) com 10 repetições e avaliado o crescimento. E as plantas de arroz
684 inoculadas com: BRM-3211, BRM-3213 e controle, submetidas ao LAS de: 100, 70, 50 e 30
685 % da capacidade de campo, com três vasos por tratamento e cinco plantas por vaso. Foram
686 avaliados: água evapotranspirada e Potencial hídrico (ψ_{am}), biomassa e comprimento da planta,
687 área foliar, teor relativo de clorofila (SPAD), biomassa e comprimento da raiz. As PGPR foram
688 tolerantes aos estresses abióticos de: salinidade, temperatura e seca, as plantas atingiram a LAS
689 crítica de até 63 % da capacidade de campo, as plantas com BRM-3211 tiveram os efeitos do
690 déficit hídrico mitigados com maior biomassa, teor relativo de clorofila, biomassa e
691 comprimento da raiz quando comparados a plantas controle em cada LAS. As PGPR induzem
692 tolerância a déficit hídrico nas plantas.

693

694 **Palavras-chave:** Planta de arroz, *Burkholderia pyrrrocinia*, *Pseudomonas fluorescens*, déficit
695 hídrico.

696

697

698

700 O arroz é o segundo cereal mais consumido no mundo, com produção mundial de 488,4
701 toneladas na safra de 2012, os países asiáticos são os maiores produtores de arroz do mundo,
702 seguido pela América Latina, particularmente o Brasil, onde o arroz é um item da alimentação
703 básica (Souza, et al. 2015). No mundo, o arroz é uma cultura semeada em sua maioria em áreas
704 inundadas, e no Brasil, 31 % da área cultivada com arroz é em terras altas, que requer um menor
705 uso de água do semeio a colheita. Entretanto, os veranicos que podem ocorrer durante o
706 desenvolvimento da cultura limitam a produtividade das cultivares que são sensíveis a
707 deficiência hídrica.

708 Para o arroz de terras altas, a seca é o estresse abiótico mais grave (Araus et al., 2002),
709 as perdas podem atingir 30 % do rendimento. Em déficit hídrico, as plantas de arroz possuem
710 enraizamento superficial, redução do crescimento devido a diminuição da: área foliar, altura da
711 planta, biomassa, atraso no desenvolvimento reprodutivo, produtividade e na incidência de
712 brusone (Bonhomme et al., 2012; Qian et al., 2004, Asch et al., 2005).

713 As rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (PGPR) são benéficas e
714 possuem a capacidade de promover o crescimento de plantas por atuarem como bioestimulantes
715 ou indutores de resistência à doenças (Niranjan et al., 2003). Evidenciado em pesquisas com
716 isolados de *Paenibacillus polymyxa* e *Pseudomonas thivervalensis* em *Arabidopsis*,
717 *Pseudomonas chlororaphis* e *Bacillus subtilis* em *Cucumber*, e *Pseudomonas fluorescens* em
718 *M. trunculata* (Van Lonn 2007).

719 As PGPR (*Burkholderia pyrrocinia* (BRM-3213) e *Pseudomonas fluorescens* (BRM-
720 3211)) induzem resistência sistêmica à brusone (*Magnaporthe oryzae*) (Filippi et al., 2011), e
721 promovem alterações anatômicas como aumento do diâmetro da raiz e do cilindro vascular,
722 número de feixes vasculares, espessura da exoderma, endoderma, córtex e área de lacunas de
723 aerênquima (Rêgo et al., 2014). Deste modo a hipótese neste estudo é que as alterações no

724 sistema radicular, induzidas por PGPR (*B. pyrrocinia* (BRM-3213) e *P. fluorescens* (BRM-
725 3211)), favorecem a tolerância das plantas de arroz à seca. O objetivo foi determinar a Lâmina
726 de Água no Solo (LAS) crítica, através das alterações morfo-anatômicas induzidas por PGPR
727 (BRM-3211 e BRM-3213) em planta de arroz sob diferente LAS.

728

729 Material e métodos

730 Tolerância de *Pseudomonas fluorescens* (BRM-3211) e *Burkholderia pyrrocinia* (BRM-3213) 731 aos estresses abióticos múltiplos e formação de biofilme

732 Foram utilizados dois isolados de PGPR: *P. fluorescens* (BRM-3211) e *B. pyrrocinia*
733 (BRM-3213), previamente selecionadas como promotoras do crescimento em arroz (Filippi et
734 al., 2011; Rêgo et al., 2014). As PGPR foram cultivadas em meio TSB (Peptona de caseína [1.7
735 %], peptona de soja [0,3 %], glicose [0,25 %], cloreto de sódio [0,5 %], fosfato dipotássico
736 [0,25 %], Água destilada (100 mL), e incubados a 28 °C, sob agitação em 115 rpm por 6 h. Em
737 seguida, as suspensões de bactérias foram ajustadas a 2×10^5 UFC.mL⁻¹ e utilizadas como
738 inóculo inicial (Kumar et al., 2014).

740

741 Salinidade e Temperatura

742 Foram conduzidos dois ensaios, ambos em delineamento inteiramente casualizado, com
743 duas PGPR, *P. fluorescens* (BRM-3211) e *B. pyrrocinia* (BRM-3213), três temperaturas (30°,
744 35° e 40 °C) e duas concentrações de cloreto de sódio (NaCl) (0.5 e 7.5 %), em meio de cultura
745 TBS. Cada ensaio foi composto por 10 repetições, com um tubo por repetição. Nos tubos de
746 ensaio contendo 10 mL de TBS ou TBS + solução 7% de NaCl foi adicionada suspensão
747 ajustada ($\bar{A} = 600 \text{ nm} = 0.01$) de cada PGPR (1 mL), incubados por 48 hs em agitador a 115
748 rpm, nas temperaturas de 30, 35 e 40 °C. Em seguida foi avaliada a densidade óptica utilizando
749 espectrofotômetro ($\bar{A} = 600 \text{ nm} = 0.01$). As PGPR que foram consideradas tolerantes à

750 salinidade e à temperatura apresentaram densidade óptica (DO) igual ou maior 0,1 (Kumar et
751 al., 2014).

752

753 Deficiência hídrica induzida por polietilenoglicol (PEG-6000 PA)

754 Foram conduzidos dois ensaios, ambos em delineamento inteiramente casualizado, com
755 duas PGPR, *P. fluorescens* (BRM-3211) e *B. pyrrocinia* (BRM-3213), cultivadas em meio
756 líquido TBS com PEG – 6000, em sete concentrações 0, 12, 18, 22, 26, 30 e 33 %, as quais
757 equivalem a níveis de potencial osmótico (ψ_s) de 0, -0.2, -0.4, -0.6, -0.8, -1.0 e -1.2 MPa,
758 respectivamente (Michel & Kaufmann, 1972). Cada ensaio foi composto por 10 repetições,
759 com um tubo por repetição.

760 Nos tubos de ensaio contendo 10 mL de TBS e TBS com doses de 12, 18, 22, 26, 30 e
761 33 % de solução de PEG-6000 foi adicionada suspensão ajustada ($\lambda = 600 \text{ nm} = 0.01$) de cada
762 PGPR (1 mL), incubados por 48 hs em agitador a 115 rpm, a 30 °C. Em seguida foi avaliada a
763 densidade óptica utilizando espectrofotômetro ($\lambda = 600 \text{ nm} = 0.01$). As PGPR que foram
764 consideradas tolerantes à deficiência hídrica induzida por PEG-6000 apresentaram densidade
765 óptica (DO) igual ou maior 0,1 (Kumar et al., 2014).

766

767 Formação de Biofilme

768 A caracterização das PGPR: *P. fluorescens* (BRM-3211) e *B. pyrrocinia* (BRM-3213),
769 de produção de biofilme foi feita em ágar Congo Red (CRA), após o cultivo das duas PGPR,
770 as placas foram incubadas por 48 h a 30 °C. A avaliação feita pela coloração das colônias, sendo
771 consideradas positivas as com cor preta e quase pretas (Mathur, 2006).

772

Tolerância à deficiência hídrica em plantas de arroz inoculadas com PGPR

Foram conduzidos dois ensaios em casa de vegetação, ambos em delineamento inteiramente casualizado, com duas PGPR, e sementes da cultivar de arroz de terras altas BRS Primavera. Sementes foram inoculadas com *P. fluorescens* (BRM-3211) e *B. pyrrocinia* (BRM-3213) [DO = 0,1], e como controle foram usadas sementes não inoculadas, de acordo com metodologia descrita por (Filippi et al., 2011). Foram semeadas 10 sementes por vaso, contendo 0.700 g de Latossolo amarelo distrófico, adubados com 1.17 g de N-P-K (Nitrogênio, Fósforo e Potássio), 0.35 g de Ureia e 0.7 g de FTE (micronutrientes). No estágio fenológico V3, as plantas foram submetidas a quatro lâminas de água no solo (LAS): 100 % da capacidade de campo (CC) (tratamento referência), 70 % da CC, 50 % da CC e 30 % da CC e mantidas até o estágio vegetativo V6 (Counce et al., 2000). Cada tratamento foi composto por quatro repetições, sendo um vaso por repetição contendo cinco plantas.

A quantidade de água no vaso, para cada regime hídrico foi determinada através da capacidade de campo (CC) do solo, definida como o máximo conteúdo de água retido pelo solo (Silveira et al., 2015; Mello et al., 2002). Esse processo foi estabelecido e registrando a Massa máxima do Vaso (MVCC) (solo + água). Com base em CC foi possível determinado a massa máxima de água retida pelo solo foi considerado Massa de Água de Referência (MAR), determinada pela diferença entre a Massa do Vaso na CC (MVCC) e a Massa do Vaso com Solo Seco (MVSS) ($MAR = MVCC - MVSS$) (Campos et al., 2004).

Após o início da restrição hídrica, os vasos foram pesados diariamente, se obtendo a Massa Diária do Vaso (MDV) e, por consequência, a Massa Diária de Água (MDA). Esta foi calculada pela diferença entre a MDV e MVSS ($MDA = MDV - MVSS$) (Campos et al., 2004). Os regimes hídricos pré-definidos, foram expressos como índice de deficiência hídrica (IDH) e transformados em Lâmina de água no solo (%) para a manutenção do déficit hídrico e análise dos dados, a massa diária de água foi determinado por meio da razão entre a MDA e MAR

(IDH = MDA / MAR). Para os diferentes tratamentos, a Massa de Água equivalente a cada Restrição Hídrica imposta (MA_{RH}) foi previamente calculada se multiplicando a MAR pelo valor da Restrição Hídrica pré-estabelecida (RH) ($MARH = MAR \times RH$). A soma da MA_{RH} e da MVSS ($MVRH = MARH + MVSS$) foi feita para determinar a Massa do Vaso equivalente a cada Restrição Hídrica (MV_{RH}). Assim, no momento em que os vasos de um determinado tratamento atingiam a MVRH, a mesma era mantida constante por meio da reposição diária de Água Evapotranspirada (AE), calculada pela diferença de Massa dos Vasos entre os dias i e $i-1$ ($AE = MV_{i-1} - MV_i$) este protocolo foi adaptado de (Silveira et al., 2015; Deus et al., 2015). O déficit hídrico iniciou ao 11º dia e foi mantido até o 28º dia, após semeadura.

O déficit hídrico iniciou ao 11º dia após semeadura (DAS) e mantido até o 28º DAS. Em seguida, foram avaliados o potencial hídrico foliar antemanhã (Ψ_{am}), em uma planta por vaso; conteúdo relativo de clorofila (SPAD), área foliar (cm^2), largura da folha (cm), comprimento da parte aérea e da raiz (cm) e biomassa da matéria seca da parte aérea e da raiz (g), nas demais plantas.

Análise estatística

Os ensaios de tolerância das PGPR aos estresses abióticos (salinidade, temperatura e deficiência hídrica) foram repetidos duas vezes, os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de média de Duncan ($p < 0.05$).

Os ensaios de tolerância das plantas de arroz de terras altas à deficiência hídrica, após inoculação das sementes com *P. fluorescens* (BRM-3211) e *B. pyrrocinia* (BRM-3213), em casa de vegetação, foram repetidos cinco vezes e os dados de potencial hídrico foliar antemanhã e taxa evapotranspiratória foram avaliados por meio da análise de regressão, para escolha do modelo mais adequado. Para comparação das PGPR em cada LAS, os dados foram submetidos

a análise de variância (ANOVA) e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de média Duncan ($p < 0.05$) e erro padrão ($p < 0.05$). E estimada a LAS necessário para reduzir o crescimento da biomassa seca da planta em 50% (LC 50%), adaptado de (Castro, et al., 2016). E avaliado os valores críticos para os demais parâmetros de crescimento da planta.

Resultados e Discussão

Tolerância de *Pseudomonas fluorescens* (BRM-3211) e *Burkholderia pyrrocinia* (BRM-3213) aos estresses abióticos múltiplos e formação de biofilme

As PGPR *P. fluorescens* (BRM-3211) e *B. pyrrocinia* (BRM-3213) apresentaram crescimento, maior a 30 °C e na ausência de NaCl. Entretanto, na presença do estresse de alta temperatura (40 °C) e de salinidade (presença de NaCl [7.5 %] no meio de cultura), somente a *P. fluorescens* foi considerada tolerante, uma vez que apresentou densidade óptica (DO) maior que 0,1 (Figuras 1A e 1B). Em relação a tolerância das PGPR *P. fluorescens* e *B. pyrrocinia*, crescidas em meio contendo baixa disponibilidade hídrica (presença de PEG-6000), somente a *P. fluorescens* foi tolerante à deficiência hídrica, uma vez que essa rizobactéria apresentou crescimento adequado em meio contendo até 30 % de PEG-6000 (ψ s igual a -1.0 MPa) (Figura 1C). A *P. fluorescens* promoveu a a formação de biofilme (Figura 1D). No entanto, as duas PGPR aos 30°C, com 0.5 % de NaCl, e 0 % de PEG, diferiram em DO quando submetida as temperaturas de 35° e 40°C, e a partir de 12 % de PEG (Figura 1 A-B-C).

Tolerância à deficiência hídrica em plantas de arroz inoculadas com PGPR

Nas plantas controle (sementes de arroz de terras altas, cultivar BRS Primavera, não microbiolizadas) exibiram curvas lineares para os parâmetros potencial hídrico foliar antemanhã (ψ_{am}) e *AE* (mL) (Figura 2 A-B). No entanto, em plantas de arroz inoculadas com

847 *P. fluorescens* e *B. pyrrocinia* as curvas foram polinomiais para água evapotranspirada e para
848 potencial hídrico foliar antemanhã inoculada com *B. pyrrocinia* (Figura 2 C-D).

849 Em LC 50% as plantas de arroz não inoculadas (controle), *B. pyrrocinia* e *P.*
850 *fluorescens*, tem biomassa crítica da planta (g) de 0.062, 0.057 e 0.064 (Figura 2A) em LAS
851 crítica (%) que corresponde a 62, 63 e 62, que resulta em potencial hídrico crítico (ψ_{am}) (MPa)
852 de -1.51, -1.50 e -1.28 (Figura 2C), que corresponde ao volume de AE crítico (mL) de 12, 11 e
853 12 (Figura 2E), e área foliar crítica (cm²) de 18, 21 e 20 (Figura 3A), e conteúdo relativo de
854 clorofila crítico (SPAD) de 21, 24 e 27 (Figura 3C), e comprimento da planta crítico (cm) de
855 45, 49 e 47 (Figura 4A) e largura da folha 0.51, 0.53 e 0.44 (Figura 4C), e biomassa radicular
856 (g) 0.042, 0.045 e 0.042 (Figura 5A), e comprimento radicular (cm) 8.6, 9.4 e 8.6 (Figura 5C),
857 respectivamente. E estimada a LAS necessário para reduzir o crescimento da biomassa seca da
858 planta em 50% (LC 50%), adaptado de Castro, et al. (2016). E avaliado os valores críticos para
859 os demais parâmetros de crescimento da planta.

860 As plantas inoculadas com PGPR quando comparado ao controle diferiram quanto: ao
861 potencial hídrico (ψ_{am}) e o comprimento das plantas inoculadas com *P. fluorescens* em LAS de
862 50 e 30 % da CC (Figura 2D – 4B), AE e biomassa radicular das plantas inoculadas com *P.*
863 *fluorescens* e *B. pyrrocinia* em LAS de 30 % da CC (Figura 2E – 5B), a área foliar e
864 comprimento radicular das plantas inoculadas com *B. pyrrocinia* em LAS em 30 % da CC
865 (Figura 3B – 5D). As plantas controle tiveram menor comprimento da parte aérea e radicular,
866 e área foliar (Figura 6).

867 A espécie *Oryza sativa* é de ambiente semi-aquático e foi adaptada em terras altas por
868 seleção no melhoramento genético. Em plantio de terras altas, a produtividade do arroz é
869 limitada pelo déficit hídrico e por doenças como a brusone (Bonhomme et al., 2012). A falta de
870 água no estágio inicial de desenvolvimento da planta reduz a expansão do sistema radicular,
871 nas camadas mais profundas do perfil do solo, a exploração da umidade e da fertilidade. O

872 déficit hídrico também induz a redução da área foliar, o que está associada a redução no
873 tamanho das folhas ou no número de folhas emitidas, que alteram a interceptação da radiação
874 solar e poderão resultar em menor produtividade.

875 As PGPR (*B. pyrrocinia* e *P. fluorescens*) foram anteriormente registradas como
876 promotoras do crescimento e supressoras de brusone em arroz (Filippi et al., 2011) e como
877 indutoras de alterações estruturais nas raízes de plantas de arroz, promovendo aumento no
878 comprimento, diâmetro e número de vasos condutores (Rêgo et al., 2014). E neste estudo as
879 PGPR, quando presentes durante o crescimento de plantas de arroz de terras altas, induzem as
880 plantas a tolerar o déficit hídrico, por meio da manutenção do potencial hídrico foliar (Figura
881 2D) e aumento do comprimento de raiz (Figura 5D). A tolerância das plantas de arroz ao déficit
882 hídrico, induzidas por *P. fluorescens* e *B. pyrrocinia*, pode estar relacionada com a capacidade
883 de resistirem ao aumento da: temperatura, concentração de sal e pressão osmótica (Figure 1 A-
884 B-C). Essas características das PGPR, podem permitir a sobrevivência em condições adversas
885 pode ser atribuída a composição da parede celular e sua produção de exopolissacarídeos (EPS).
886 EPS são polímeros de compostos hidratados e compõem em torno de 97 % da água na matriz
887 da parede celular, conferindo proteção contra a dessecação. O EPS também compõem o
888 biofilme, que é produzido pela PGPR *P. fluorescens*, componente que atua na agregação
889 microbiana e na proteção contra danos físicos e químicos à célula bacteriana (Bhaskar e Bhosle,
890 2005; Sandhya et al., 2009). A produção de biofilme já foi registrada em *Serratias* sp. GSD2 e
891 correlacionada ao crescimento da bactéria em meio de cultura com elevada salinidade, em
892 condições de alta temperatura, resultando também no incremento de enzimas extracelulares
893 (amilase, protease e lipase) (Hall-Stoodley et al., 2004).

894 A taxa média de sobrevivência das PGPR: *B. pyrrocinia* e *P. fluorescens*, submetidas
895 aos estresses abióticos foi de 80 % em meio NaCl [7.5 %], 96 % em temperatura média (35° e
896 40°C) e 96 % na pressão osmótica (-1.2 MPa), evidenciando que mesmo sob condições

adversas, o crescimento das PGPR foi mantido, podendo agir como fatores indutores de tolerância ao estresse hídrico em plantas de arroz (figura 1 A-B-C). O isolado *P. fluorescens* sobreviveu em -1.0 MPa, enquanto que estudos com isolados de tolerantes a seca dos gêneros *Rhizobium* sp. e *Pseudomona* ssp., sobreviveram em até -0.036 MPa induzido por PEG (Timmusk e Wagner, 1999). Deste modo, evidenciando a eficiência de sobrevivência em condições de déficit hídrico.

Em plantas inoculadas com *P. fluorescens* em LAS de 50 e 30 % da CC o potencial hídrico (ψ_{am}) diferiu do controle em 33 % e 9 % respectivamente (Figura 2D), os valores de potencial hídrico (ψ_{am}) crítico em LAS crítica foi maior em plantas inoculadas com *P. fluorescens* de -1.27 MPa e a PGPR *P. fluorescens* manteve o crescimento em pressão osmótica de -1.2 MPa, em quanto que a AE ao final do déficit hídrico foi menor em plantas inoculadas com *B. pyrrocinia* e *P. fluorescens* em LAS de 30% da CC com redução na perda de água de 18% e 29%, respectivamente (Figura 2F).

A menor perda de água observada, em condições de déficit hídrico, pode estar relacionada a produção de EPS pelas PGPR, que auxiliam na retém água e a estrutura do solo (Chenu e Roberson 1996; Roberson e Firestone 1992). Em plantas de milho (*Zea mays*) e *Arabidopsis thaliana* inoculadas respectivamente com *Azospirillum* e *Paenibacillus polymyxa* ocorreu aumento na formação de EPS, por bactérias da rizosfera, o que auxiliou na tolerância das plantas (Sandhya et al., 2009; Sandhya et al., 2010). Este efeito benéfico também foi observado em plantas de arroz quando submetidas ao deficit hidrico, oriundas de sementes inoculadas com as bactérias *P. fluorescens* AK1, *P. aeruginosa* AK2 e *P. aeruginosa* AF3. Estas bactérias ao penetrarem nas células das raízes auxiliaram na fixação de nutrientes para as plantas, e aumentaram a produção de EPS. Também foi reportado que induziram menor perda de água pela planta, promoveram ganho em biomassa e área foliar (Flemming e Wingender,

2001). Assim como observados em plantas de arroz inoculadas com as PGPR (*B. pyrrocinia* e *P. fluorescens*), na biomassa da parte aérea (Figura 2 B) comprimento da planta (Figura 4B).

Em plantas inoculadas com *B. pyrrocinia* em LAS de 30 % da CC a área foliar diferiu do controle em 20 % (Figura 3B), e com *B. pyrrocinia* em LAS de 70 % e 50 % o conteúdo relativo de clorofila diferiu do controle em 17 % e 48 %, e plantas inoculadas com *P. fluorescens* em LAS 70 % da CC diferiu do controle em 15 % (Figura 3D). Em estudos com cultivar resistente a déficit hídrico (N22), ocorre a redução da área foliar total (24 %), em relação a plantas irrigadas (Kadam et al., 2015). A redução de área foliar específica é um fator determinante para o aumento da utilização eficiente da água sob estresse no trigo (*Triticum aestivum*), a redução de área foliar específica ocorre em resposta ao estresse hídrico para conservar a água e tem sido documentada em diversas espécies (Kadam et al., 2015). Assim, há um indicativo de que os isolados que atuam sobre a tolerância das plantas em relação ao déficit hídrico auxiliem no retardamento da perda de área fotossintética, por auxiliarem na retenção de água no solo e na planta. Em *Hyoscyamus niger niger* inoculado com *P. putida* e *P. fluorescens* ocorreu a mitigação dos efeitos do estresse hídrico sobre o crescimento da planta, da biomassa e no teor de clorofila (Ghorbanpour et al., 2013). Deste modo os bioagentes atuam nas plantas sobre o teor de clorofila de forma benéfica em plantas submetidas ao déficit hídrico.

Em plantas inoculadas com *P. fluorescens* em LAS de 50 % e 30 % da CC o comprimento da planta de arroz diferiu do controle em 14 % e 15 % respectivamente (Figura 4B). O incremento da biomassa de plantas de arroz está relacionado com a produção de fitormônios exógenos (Kang et al., 2014). Assim como identificado que as espécies *Burkholderia cepacia*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Promicromonospora* sp. também mitigaram os danos causados pelo déficit hídrico nas plantas, devido aos metabolitos secundário produzidos nas plantas, e induzidos pelos microorganismos, incluindo os fitormônios, que durante o crescimento das plantas induzem a produção de giberelinas e auxina (Rakshapal et

946 al., 2013; Iqbal & Ashraf 2013). Em milho (*Zea mays*), inoculados com isolado de
947 *Pseudomonas* spp. foi verificado aumento da biomassa das plantas, e de teor relativo de água
948 nas folhas e redução da perda de água na folha (Chen e Dai 1994). Esta redução na perda de
949 água pelas pode estar sendo estimulada pela ação das PGPR nas plantas. Novas investigações
950 são necessárias para esclarecer as rotas metabólicas das plantas inoculadas com PGPR ativas
951 em condições de déficit hídrico.

952 Em plantas inoculadas com *P. fluorescens* em LAS de 30 % da CC a biomassa radicular
953 diferiu do controle em 16 % (Figura 5B), e plantas inoculadas com *B. pyrrocinia* em LAS de
954 30% da CC o comprimento radicular diferiu do controle em 88 % (Figura 5D). O aumento na
955 biomassa radicular também foi obtido em plantas de girassol (*Helianthu annuus*) submetida
956 ao estresse hídrico e inoculada com *Pseudomonas* spp. produtoras EPS (Alami et al., 2000).
957 Em plantas de arroz inoculadas com PGPR (*B. pyrrocinia* e *P. fluorescens*) ocorreu menor
958 redução do comprimento da parte aérea e radicular, e área foliar quando comparado a plantas
959 controle (Figura 6).

960 A PGPR *P. fluorescens* poderá ser inseridas no manejo integrado da cultura do arroz em
961 terras altas, pois reduz a severidade de doenças do arroz, agem como promotoras do crescimento
962 e aumentam a tolerância das plantas à deficiência hídrica. Esse conjunto de atributos associados
963 convergem para uma agricultura sustentável com redução do uso de fertilizantes e agrotóxicos
964 a serem utilizados para aumento da produtividade na cultura do arroz. Além de poderem ser
965 utilizadas no manejo integrado das doenças com sucesso, e como bioindutores de crescimento
966 de planta, auxiliando na diminuição de aplicações de fertilizantes químicos, e nos ajustes
967 fitotécnicos para reduzir os efeitos da seca causadas pelos veranicos, os veranicos podem durar
968 de seis a dez dias, e provocar perda na produtividade e no crescimento das plantas, tornando
969 assim o manejo mais sustentável e com menor impacto para o meio ambiente.

970

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Pesquisas da Amazônia (Fapesp) e a Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) pelo financiamento da pesquisa, e a Agência Federal Brasileiro de Apoio e Avaliação da Educação Superior (CAPES) para a concessão de bolsas de estudos de doutorado.

Referências

- Alami, Y.; Champolivier, L.; Merrien, A.; Heulin, T. 2000. The role of *Rhizobium* sp. rhizobacterium that produces exopolysaccharide in the aggregation of the rhizospherical soil of the sunflower: Effects on plant growth and resistance to hydric constraint. *Oleagineux Corps Gras Lipides* 6: 524–528.
- Araus, J.L.; Slafer, G.A.; Reynolds, M.P.; Royo, C. 2002. Plant breeding and drought in C3 cereals: what should we breed for? *Annals Botany* 89: 925–940.
- Asch, F. 2005. Drought-induced changes in rooting patterns and assimilate partitioning between root and shoot in upland rice. *Field Crops Research*, Amsterdam 93: 223–236.
- Bhaskar, P.V.; Bhosle, N. B. 2005. Microbial extracellular polymeric substances in marine biogeochemical processes. *Current Science* 88: 45–53.
- Bonhomme, L.; Valot, B.; Tardieu, F.; Zivy, M. 2012. Phosphoproteome dynamics upon changes in plant water status reveal early events associated with rapid growth adjustment in maize leaves. *Molecular Cellular Proteomics* 11: 957–972.
- Burlyn e. Michel and merrill r. Kaufmann, 1972, the osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant physiol.* (1973) 51, 914–916.
- Campos, H.; Cooper, M.; Habben, J. E.; Edmeades, G. O.; Schussler, J. R. 2004. Improving drought tolerance in maize: a view from industry. *Field Crops Research* 90: 19 – 34.

- 995 Castro, G. L. S.; Lemos, O. F.; Tremacoldi, C. R.; Moraes, F. K. C.; Santos, L. R. R.; Pinheiro,
 996 H. A. 2016, Susceptibility of in vitro black pepper plant to the filtrate from a *Fusarium solani*
 997 f. sp. *piperis* culture. *Plant Cell Tiss Organ Cult*. Vol 126: 3 – 5.
- 998 Chen, J.; Dai, J.Y. 1994. Correlation among photosynthesis, lipid peroxidation and
 999 ultrastructural changes of mesophyll cells in corn leaves under water stress. *Maize Sci. Chinese*
 1000 2: 36–40.
- 1001 Chenu, C.; Roberson, E.B. 1996. Diffusion of glucose in microbial extracellular polysaccharide
 1002 as affected by water potential. *Soil Biol Biochem* 28: 877–884.
- 1003 Counce, P. A.; Keisling, T. C.; Mitchel, A. J. A. 2000. Uniform, objective, and adaptive system
 1004 for expressing rice development. *Crop Science* 40: 439 – 443.
- 1005 Deus, K., E.; Lanna, A. C.; Abreu, F. R. M.; Silveira, R. D. D.; Pereira, W. J.; Brondani, C.;
 1006 Vianello, R. P. Molecular and biochemical characterization of superoxide dismutase (SOD) in
 1007 upland rice under drought. *Australian Journal of Crop Science*, 9(8):744 – 753, 2015.
- 1008 Filippi, M.C.C.; Silva, G.B.; Silva-Lobo, V.L.; Côrtes, M.V.C.B.; Moraes, A.J.G.; Prabhu, A.S.
 1009 2011. Leaf blast (*Magnaporthe oryzae*) suppression and growth promotion by rhizobacteria on
 1010 aerobic rice in Brazil. *Biological Control* 58: 160–166.
- 1011 Flemming, H.C.; Wingender, J. 2001. Relevance of microbial extracellular polymeric
 1012 substances (EPSs)-parts I: structural and ecological aspects. *Water Science Technology* 43: 1 –
 1013 8.
- 1014 Ghorbanpour, M.; Hatami, M.; Khavazi, K. 2013. Role of plant growth promoting rhizobacteria
 1015 on antioxidant enzyme activities and tropane alkaloid production of *Hyoscyamus niger* under
 1016 water deficit stress. *Turkish Journal of Biology*. 37: 350-360.
- 1017 Hall-Stoodley, L.; Costerton, J.W.; Stoodley, P. 2004. Bacterial biofilms: from the Natural
 1018 environment to infectious diseases. *Nature Review Microbiology* 2: 95-108.

- 1019 Iqbal, M.; Ashraf, M. 2013. Gibberellic acid mediated induction of salt tolerance in wheat
1020 plants: growth, ionic partitioning, photosynthesis, yield and hormonal homeostasis.
1021 Environmental and Experimental Botany 86:76–85.
- 1022 Kadam, N.; Yin, X.; Bindraban, P.; Struik, P.C.; Jagadish, K.S.V. 2015. Does morphological
1023 and anatomical plasticity 1 during the vegetative stage make wheat more tolerant of water-
1024 deficit stress than rice? Plant physiol. 167: 1389–1401.
- 1025 Kang, S.M.; Waqas, M.; Khan, A.L.; Lee, I.J. 2014. Plant growth promoting rhizobacteria:
1026 potential candidates for gibberellins production and crop growth promotion. Journal of Plant
1027 Interactions 9: 1–19.
- 1028 Kumar, G. P.; Ahmed, S. K.M.H.; Desai, S.; Amalraj, E.L.D.; Rasul, A. 2014. *In vitro*
1029 Screening for abiotic stress tolerance in potent biocontrol and plant growth promoting strains
1030 of *Pseudomonas* and *Bacillus* spp. International Journal of Bacteriology. 2014: 1 – 6.
- 1031 Mathur, T.; Singhal, S.; Khan, S.; Upadhyay, D. J.; Fatma, T.; Rattan, A. 2006. Detection of
1032 biofilm formation among the clinical isolates of staphylococci: an evaluation of three different
1033 screening methods. Indian Journal of Medical Microbiology, 24 (1):25-9.
- 1034 Pozo, M.J.; Azcón-Aguilar, C. 2007. Unravelling mycorrhiza induced resistance. Current
1035 Opinion in Plant Biology 10:393–398.
- 1036 Qian, X.; Shen, Q.; Xu, G.; Wang, J.; Zhou, M. 2004. Nitrogen forms effects on yield and
1037 nitrogen uptake of rice crop grown in aerobic soil. Journal of Plant Nutrition 27: 1061-1076.
- 1038 Rakshapal, S.; Sumit, K.S.; Rajendra, P.P.; Alok, K. 2013. Technology for improving essential
1039 oil yield of *Ocimum basilicum* L. (sweet basil) by application of bioinoculant colonized seeds
1040 under organic field conditions. Indian Crop Production 45:m335–342.
- 1041 Rêgo, M.C.F.; Ilkiu-Borges, F.; Filippi, M.C.C.; Gonçalves, L.A.; SILVA, G.B.
1042 2014. Morphoanatomical and Biochemical Changes in the Roots of Rice Plants Induced by Plant
1043 Growth-Promoting Microorganisms. Journal of Botany 2014: 1-10.

- 044 Roberson, E.B.; Firestone, M.K. 1992. Relationship between desiccation and
 045 exopolysaccharide production in soil *Pseudomonas* spp. Applied Environmental Microbiology
 1046 58: 1284–1291.
- 1047 Sandhya, V.; Ali, S.K.Z.; Grover, M.; Reddy, G.; Venkateswarlu, B. 2010. Effect of plant
 1048 growth promoting *Pseudomonas* spp. on compatible solutes, antioxidant status and plant growth
 1049 of maize under drought stress. Plant Growth Regulation 62: 21–30.
- 1050 Sandhya, V.; Ali, S.Z.; Grover, M.; Kishore, N.; Venkateswarlu, B. 2009. *Pseudomonas* sp.
 1051 strain P45 protects sunflowers seedlings from drought stress through improved soil structure.
 1052 Journal Oilseed Research 26: 600–601.
- 1053 Silveira, R.D.D.; Abreu, F.R.M.; Mamidi, S.; McClean, P.E.; Vianello, R.P.; Lanna A.C.;
 1054 Carneiro, N.P.; Brondani C. 2015. Expression of drought tolerance genes in tropical upland rice
 1055 cultivars (*Oryza sativa*). Genetics and Molecular Research 56: 1–20.
- 1056 Souza, W.A.R.; Martines-Filho, J.G.; Zancan, C.; Costa, A.C.S.; Queiróz, A.G.A. 2015.
 1057 Analysis of the Economic Potential for a Mercosur Rice Futures Market. Society, Accounting
 1058 and Management 10: 70–87.
- 1059 Timmusk, S.; Wagner, E.G.H. 1999. The plant-growth-promoting rhizobacterium
 1060 *Paenibacillus polymyxa* induces changes in *Arabidopsis thaliana* gene expression: a possible
 1061 connection between biotic and abiotic stress responses. Molecular Plant-Microbe Interactions
 1062 12: 951–959.
- 1063 Van Loon, L. C. 2007. Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. Eur J Plant
 1064 Pathol 119: 243–254.
- 1065

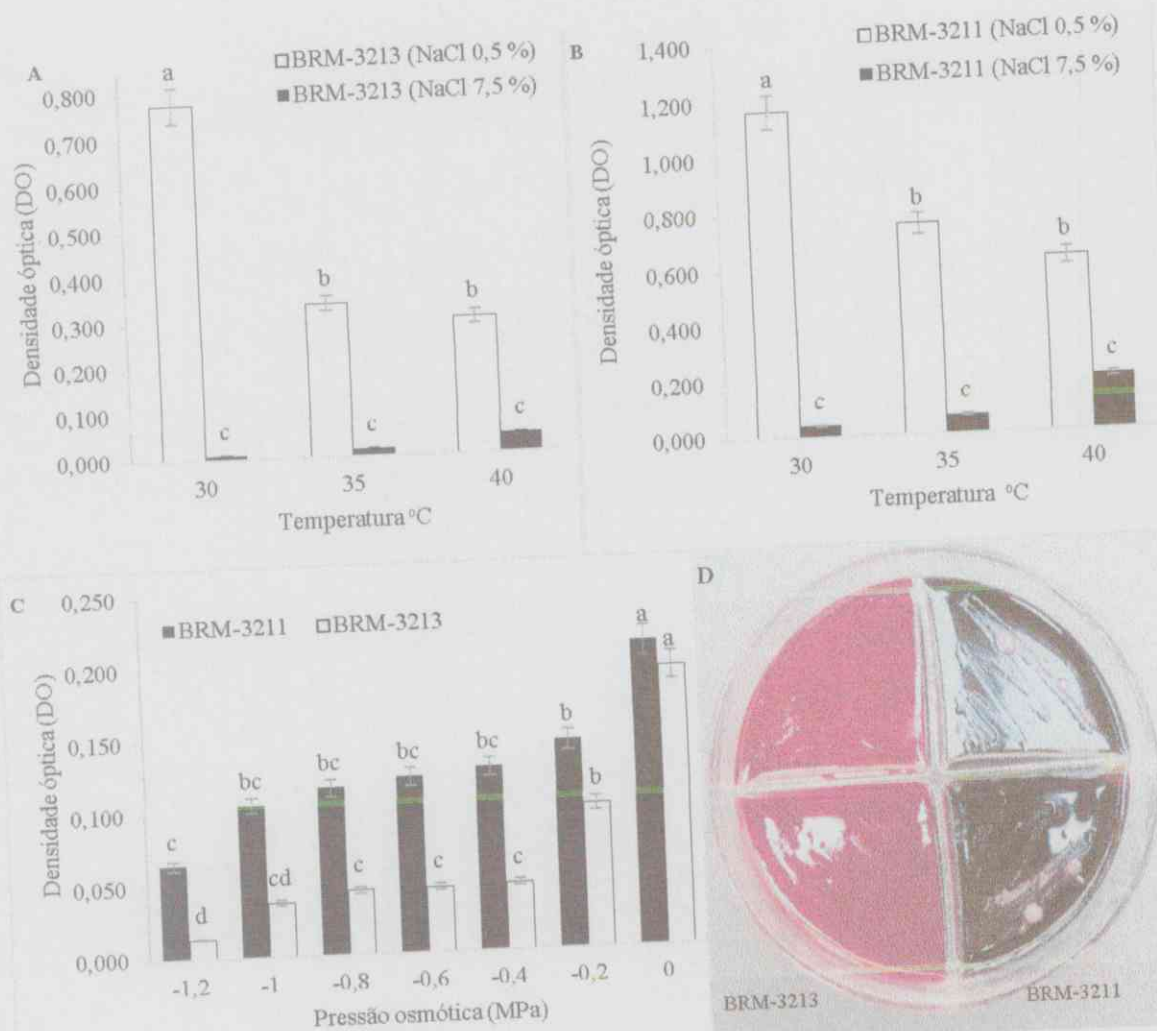


Figura 1. Crescimento da PGPR (*Pseudomonas fluorescens* - BRM-3211 e *Burkholderia pyrrocinia* BRM-3213) em condições de estresses abiótico de salinidade e temperatura (A-B), pressão osmótica (C) e formação de biofilme) (D). ANOVA, teste de Duncan ($p < 0.05$). Erro padrão ($p < 0.05$).

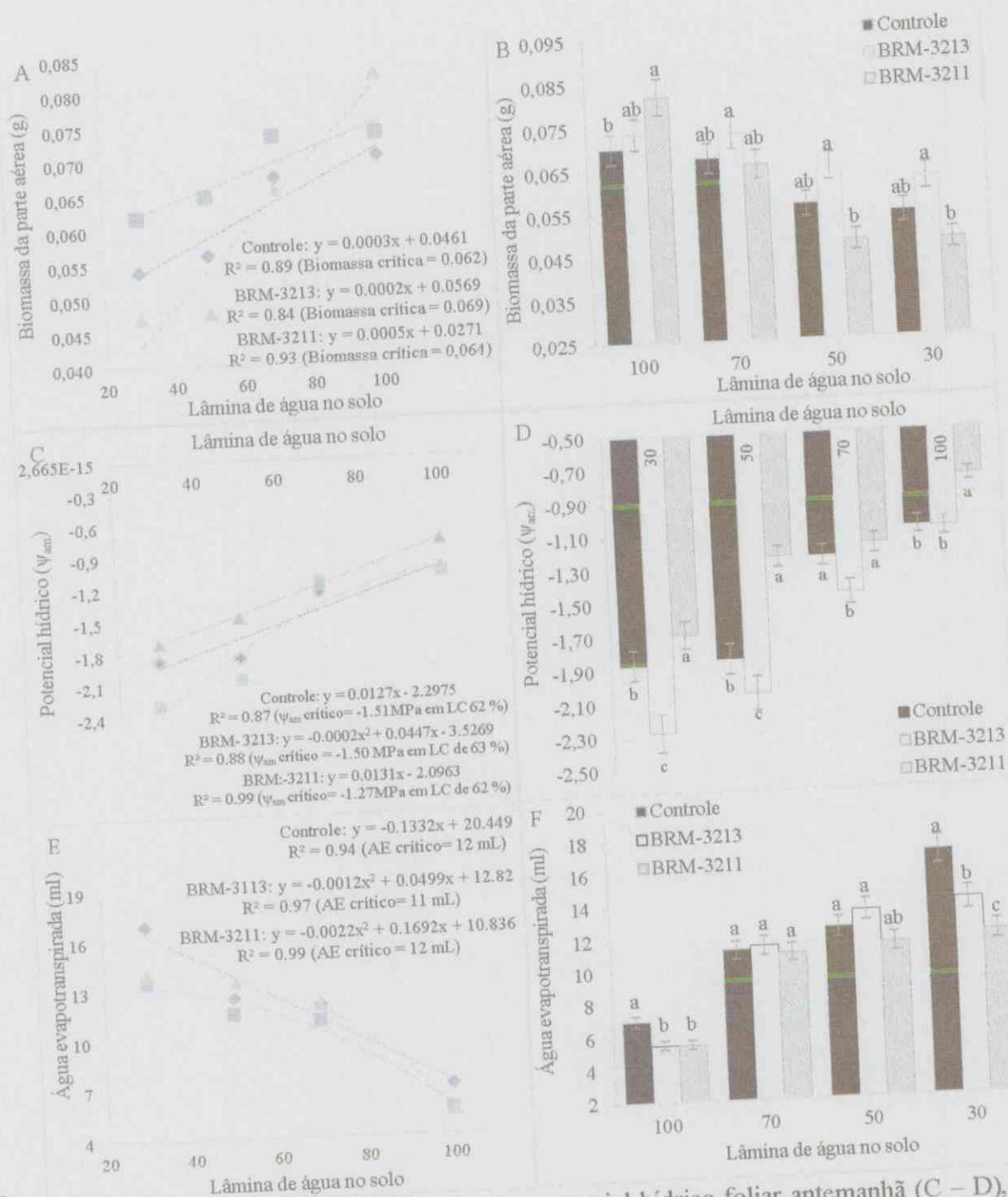


Figura 2. Biomassa da parte aérea (A - B), potencial hídrico foliar antemanhã (C - D), água evapotranspirada (E - F), em plantas de arroz de terras altas: controle (não inoculada) (♦) e inoculadas com *Pseudomonas fluorescens* (BRM-3211) (▲) e *Burkholderia pyrrocinia* (BRM-3213) (■), em lâminas de água no solo: 100, 70, 50 e 30 % da capacidade de campo. Análise de regressão e ANOVA, teste de Duncan ($p < 0.05$). Erro padrão ($p < 0.05$).

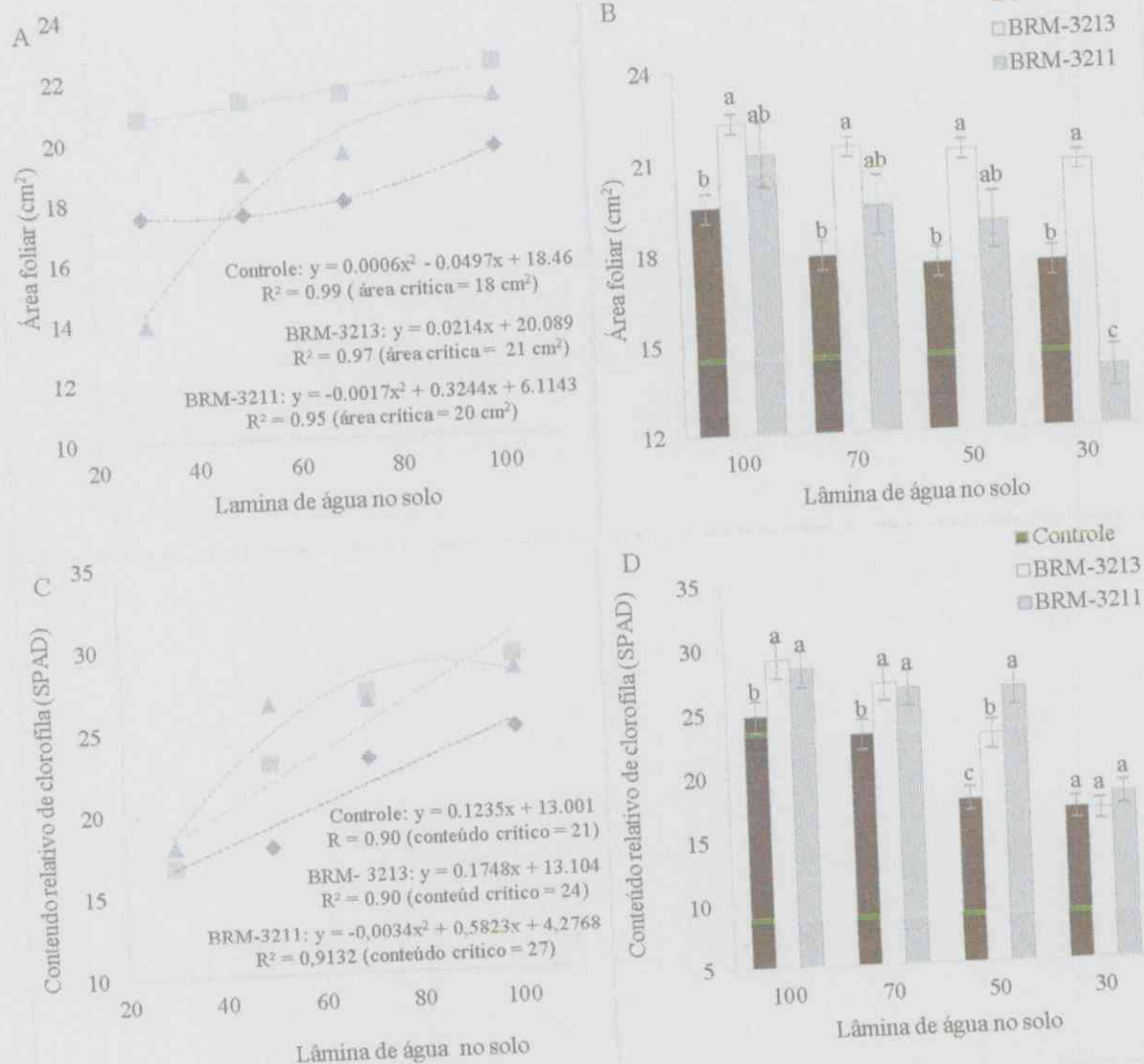


Figura 3. Área foliar (A - B) e conteúdo relativo de clorofila (C - D), em plantas de arroz de terras altas: controle (não inoculada) (♦) e inoculadas com *Pseudomonas fluorescens* (BRM-3211) (▲) e *Burkholderia pyrrocinia* (BRM-3213) (■), em lâminas de água no solo: 100, 70, 50 e 30 % da capacidade de campo. Análise de regressão e ANOVA, teste de Duncan ($p < 0.05$). Erro padrão ($p < 0.05$).

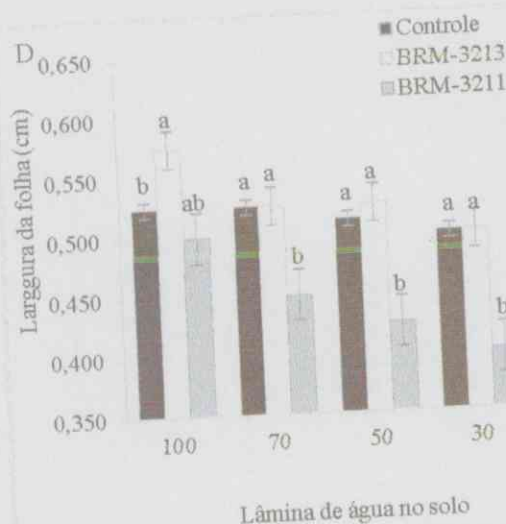
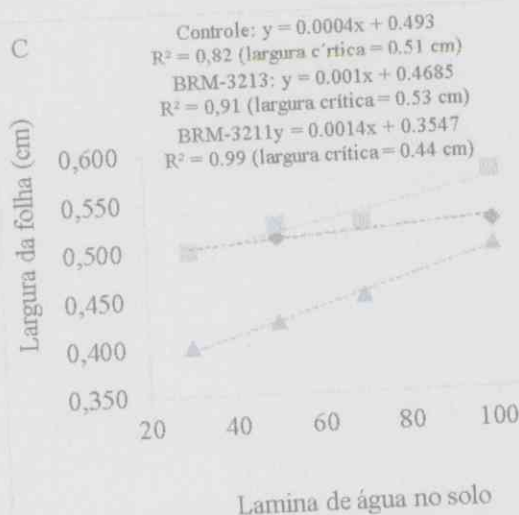
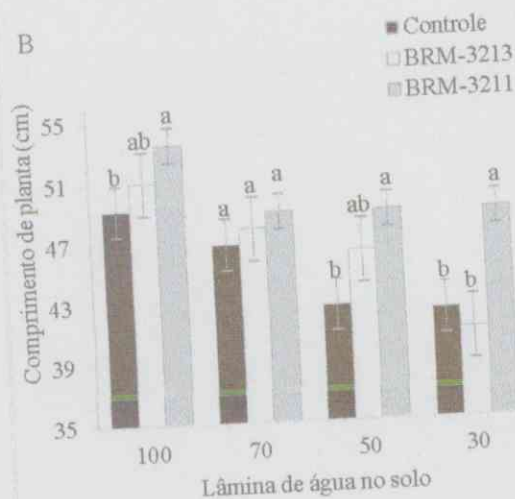
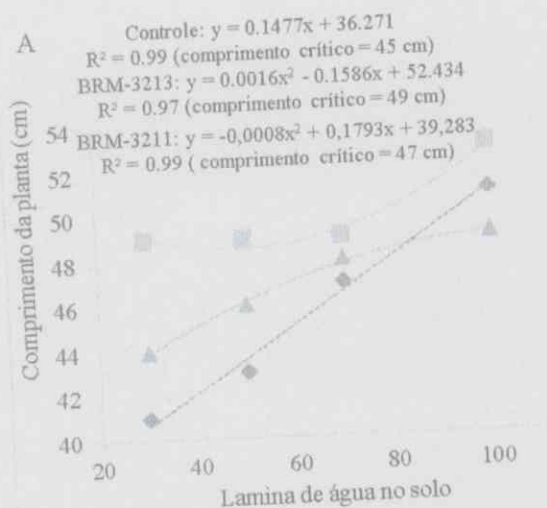


Figura 4. Comprimento da planta (A - B) e largura da folha (C - D), em plantas de arroz de terras altas: controle (não inoculada) (♦) e inoculadas com *Pseudomonas fluorescens* (BRM-3211) (▲) e *Burkholderia pyrrocinia* (BRM-3213) (■), em lâminas de água no solo: 100, 70, 50 e 30 % da capacidade de campo. Análise de regressão e ANOVA, teste de Duncan ($p < 0.05$). Erro padrão ($p < 0.05$).

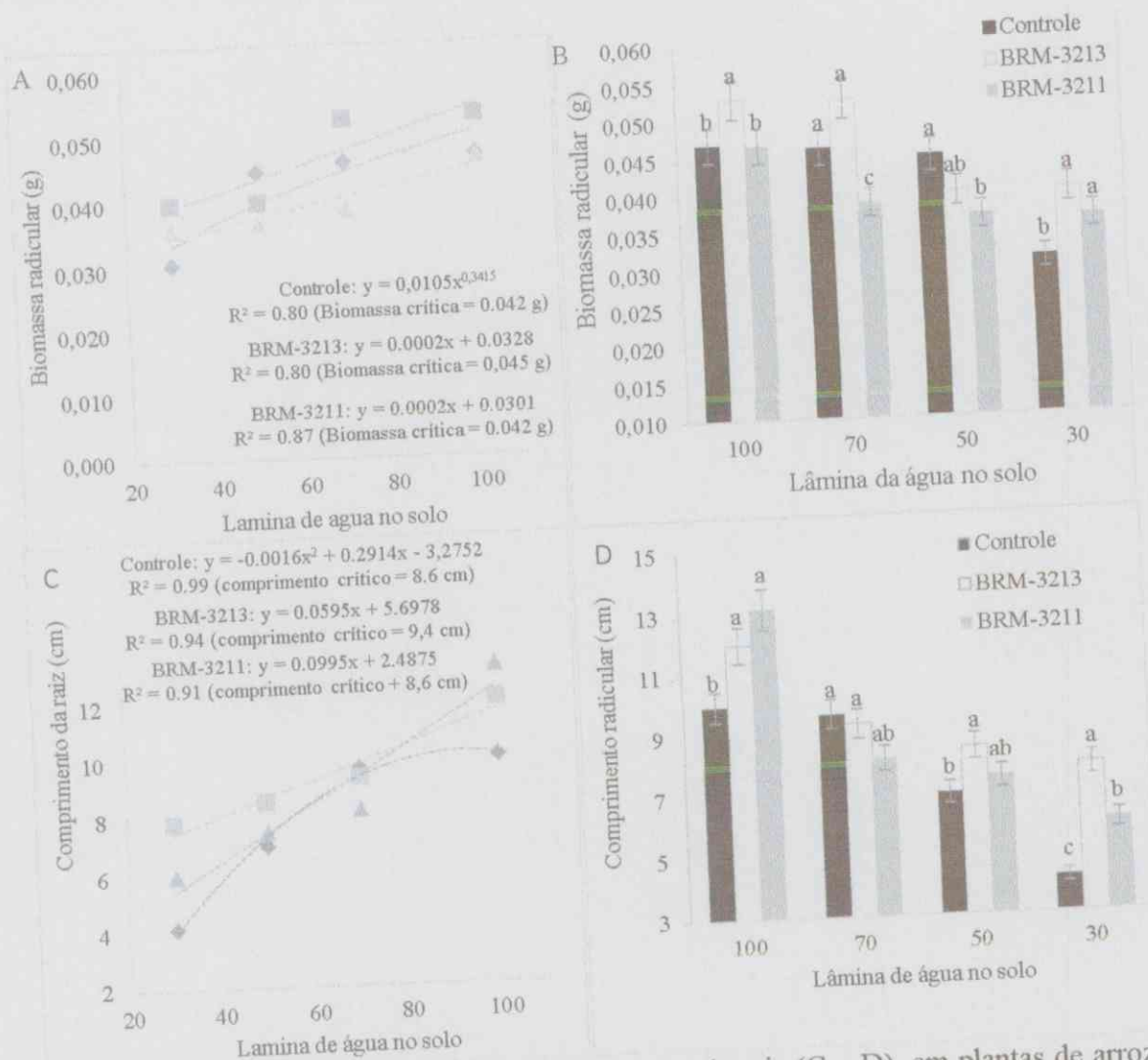


Figura 5. Biomassa radicular (A – B) e comprimento da raiz (C – D), em plantas de arroz de terras altas: controle (não inoculada) (♦) e inoculadas com *Pseudomonas fluorescens* (BRM-3211) (▲) e *Burkholderia pyrrocinia* (BRM-3213) (■), em lâminas de água no solo: 100, 70, 50 e 30 % da capacidade de campo. Análise de regressão e ANOVA, teste de Duncan ($p < 0,05$). Erro padrão ($p < 0,05$).

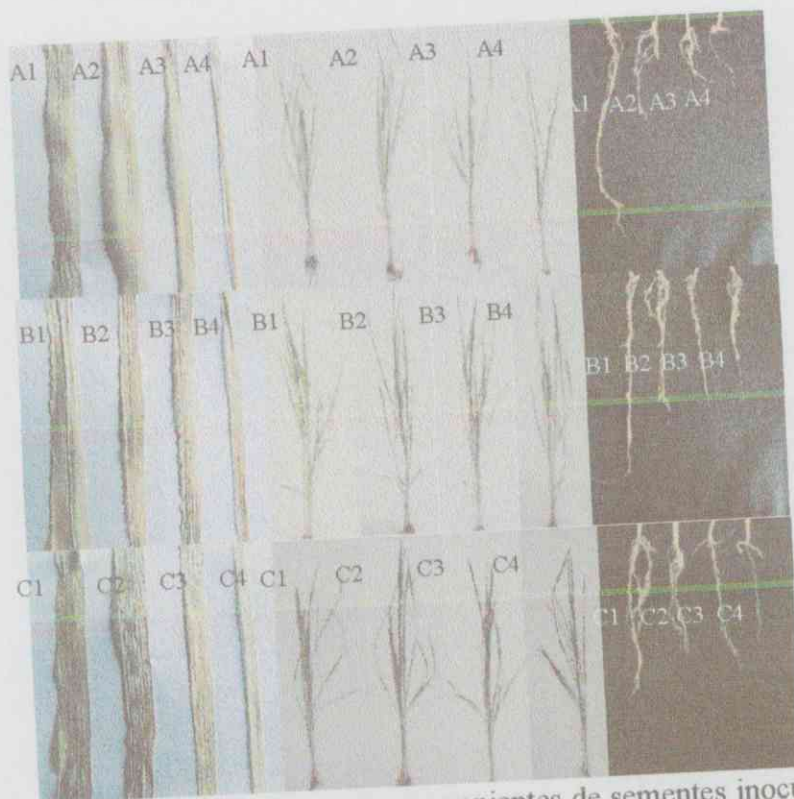


Figura 6. Folha e raízes de plantas de arroz, provenientes de sementes inoculadas com PGPR e submetidas a déficit hídrico - Controle: 100 % (A1), 70 % (A2), 50 % (A3), 30 % (A4); *Burkholderia pyrrocinia* - BRM-3213: 100 % (B1), 70 % (B2), 50 % (B3), 30 % (B4); *Pseudomonas fluorescens* - BRM-3211: 100 % (C1), 70 % (C2), 50 % (C3), 30 % (C4); da capacidade de campo.

1131

1132

1133

1134

1135

1136

1137

1138

Capítulo 3

1139

1140

1141

1142

1143

1144

1145

1146

1147

1148

1149

150 3. Mitigação do déficit hídrico por rizobactérias em plantas de arroz de terras altas²

151

152 Marcela Cristiane Ferreira Rêgo¹, Sueyla Malcher Bezerra¹, Aline Figueiredo Cardoso¹, Telma

153 Fatima Vieira Batista¹, Marta Cristina Corsi de Filippi², Gisele Barata da Silva^{1*}.

1154

1155 ¹ Plant Protection Laboratory, Institute of Agrarian Sciences, Federal Rural University of

1156 Amazon, Campus Belém, Pará, Brazil.

1157 ² Phytopathology Laboratory, Brazilian Enterprise for Agricultural Research - Rice and Beans,

1158 Goiânia, Goiás, Brazil, CEP 75375-000.

1159 * Corresponding author: Gisele Barata da Silva. E-mail: gisele.barata@ufra.edu.br (55-91-

1160 3210-5191).

1161

1162

1163

1164

1165

1166

1167

1168

1169

1170

1171

1172

1173 ² Este capítulo segue as normas de apresentação do Checklist. da Agricultural Water

1174 Management

Resumo

A elevada demanda por grão de arroz e os problemas ocasionados pelo déficit hídrico, levou a necessidade de estudos de recursos que auxiliem na mitigação danos causados pelo estresse. Deste modo o objetivo deste estudo identificar as modificações anatômicas e fisiológicos em planta de arroz de terras altas inoculadas com *Pseudomonas fluorescens* BRM-32111 e *Burkholderia pyrrocinia* BRM-32113 que indiquem o efeito mitigador dos danos causados pelo déficit hídrico. foram utilizadas sementes do cultivar BRS Primavera, inoculadas com BRM-32111, BRM-32113 e controle, em vaso, o experimento em DIC, com seis tratamentos e sete repetições, em casa de vegetação, e submetidos a 100% e 50% da capacidade de campo, e mantida até o 28 dias e avaliado crescimento, fisiologia e anatomia, e no teste de germinação foram semeadas 100 sementes por tratamento, com quatro repetição, as sementes foram inoculadas com BRM-32111, BRM-32113 e controle, o solo foi umedecido com água e solução com PEG-6000 PA. E avaliado IVG por cinco dias. Os tratamentos foram comparados dentro da mesma lâmina pelo teste de média. As sementes com BRM-32111 apresentaram maior a germinação, e as plantas tiveram maior Ψ_{am} e com BRM 32113 diferiram do controle no IVG. As plantas inoculadas com BRM 32111 e BRM-32113 tiveram maior diâmetro radicular, número de poros de protoxilema, espessura do córtex, redução de poro estomático e aumento na densidade de estômatos, e aumento em A, Ci / Ca, WUE e A / Ci, maior acúmulo de clorofila a e clorofila b, prolina e redução em MDA. Estes resultados evidenciam o efeito mitigador das PGPR aos danos causados pelo déficit hídrico

Palavras-chave: *Oryza sativa* L., *Burkholderia pyrrocinia*, *Pseudomonas fluorescens*.

Introdução

O arroz, com um comportamento semiaquático, consome cerca de 30% do total água doce disponível para as culturas agrícolas em todo o mundo, o que equivale a um consumo duas a três vezes superior a outros cereais, como trigo e milho (Peng et al., 2006). Devido à crescente preocupação com a escassez de água, foram desenvolvidas várias tecnologias de conservação da água, tais como o cultivo de arroz de terras altas, estas cultivares tem menor produtividade, e as perdas são maiores quando ocorrem o aumento da frequência de veranicos causados por fenômenos meteorológicos como o El Niño (Bindraban et al., 2006; Costa, 2012).

O estresse hídrico nas plantas inibe a expansão das células do córtex, periciclo, câmbio e raio do parênquima, redução do número de células em todos os tecidos (Joyce et. al. 1983). E redução conteúdo de clorofila a e clorofila b, carotenoides (Kano-Nakata et al., 2011) e taxa de assimilação líquida de carbono (A), aumento na taxa de transpiração (E) e condutância estomática ao vapor de água (g_s) (Machado et al. 1996). No entanto, as plantas possuem mecanismos para minimizar os efeitos danosos do déficit hídrico, deste modo as plantas nesta situação fecham os estômatos, pois a maior parte da água nas plantas é perdida é através dos estômatos, provavelmente, a forma mais eficiente para melhorar a tolerância à seca (Jong Kukna, 2005). O estresse hídrico no estágio vegetativo induz a redução da fotossíntese devido a redução na taxa de expansão da folha, da atividade da rubisco e na produção de biomassa e diminuição do volume celular (Bota, et al., 2004). E acúmulo de prolina, que atua no controle osmótico em plantas sobre déficit hídrico, e contribui para a estabilização das estruturas subcelulares (por exemplo membranas e proteínas), e eliminação de radicais livres e manutenção de $NADP^+ / NADPH$ compatíveis com o metabolismo (Hare e Cress, 1997; Ali et al., 1999; Ozturk e Demir, 2002; Hsu et Al., 2003; Kavi Kishore et al., 2005). Permitindo assim a mitigação dos danos causados pelo déficit hídrico.

As rizobactérias são organismos que podem atuar sobre o crescimento das plantas, que está relacionada com síntese de substâncias promotoras do crescimento (citocininas, giberelinas e auxinas), a influência na nutrição mineral de plantas (solubilizadores de fosfato, e fixação biológica de nitrogênio) e na proteção de plantas contra fitopatógenos (Dardanellia, et al. 2012). Os bioagentes (*Burkholderia pyrrocinia* BRM-3213 e *Pseudomonas fluorescens* BRM-3211), selecionados previamente como promotoras de crescimento e indutoras de resistência a brusone (Filippi, et al., 2011). Induziram incremento radicular em biomassa, comprimento, e número de elementos de vasos de metaxilema e polos de protoxilema, no diâmetro do cilindro vascular (Rêgo et al., 2014). Deste modo, a nossa hipótese é que as rizobactérias (*Pseudomonas fluorescens* BRM-32111 e *Burkholderia pyrrocinia* BRM-32113) mitigam os danos nas plantas de arroz de terras altas ao déficit hídrico. E o objetivo foi identificar as modificações anatômicas e fisiológicas em planta de arroz de terras altas inoculadas com *P. fluorescens* BRM-32111 e *B. pyrrocinia* BRM-32113 que indiquem o efeito mitigador dos danos causados pelo déficit hídrico.

Material e métodos

Microrganismos, material vegetal, e condição de crescimento

As rizobactérias (*Pseudomonas fluorescens*-BRM-3211 e *Burkholderia pyrrocinia*-BRM-3213), estão armazenados na coleção de microrganismos do Laboratório de Proteção de Plantas Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA). E foram previamente selecionadas como promotoras de crescimento e indutoras de resistência (Filippi et al., 2011; Rêgo et al., 2014).

A semeadura foi feita com sementes do cultivar BRS Primavera, previamente tratadas com *P. fluorescens* BRM-32111, *B. pyrrocinia*-BRM-32113, e controle (não inoculada), foram

1249 semeadas dez sementes por vaso e feito o desbaste no 11º dia após a germinação, e se manteve
1250 cinco plantas por vaso, o experimento foi inteiramente ao acaso, com seis tratamentos e sete
1251 repetições (vaso com cinco plantas), as sementes foram semeadas em vasos contendo 700 g de
1252 solo (Lato solo amarelo distrófico) de Paragominas – Pa, e adubados com: 1,162 g de N-P-K
1253 (Nitrogênio, Fósforo e Potássio), 0,350 g de Ureia, e 0,700 g de FTE (micronutrientes), por
1254 vaso, e conduzido em casa de vegetação, e submetidos a duas lâminas de água no solo: 100 e
1255 50 % da capacidade de campo, iniciando a aplicação do déficit hídrico no 11º dia após a
1256 germinação e mantidas até 28º dia após germinação (Counce et al., 2000; Silveira et al., 2015;
1257 Mello et al., 2002; Campos et al., 2004). O experimento foi repetido cinco vezes.

1258

1259 *Germinação*

1260 Foram semeadas 25 sementes por repetição totalizando 100 sementes / tratamento, em caixa
1261 plástica (11 x 11 x 3.5 cm), contendo 100 g de solo, as sementes foram previamente inoculadas
1262 com *P. fluorescens* BRM-32111, *B. pyrrocinia*-BRM-32113 e controle conforme metodologia
1263 descritas por Filippi et al (2011), o solo foi umedecido com 50 mL de água destilada estéril e
1264 com solução com 33% de polyethyleneglycol (PEG-6000 PA) que equivale ao déficit hídrico
1265 de -1.2MPa (Michel & Kaufmann, 1972). E o índice de velocidade de germinação (IVG) foi
1266 avaliado por cinco dias após semeio. O ensaio foi repetido duas vezes.

1267

1268 *Crescimento da planta e potencial hídrico*

1269 Ao completarem 28 dias após a semeadura, avaliou-se trocas gasosas e comprimento,
1270 biomassa e o potencial hídrico antemanhã foliar (Ψ_{am}), e coletado o material para análises
1271 bioquímicas.

1272 *Anatomia de raízes e estômatos*

1273 Foram coletadas raízes de arroz e preparadas para estudo morfo-anatômicos conforme
1274 (Rêgo et al., 2014), e feita as avaliações de diâmetro radicular (μm) e do cilindro vascular (μm),
1275 espessura do córtex (μm), e número de elementos de vasos de metaxilema e de polos de
1276 protoxilema. E a dimensão dos estômatos foi obtida através da área equivalente do elipsóide
1277 que representa a área dos poros estomáticos (APE) pela seguinte fórmula: $(\pi \times \text{Comprimento} \times$
1278 $\text{largura}) / 4$, de acordo com Minnocci et al. (1995) e Bartolini et al. (1997). O stomatal density
1279 (SD, stomata mm^{-2}) (n = 20 treatments) of the inferior lamina, according to Sack et al. (2003).
1280 Em lâmina foliar com 0,5 x 0,5 cm com auxílio de ocular milimetrada, Microscópio Motic (BA-
1281 400).

1282

1283 *Troca gasosa*

1284 As plantas de arroz foram avaliadas quanto a troca gasosa, com um sistema portátil de
1285 fotossíntese (LI-6400XT; LI-COR, Lincoln, NE). A taxa líquida de assimilação de CO_2 (A),
1286 condutância estomática (gs) e transpiração (E), concentração intercelular de CO_2 (Ci), e
1287 estimado uso eficiente da água (WUE) (A/E) e eficiência de carboxilação da rubisco (A / Ci),
1288 foram avaliados a uma concentração de CO_2 400 $\mu\text{mol mol}^{-1}$, 50% de umidade relativa, 28 °C de
1289 temperatura, 300 $\mu\text{mol s}^{-1}$ o fluxo de ar e uma densidade de fluxo de fótons de 1200 $\mu\text{mol (m}^2$
1290 s^{-1} . O instrumento foi estabilizado de acordo com a orientações do fabricante.

1291

1292 *Pigmentos fotossintetizantes e osmorreguladores*

1293 *Quantificação de pigmentos*

1294 Da terceira folha foram obtidos 15 mg de tecido foliar e maceradas em 240 μL em EtOH
1295 98 % e incubadas a 80 °C por 20 minutos, e em seguida centrifugadas a 4 °C em 14.000 rpm
1296 durante cinco minutos. Posteriormente, o sobrenadante foi coletado e o pellet submetido a mais

1297 duas extrações, em EtOH de 80% e 50%, respectivamente. Os sobrenadantes foram coletados
 1298 e homogeneizados. As etapas de extração dos pigmentos foram realizadas sob banho de gelo e
 1299 na ausência de luz, conforme metodologia definida por Porra (1989). Posteriormente uma
 1300 aliquota de 20 µL do extrato vegetal etílico de cada amostra foi adicionado em um meio de
 1301 reação com 120 µL de EtOH 98% e 40 µL do mix etílico. E submetidas a determinação da
 1302 absorbância, estimada em comprimento de onda (λ) 645 nm e 665 nm. Com a absorbância
 1303 obtidas, foi estimada as concentrações de clorofila a e b, a / b e total através das fórmulas 1 e 2,
 1304 posteriormente normalizado pela massa fresca de cada amostra.

1305 (Fórmula – 1) Clorofila a = $5.48 * Abs_{665} - 2.16 * Abs_{645} \left(\frac{\mu g}{poço} \right)$

1306 (Fórmula – 2) Clorofila b = $9.67 * Abs_{645} - 3.04 * Abs_{665} \left(\frac{\mu g}{poço} \right)$

1307

1308 *Prolina*

1309 A extração foi realizada com 20 mg de matéria seca fina e homogênea, e foi adicionado em
 1310 microtubos de 2000 µL, em seguida foi adicionado 2000 µL de H₂O destilada estéril,
 1311 homogeneizada e colocado em banho-maria por 30 minutos a 100°C. Após incubação as
 1312 amostras foram centrifugadas a 2.500 rpm por 5 minutos e os sobrenadantes foram coletados e
 1313 obtido o extrato, na determinação de prolina em microtubo, 400 µL de mix de reação (C₂H₄O₂
 1314 puro, H₃PO₄ 6M e C₉H₆O₄ pura), 400 µL de ácido acético a 100% e se adicionou 400 µL de
 1315 extrato, em seguida incubado a 100°C por 60 minutos. A reação foi paralisada com choque
 1316 térmico. E se adicionou 800 µL de tolueno a 100 % e se agitou por 30 segundo. As amostras
 1317 foram mantidas por 20 minutos a 28 °C, e se realizou a leitura em espectrofotômetro a 365 nm,
 1318 os valores de Prolina foram expressos em (µM de Prolina / 400 µL de extrato) calculado como
 1319 definido por Bates et al (1973).

1320

1321 *Determinação da concentração de aldeído malônico (MDA)*

1322 Foram macerados 80 mg de massa foliar fresca (MF) em nitrogênio líquido seguido de
1323 homogeneização em 2 mL de ácido tricloroacético (TCA) (0.1% p/v). O homogeneizado foi
1324 centrifugado a 13.000rpm por 10 minutos a 4°C e o sobrenadante foi coletado e utilizado nas
1325 determinações das concentrações de MDA. Foram adicionados 500µL do sobrenadante em um
1326 tubo de microcentrifuga contendo 1.5mL da solução de ácido tiobarbitúrico (TBA) (0.5%) em
1327 TCA 20%. As amostras foram incubadas por 20 minutos a 90°C em bloco-seco. A reação foi
1328 parada em banho de gelo por 5 min. As amostras foram centrifugadas a 13.000g por 4 minutos.
1329 A absorbância da mistura da reação foi determinada a 532nm em espectrofotômetro. Utilizou-
1330 se para os cálculos, o coeficiente de absorvidade molar de 155 mM cm⁻¹ e os resultados foram
1331 expressos em nmol g⁻¹ de MF (Cakmak e Host, 1991).

1332

1333 *Análise estatística*

1334 Os dados obtidos nos experimentos de tolerância ao estresse abiótico e em casa de
1335 vegetação foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias dos tratamentos
1336 dentro da mesma lâmina de água no solo foram comparadas pelo teste de média Duncan ($p <$
1337 0.05) em programa SPSS 21.0, e erro padrão ($p < 0.05$). E os dados obtidos do teste de
1338 concentração de MDA foram submetidos ao teste t ($p < 0.05$) e erro padrão ($p < 0.05$).

1339

1340 **Resultados**

1341

1342 *Germinação, Crescimento de plantas e potencial hídrico*

1343 A germinação de sementes de arroz somente foi afetada negativamente quando submetidas ao
1344 déficit hídrico (com PEG). Entretanto, em relação ao controle, sementes inoculadas com BRM
1345 32111 apresentaram maior a germinação das sementes em 61%, Ψ_{am} em 32%, comprimento
1346 total em 26% e em 40% o aumento em biomassa total comparado a plantas controle (Fig. 1).

1347 Enquanto que, plantas com BRM 32113 diferiram do controle apenas para as variáveis
1348 comprimento de plantas e biomassa total, em 21% e 64%, respectivamente. Plantas inoculadas
1349 com as PGPR, submetidas ou não em condições de déficit, tiveram aumento na velocidade de
1350 germinação.

1351

1352 *Anatomia de estômatos e raízes*

1353 A *P. fluorescens* BRM-32111 induziu modificações em todas as variáveis anatômicas
1354 das plantas sob déficit hídrico. As raízes apresentaram maior diâmetro radicular, em 27%, em
1355 20% no cilindro vascular, em 50% nos elementos de vaso do xilema, em 25% nos poros de
1356 protoxilema, em 71% espessura do córtex. As folhas obtiveram aumento da densidade de
1357 estômato em 56%, redução no comprimento do poro estomático em 22% e na área do poro
1358 estomática em 20% (Fig. 2; Fig. 3). Plantas com BRM 32113 induziram aumento em 35% o
1359 diâmetro radicular, em 33% nos poros de protoxilema, em 100% espessura do córtex, em 52%
1360 na densidade de estômato e em 10% na redução no comprimento do poro estomático (Fig. 2;
1361 Fig. 3).

1362

1363 *Trocas gasosas*

1364 Todas as plantas tiveram alterações nas trocas gasosas quando submetidas ao déficit
1365 hídrico. Em relação a planta controle, plantas com BRM 32111 tiveram aumento em 128% na
1366 taxa de assimilação líquida de carbono, em 17% no C_i / C_a , em 26% na taxa de transpiração
1367 (E), em 75% na eficiência do uso da água e em 17% eficiência de carboxilação da rubisco ($A /$
1368 C_i). E plantas com BRM 32113, ocorreu um aumento na taxa de assimilação líquida de carbono
1369 em 127%, (C_i / C_a) em 18%, taxa de transpiração (E) em 33%, condutância estomática ao vapor
1370 de água (g_s) em 39% eficiência do uso da água em 66%, e em 18% eficiência de carboxilação
1371 da rubisco (A/C_i) (Fig. 4).

1372 *Pigmentos fotossintetizantes e osmorreguladores*

1373 Todas as plantas tiveram reduções nos parâmetros de trocas gasosas e
1374 osmorreguladores. Entretanto, em relação ao controle, as plantas inoculadas com BRM 32111
1375 tiveram aumento de clorofila a em 6% e clorofila b em 14%, prolina em 47% e redução em 47%
1376 de MDA. Quando inoculadas com BRM 32113, plantas tiveram aumento na clorofila a em 7%,
1377 clorofila b em 23%, relação clorofila a/b em 15%, clorofila total em 10% e em 36% em MDA
1378 (Fig. 5).

1379

1380 **Discussão**

1381

1382 *Germinação, Crescimento de plantas e potencial hídrico*

1383 O presente estudo demonstra a ação positiva de PGPR BRM 32111 como regulador e
1384 indutor de tolerância a seca, atuando na promoção do crescimento, bem como o alívio do
1385 estresse ao déficit hídrico nas plantas de arroz. A germinação é um dos estágios mais críticos
1386 de um ciclo de desenvolvimento de culturas que é conhecido por ser afetado pelo estresse
1387 hídrico (Sleimi et al., 2013). E nas sementes com PEG e inoculadas com BRM-32111 ocorreu
1388 a maior germinação e IVG (Fig. B; Fig. F), e na planta em déficit o maior Ψ_{am} (Fig. 1F).
1389 Estudos demonstram que as rizobactérias mediam a biossíntese de reguladores de crescimento
1390 de plantas incluindo auxinas, giberelinas e citocinina. As auxinas atuam na divisão celular e
1391 diferenciação de células e tecidos de plantas, além de estimular a germinação, aumento da taxa
1392 de desenvolvimento radicular de raízes laterais e raízes adventícias (Gamalero e Glick, 2011).
1393 E a giberelina atua na síntese de enzimas hidrolíticas durante a germinação que degradam as
1394 reservas cotiledonares e que auxiliam no crescimento de embrião e plântula (Taiz e Zeiger,
1395 2010). Em condições de déficit hídrico os gêneros *Azospirillum*, *Bacillus*, *Burkholderia* e
1396 *Pseudomonas* são amplamente relatados por sua capacidade de aumentar a taxa de germinação
1397 e o IVG em gramíneas e cereais (Lucy et al., 2004; Kaymak, 2011; Sivasakthivelan E Saranraj,

2013), assim como no presente estudo, as PGPR (BRM 32111 e BRM 32113) podem ter acelerado a modulação da síntese de reguladores de crescimento e auxiliando desde o início do processo germinativo nas sementes de arroz, mesmo em condição de déficit hídrico.

A privação de água nas plantas está intimamente relacionada com o a redução no desempenho do crescimento vegetativo (Tardieu et al., 2011; Vile et al., 2012). O que não ocorreu em plantas inoculadas com as PGPR (BRM-32111 e BRM-32113) que tiveram aumento no comprimento (Fig. 1D), e acúmulo de biomassa (Fig. 1F), o que pode ser atribuído tanto a capacidade dessas rizobactérias produzirem ácido indol-3-acético (AIA) (Mohite 2013) quanto por mediar a síntese de AIA, como registrado para esses gêneros de bactérias (Patten e Glick, 1996; Vessey, 2003). Em plantas de *Phaseolus vulgaris* L. submetidas ao déficit hídrico e inoculadas com *P. fluorescens* ocorreu o maior acúmulo em biomassa (Ghorbanpour et al., 2013), e aumento no crescimento radicular em plantas de trigo, canola e girassol (Abbass e Okon, 1993, Vikram et al., 2007), assim como ocorreu em nossas plantas sob déficit hídrico, provavelmente as PGPR (BRM 32111 e BRM 32113) podem estar atuando na modulação hormonal, o que auxiliaria na mitigação dos danos ao crescimento da planta. E o maior Ψ_{am} em plantas com PGPR estimulou a manutenção do crescimento das raízes e folhas das plantas de arroz. Assim como foi verificado por (Seyed et al., 2012). Deste modo, alterando a plasticidade anatômica para manter ou aumentar o potencial hídrico.

Anatomia de estômatos e raízes

O estresse pela seca é percebido e respondido principalmente pelas raízes, e a expansão no sistema radicular é uma ferramenta de gerenciamento de estresse auxiliando na manutenção do crescimento, de absorção de nutrientes do solo e aumento na condutividade hidráulica da raiz através de aumento de comprimento e número de pelos radiculares (Lopes et al., 2011; Miyahara et al., 2011), anatomicamente a seca induz a redução do diâmetro radicular e cilindro

1423 vascular Uga et al. (2008). No entanto nas raízes das plantas inoculadas com BRM-32111 e
1424 BRM-32113 esse gerenciamento de resposta ao estresse ocorreu através do aumento do
1425 diâmetro radicular, número de poro de protoxilema e espessura do córtex, e aumento no cilindro
1426 vascular em plantas com BRM-32111 (Fig. 2; Fig 3), o que pode ser devido ao estímulo das
1427 barreiras pré-existentes nas plantas como a presença de esclerênquima que é mais suberizada
1428 do que a exoderme e que consiste em células firmemente embaladas de menor diâmetro do que
1429 outras células da raiz (Comer et al., 1998), e a expressão de aquaporina por raízes de arroz
1430 estressadas pela seca, que tem sido diretamente relacionada a condutividade hidráulica na
1431 cultura sobre seca (Sakurai et al., 2005; Lian et al., 2006), todas estas alterações podem ter
1432 promovido a manutenção de potencial hídrico e manutenção de concentrações adequadas de
1433 solutos no citosol e matriz celular que resulta no desenvolvimento celular e na manutenção do
1434 crescimento, através das alterações anatômicas radiculares que auxiliam na absorção e
1435 transporte de nutriente e água, quando essas adaptações não ocorrem estes efeitos são contrários
1436 (Seyed et al., 2012), e culminam na alteração da elasticidade da parede celular da planta com a
1437 perturbação da homeostase e distribuição iônica na célula, e o comprometimento da síntese de
1438 novas proteínas e mRNAs associada à resposta à seca (Seyed et al., 2012). Nas etapas seguintes
1439 ocorre o acúmulo de ácido abscísico (ABA) e osmólitos como a prolina e a perda de vigor e
1440 murcha, que pode elevar a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), e formação de
1441 compostos de remoção de radicais (ascorbato e glutathione) (Seyed et al., 2012).

1442 As plantas mais adaptadas ao déficit hídrico possuem um número maior de estômatos
1443 por unidade de área, com dimensões menores dos poros estomáticos, assim como relatado em
1444 estudos com folhas de *Quercus ilex*, *P. latifolia*, *P. lentiscus* (Merkulov et al. 1997, Gratani
1445 2013), essas alterações anatómicas ocorreram em plantas de arroz inoculadas com BRM-32111
1446 e BRM-32113 (Fig. 2; Fig 3). Os estômatos da folha são considerado uma porta que controla a
1447 troca de CO₂ que atua como substrato fotossintético no espaço intercelular (Boyer et al., 1997;

1448 Buckley, 2005), e em condições de estresse hídrico induz na planta ao fechamento estomático
1449 para reduzir a perda de água através da taxa de transpiração (E) o que estimula a redução na
1450 absorção de CO_2 que pode culminar na redução da fotossíntese (Jong Kuk Na, 2005; Terashima
1451 et al, 2001). Plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) foram inoculadas com *Paenibacillus*
1452 *polymyxa* e *Rhizobium tropici* e submetidas a déficit hídrico resultaram em mudanças na
1453 regulação das trocas gasosas, e foi atribuído a redução do conteúdo e biossíntese de ABA que
1454 permitiram a abertura estomática e a taxa de assimilação líquida de CO_2 (A). Em estudos com
1455 a PGPR com *Pseudomonas syringae* mostraram que são capazes de produzir uma substância
1456 chamada coronatina, que é responsável pela inibição da sinalização de ABA. (Figueiredo et al.,
1457 2008, Melotto et al., 2006). Apesar da redução do poro estomático o aumento na densidade de
1458 estômatos nas plantas inoculadas com BRM-32111, pode ter influenciado diretamente na
1459 transpiração afetando no turgor das células e manutenção do potencial o que pode ter influenciar
1460 no aumento da taxa fotossintética e WUE.

1461

1462 Trocas gasosas

1463 A sinalização entre raiz-folha causada pela seca, é provocada pela seca do solo através do fluxo
1464 de transpiração, resultando no fechamento estomático (Anjum et al., 2011), as concentrações
1465 mais elevadas de ABA nas folhas de plantas inoculadas pode explicar a menor taxa de
1466 transpiração resultante do fechamento estomático. Algumas bactérias têm a capacidade de
1467 modular as trocas gasosas e o metabolismo ABA, Zhang et al. (2008), é provável que o aumento
1468 na densidade de estômatos em plantas com BRM-32111 e BRM-32113 tenha induzido o
1469 aumento na taxa de assimilação líquida de carbono (A) em relação a plantas controle (Fig. 2F;
1470 Fig. 4A), esse aumento na A também ocorreu em plantas inoculadas com *Bacillus subtilis* e foi
1471 associado a diminuição das concentrações de ABA em plantas de *A. thaliana*, e em
1472 plantas de videiras inoculadas com *Pseudomonas* sp., *Acinetobacter* sp., e *Bacillus* sp. (Zhang

et al. 2008; Rolli et al., 2014). Esse aumento em A , está diretamente relacionado com o aumento na razão C_i / C_a (Fig. 4B), plantas nestas condições apresentam limitações estomáticas que influenciaram na fotossíntese, pela diminuição da disponibilidade de CO_2 no mesófilo e sítios de carboxilação (Rolli et al., 2014), no entanto as BRM-32111 e BRM-32113 auxiliaram a planta na resposta ao déficit hídrico mitigando os danos no aparato fotossintético e mantendo seu potencial como promotor de crescimento, melhorando a disponibilidade de $[CO_2]$, o que influenciou na transpiração e condutância estomática.

Os micro-organismos benéficos podem ter a capacidade de diminuir a resistências do estômato influenciando na troca gasosa através do aumentado fluxo de transpiração, quando a resistência estomática baixa e induz o aumento de g_s e E (Subramanian et al., 1995), assim como ocorreu nas plantas de arroz inoculadas com BRM-32111 e BRM-32113 (Fig.4C; Fig.4D), em plantas inoculadas com micorrizas arbusculares (AM) a condutância estomática foi significativamente maior (25%), e em plantas de milho tratadas com uma mistura de micro-organismos houve aumento a taxa de transpiração (E) (Liu et al., 2005, Zoppellari et al., 2014). Estes estudos identificaram que as plantas com micro-organismos benéficos são capazes de abrir os estômatos por mais tempo, além de induzir as modificações anatômicas de redução de tamanho e aumento de número de estômatos por unidade de área o que é facilitado devido a plasticidade fenotípica nas plantas como resposta de adaptação para aumentar a tolerância ao déficit hídrico (Liu et al., 2005; Wang et al., 2012),

A regulação da eficiência de carboxilação da rubisco (A / C_i) está fortemente ligada à irradiância, ao nitrogênio e a eficiência de uso da água (Ainsworth & Long 2005; Leakey et al. 2009), em plantas de arroz com BRM-32111 e BRM-32113 ocorreu aumento em A / C_i e WUE (Fig. 4F). Esse comportamento pode ser devido a manutenção da atividade rubisco que catalisa a carboxilação de ribulose-1,5-Bisfosfato (RuBP), permitindo a assimilação líquida de CO_2 , as PGPR podem influenciar o WUE nas plantas através do incremento radicular em plantas em

1498 condições de seca, assim em plantas inoculadas com *Phyllobacterium brassicacearum* ocorreu
1499 o maior acúmulo de biomassa e modificações da arquitetura da raiz, deste modo a presença de
1500 bactérias pode ter aumentado a capacidade de absorção de água, que tiveram aumentou o
1501 comprimento da raiz lateral, e a densidade e comprimento dos pelos radiculares (Mantelin et
1502 al., 2006; Kechid et al., 2013; Galland et al., 2012). Em plantas com BRM-32111 e BRM-
1503 32113, provavelmente o aumento de A, influenciou diretamente a A / Ci e resultou em aumento
1504 na WUE, estes resultados indicam que a sinalização raiz-folha impulsionado pela seca, é
1505 induzido pelo déficit hídrico através do fluxo de transpiração (solo-planta-atmosfera),
1506 resultando em alterações nas trocas gasosas que foram influenciados pela interação solo – planta
1507 – PGPR, mitigando danos no aparato fotossintético.

1508

1509 *Pigmentos fotossintetizantes e osmorreguladores*

1510 A diminuição do teor de clorofila sob estresse é considerado um sintoma típico de
1511 estresse oxidativo e pode ser o resultado de foto-oxidação de pigmento e degradação da clorofila
1512 (Rahman et al., 2002). No entanto as plantas inoculadas com BRM-32111 e BRM-32113 sob
1513 déficit hídrico tiveram aumento no acúmulo de clorofila a e clorofila b, (Fig. 5A; Fig. 5B),
1514 assim como em nosso estudo as plantas de milho (*Zea mays* L) inoculadas com micorrizas
1515 tiveram aumento nas concentrações de clorofila a e clorofila b. Isto sugere que o incremento da
1516 concentração de pigmentos nas plantas se deve ao bioagente aplicado, o qual atua mitigando os
1517 danos sobre os pigmentos fotossintéticos presentes nos cloroplastos (Evelin et al., 2009; Rolli
1518 et al., 2012), as PGPRs podem ter induzido o aumento de carotenóides que são pigmentos
1519 acessórios que absorvem os fótons e transferem a energia de excitação para centros de reação
1520 via clorofila, e protegem a clorofila da foto-oxidação, os carotenóides também servem como
1521 antioxidantes contra os radicais livres e danos fotoquímicos (Mishra et al., 2006). A perda de
1522 teores de clorofila sob estresse hídrico é considerada uma das principais causas de diminuição

1523 de fotossíntese. Além disso, a redução do teor de clorofila pode ser atribuída à perda das
1524 membranas de cloroplasto, através das reações de enzimas solúveis em água localizadas no
1525 estroma cloroplasto (ciclo de Calvin) ou na fronteira entre estroma e tilacóides (ATP-ase,
1526 redução de NO_2 , e redução de NADP^+) que são afetadas pelo estresse osmótico. Estudos
1527 indicam que a maior perda de clorofila em plantas em resposta a déficit hídrico ocorre nas
1528 células do mesófilo e menor nas células do feixe bainha (Kaiser et al., 1981; Guerfel et al.,
1529 2009), no entanto as PRGP tiveram efeito mitigador aos danos causados pelo déficit hídrico na
1530 manutenção do acúmulo dos pigmentos uma vez que, o principal componente do cloroplasto é
1531 a clorofila, sendo este um dos efeitos que podem resultar na maior taxa de assimilação líquida
1532 de carbono.

1533 O maior acúmulo de prolina nas plantas ocorre como resposta de tolerância ao déficit
1534 hídrico induzida pelas PGPR (Serraj and Sinclair, 2002), de acordo como ocorreu com plantas
1535 de arroz inoculadas com BRM-32111 e BRM-32113 (Fig.5E), como mostrado por estudos com
1536 diferentes estresses (déficit hídrico, salinidade, baixa temperatura, exposição a metais pesados,
1537 radiações UV) que podem estimular o acúmulo de prolina na planta, sendo um composto
1538 orgânico, altamente solúvel, de baixo peso molecular, e geralmente não tóxico em altas
1539 concentrações celulares e atuam na proteção das plantas (no ajuste osmótico celular e
1540 desintoxicação de espécies reativas de oxigênio (ROS), proteção da integridade da membrana,
1541 das enzimas e estabilização das proteínas (Yancey 1994; Hare et al 1998; Munns 2005, Rhodes
1542 et al., 2002; Naidu et al., 1991; Bassi and Sharma 1993; Sharma and Dietz 2006). Nas
1543 estruturas subcelulares (por exemplo, membranas e proteínas), ocorre a eliminação de radicais
1544 livres e buffer de potencial redox celular sob condições de estresse e pode atuar também
1545 aliviando a acidose citoplasmática e mantendo NADP^+ / NADPH compatíveis com o
1546 metabolismo. Sua acumulação normalmente ocorre no citoplasma onde ele funciona como

chaperons moleculares estabilizando a estrutura das proteínas e seus tampões de acumulação
pH citosólico e mantém o estado redox celular (Ashraf and Foolad 2007; Hare and Cress 1997).

O aumento no acúmulo de MDA é considerado indicador de dano oxidativo nas plantas
em condições de estresse (Yang e Miao, 2010), em plantas inoculadas com BRM-32111 e
BRM-32113 houve menor acúmulo de MDA (Fig. 5F) resultando na proteção das membranas,
uma vez que as altas concentração de MDA produzidos durante a peroxidação de lipídeos é forte
indicador do dano celular causado a membrana que atua na diminuição da estabilidade da membrana
que reflete na extensão da peroxidação lipídica (Liang et al., 2003). Além disso, a peroxidação
lipídica é um indicador da reação de radicais livres em tecidos, onde a captação de carga de
oxigênio nos tecidos gera espécies reativas de oxigênio (ROS), particularmente H_2O_2 que é
produzido a taxas elevadas pela oxidase do glicolato nos peroxissomos na fotorrespiração
(Yang e Miao, 2010; Moller et al. AL, 2007). Assim as PGPR nas plantas induzem respostas
que auxiliam na mitigação dos danos de ROS e peroxidação lipídica das membranas, assim
atuando na manutenção do crescimento mesmo em condições de estresse.

Conclusão

As modificações anatômicas e fisiológicos em planta de arroz de terras altas inoculadas
com BRM-32111 e BRM-32113 atuam com efeito mitigador dos danos causados pelo déficit
hídrico. Com destaque para BRM-32111 na germinação com PEG, nas plantas em Ψ_m , com
o acúmulo maior de prolina e o menor MDA. Novos estudos devem ser realizados para avaliar
a funcionalidade destas PGPR em campo.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e
Tecnológico (CNPq), Fundação de Pesquisas da Amazônia (Fapesp) e a Universidade Federal

1572 Rural da Amazônia (UFRA) pelo financiamento da pesquisa, e a Agência Federal Brasileiro de
1573 Apoio e Avaliação da Educação Superior (CAPES) para a concessão de bolsas de estudos de
1574 doutorado.

1575

1576 Referência

1577 Abbass, Z. and Okon, Y. (1993). Plant growth promotion by in the rhizosphere. *Azotobacter*
1578 *paspali Soil Biology & Biochemistry* 25, 1075-1083

1579 Ainsworth E.A. & Long S.P. (2005) What have we learned from 15 years of free-air CO₂
1580 enrichment (FACE)? A meta-analytic review of the responses

1581 Ainsworth E.A. & Long S.P. (2005) What have we learned from 15 years of free-air CO₂
1582 enrichment (FACE)? A meta-analytic review of the responses

1583 Ali, G., Srivastava, P.S., Iqbal, M., 1999. Proline accumulation, protein pattern and
1584 photosynthesis in regenerants grown under NaCl stress. *Biol. Plant.* 42, 89–95.

1585 Allen DJ, Ort DR (2001). Impact of chilling temperatures on photosynthesis in warm climate
1586 plants. *Trends Plant Sci.*, 6: 36-42.

1587 Ashraf M, Foolad MR. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress
1588 resistance. *Environ Exp Bot* 2007; 59:206-16.

1589 Augé R.M. (2001): Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis.
1590 *Mycorrhiza*, 11: 3–42.

1591 Bassi R, Sharma SS. Changes in proline content accompanying the uptake of zinc and copper
1592 by *Lemna minor*. *Ann Bot (Lond)* 1993; 72:151-4;1993.1093.

1593 Bindraban PS, Hengsdijk H, Cao W, Shi Q, Thiagarajan TM, Van der Krogt W, Wardana IP
1594 (2006) Transforming inundated rice cultivation. *Water Resources Dev* 22: 87–100

1595 Bota, J.; Medrano, H.; Flexas, J. Is photosynthesis limited by decreased Rubisco activity and
1596 RuBP content under progressive water stress? *New Phytol.* v.162, p.671-681. 2004.

- 1597 Boyer JS, Wong SC, Farquhar CD. 1997. CO₂ and water vapor exchange across leaf cuticle
1598 (epidermis) at various water potentials. *Plant Physiology* 114, 185–191.
- 1599 Buckley TN. 2005. The control of stomata by water balance. *New Phytologist* 168, 275–292.
- 1600 Casati, E.; Previtali, F.; Gerbino, R.; Cei, F. P.; Borin, S.; Sorlini, C.; Zocchi, G.; Daffonchio,
1601 D. Improved plant resistance to drought is promoted by the root-associated microbiome as a
1602 water stress-dependent trait. *Environmental Microbiology* (2014). 1-16: 2014.
- 1603 Chaves, M.M., Zarrouk, O., Francisco, R., Costa, J.M., Santos, T., Regalado, A.P., *et al.* (2010)
1604 Grapevine under deficit irrigation: hints from physiological and molecular data. *Ann Bot* 105:
1605 661–676.
- 1606 Costa, L. M. From Biological Warfare to the Brighter Side of Rice Research. Published by
1607 Oxford University Press on behalf of Japanese Society of Plant Physiologists. *Plant and Cell*
1608 *Physiology*.v.53(4), p.603–605, set. 2012.
- 1609 Eisa, S., Hussin, S., Geissler, N., & Koyro, H. W. (2012). Effect of NaCl salinity on water
1610 relations, photosynthesis and chemical composition of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) as
1611 a potential cash crop halophyte. *Australian Journal of Crop Science*, 6, 357–368.
- 1612 Evelin H., Kapoor R., Giri B. (2009): Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress:
1613 a review. *Annals of Botany*, 104: 1263–1280.
- 1614 Figueiredo MVB, Burity HA, Mart_inez CR, Chanway CP. 2008. Alleviation of drought stress
1615 in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by co-inoculation with *Paenibacillus polymyxa*
1616 and *Rhizobium tropici*. *Applied Soil Ecology* 40: 182–188.
- 1617 Filippi, M. C. C.; Silva, G. B.; Silva-Lobo, V. L.; Côrtes, M. V. C. B.; Moraes, A. J. G.; Prabhu,
1618 A. S. Leaf blast (*Magnaporthe oryzae*) suppression and growth promotion by rhizobacteria on
1619 aerobic rice in Brazil. *Biological Control*. v.58, p. 160–166. 2011
- 1620 Flexas, J., Baron, M., Bota, J., Ducruet, J. M., Galle, A., Galm_es, J., Medrano, H. (2012).
1621 Photosynthesis limitations during water stress acclimation and recovery in the drought-adapted

1622 Vitis hybrid Richter- 110 (V. berlandierixV. rupestris). Journal of Experimental Botany, 60,
 1623 2361–2377.

1624 Genard, H., Le Saos, J., Hillard, J., Tremolieres, A., Boucaud, J., 1991. Effect of salinity on
 1625 lipid composition, glycine betaine content and photosynthetic activity in chloroplasts of Suaeda
 1626 maritime. Plant Physiol. Biochem. 29, 421–427.

1627 Ghorbanpour, M.; Hatami, M.; Khavazi, K. Role of plant growth promoting rhizobacteria on
 1628 antioxidant enzyme activities and tropane alkaloid production of *Hyoscyamus niger* under water
 1629 defiit stress. Turkish Journal of Biology. Turk J Biol
 1630 (2013) 37: 350-360.

1631 Gratani, L., Catoni, R. and Varone, L., Morphological, anatomical and physiological leaf traits
 1632 of *Q. ilex*, *P. latifolia*, *P. lentiscus*, and *M. communis* and their response to Mediterranean
 1633 climate stress factors. Gratani et al. Botanical Studies 2013, 54:35

1634 Guerfel M, Baccouri O, Boujnah D, Chaibi W, Zarrouk M (2009). Impacts of water stress on
 1635 gas exchange, water relations, chlorophyll content and leaf structure in the two main Tunisian
 1636 olive (*Olea europaea* L.) cultivars. Sci. Horticult., 119: 257-263

1637 Hare PD, Cress WA, Van Staden J. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress.
 1638 Plant Cell Environ 1998; 21:535-53;

1639 Hare PD, Cress WA. Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants.
 1640 Plant Growth Regul 1997; 21:79-102

1641 Hsu, S.Y., Hsu, Y.T., Kao, C.H., 2003. The effect of polyethylene glycol on proline
 1642 accumulation in rice leaves. Biol. Plant. 46, 73–78.

1643 Zoppellari F.; Malusà E, Chitarra W, Lovisolo C , Spanna F , Bardi L. Improvement of drought
 1644 tolerance in maize (*Zea mays* L.) by selected rhizospheric microorganisms.. Italian Journal of
 1645 Agrometeorology - 1/2014.

1646 Jong KukNa, B.S., 2005. Genetic Approaches to Improve Drought Tolerance of Tomato and
 1647 Tobacco. Ph.D. Thesis. The Ohio State University, 93.

1648 Joyce, D.C., Aspinall, D., Edwards, G.R., 1983. Water deficit and the growth and anatomy of
 1649 the radish fleshy axis. *New Phytol.* 93, 439–446.

1650 Kaiser WM, Kaiser G, Schöner S, Neimanis S (1981). Photosynthesis under osmotic stress.
 1651 Differential recovery of photosynthetic activities of stroma enzymes, intact chloroplasts and
 1652 leaf slices after exposure to high solute concentrations. *Planta*, 153: 430-435.

1653 Kano-Nakata, M.; Inukai, Y.; Wade, L. J.; Siopongco, J. D. L. C.; Yamauchi, A. Root
 1654 Development, Water Uptake, and Shoot Dry Matter Production under Water Deficit Conditions
 1655 in Two CSSLs of Rice: Functional Roles of Root Plasticity. *Plant Prod. Sci.* v. 14(4),
 1656 p.307—317, Mai. 2011.

1657 Kavi Kishore, P.B., Sangam, S., Amrutha, R.N., Laxmi, P.S., Naidu, K.R., Rao, K.R.S.S., Rao,
 1658 S., Reddy, K.J., Theriappan, P., Sreenivasulu, N., 2005. Regulation of proline biosynthesis,
 1659 degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic
 1660 stress tolerance. *Curr. Sci.* 88, 424–438.

1661 Kaymak, H. (2011). Potential of PGPR in agricultural innovations. “Plant Growth and
 1662 Health In Promoting Bacteria” (D.K. Maheshwari, ed.), pp 45-79. Springer Berlin Heidelberg,
 1663 Germany

1664 Kaymak, H. (2011). Potential of PGPR in agricultural innovations. “Plant Growth and
 1665 L.S. BATES; R.P. WALDREN; I.D. TEARE. Rapid determination of free proline for water
 1666 stress studies. Short communication. *Plant and Soil*, v. 39, p.205-207, 1973.

1667 Lawlor, D. W., & Tezara, W. (2009). Causes of decreased photosynthetic rate and metabolic
 1668 capacity in water-deficient leaf cells: A critical evaluation of mechanisms and integration of
 1669 processes. *Annals of Botany*, 103, 561–579

1670 Leakey A.D.B., Ainsworth E.A., Bernacchi C.J., Rogers A., Long S.P. & Ort D.R. (2009)
 1671 Elevated CO₂ effects on plant carbon, nitrogen, and water relations: six important lessons from
 1672 FACE. *Journal of Experimental Botany* 60, 2859–2876.

1673 Lian H-L, Yu X, Lane D, Sun W-N, Tang Z-C, Su W-A. 2006. Upland rice and lowland rice
 1674 exhibited different PIP expression under water deficit and ABA treatment. *Cell Research* 16,
 1675 651–660.

1676 LIANG, Y.C.; CHEN, Q.; LIU, Q.; ZHANG, W.H.; DING, R.X.Exogenous silicon (Si)
 1677 increases antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in roots of salt-stressed
 1678 barley (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of Plant Physiology*, v.160, p.1157-1164, 2003.
 1679 PMid:14610884.

1680 Lopes, M.S., Araus, J.L., van Heerden, P.D., Foyer, C.H., 2011. Enhancing drought tolerance
 1681 in C (4) crops. *J. Exp. Bot.* 62, 3135e3153.

1682 Lucy, M., Reed, E. and Glick, B. R. (2004). Applications of free living plant growth-promoting
 1683 rhizobacteria., 1-Antonie Van Leeuwenhoek 86 25

1684 Marasco, R., Rolli, E., Ettoumi, B., Vigani, G., Mapelli, F., Borin, S., *et al.* (2012) A drought
 1685 resistance-promoting microbiome is selected by root system under desert farming. *PLoS ONE*
 1686 7: e48479.

1687 Marguerit, E., Brendel, O., Lebon, E., Van Leeuwen, C., and Ollat, N. (2012) Rootstock control
 1688 of scion transpiration and its acclimation to water deficit are controlled by different genes. *New*
 1689 *Phytol* 194: 416–429.

1690 Melotto M, Underwood W, Koczan J, Nomura K, He SY. 2006. Plant stomata function in innate
 1691 immunity against bacterial invasion. *Cell* 126: 969–980.

1692 Mishra S, Srivastava S, Tripathi RD, Govindrajan R, Kuriakose SV, Prasad MNV (2006)
 1693 Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa*
 1694 *monnieri* L. *Plant Physiol Biochem* 44:25–37

1695 Miyahara, M., Takenaka, C., Tomioka, R., Ohta, T., 2011. Root responses of Siberian larch to
 1696 different soil water conditions. *Hydrol. Res. Lett.* 5, 93-97.

1697 Mohanty, A., Kathuria, H., Ferjani, A., Sakamoto, A., Mohanty, P., Murata, N., Tyagi, A.K.,
 1698 2002. Transgenics of an elite indica rice variety Pusa Basmati 1 harbouring the *cod4* gene are
 1699 highly tolerant to salt stress. *Theor. Appl. Genet.* 106, 51-57.

1700 Mohite. B. Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from
 1701 rhizospheric soil and its effect on plant growth. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* ,
 1702 2013, 13(3), 638-649

1703 Moller IM, Jensen PE, Hansson A (2007). Oxidative modifications to cellular components in
 1704 plants. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 58: 459-481.

1705 Munns R. Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytol* 2005; 167:645-63.
 1706 *New Phytologist* 129, 643 -650.

1707 Naidu BP, Paleg LG, Aspinall D, Jennings AC, Jones GP. Amino acid and glycine betaine
 1708 accumulation in coldstressed wheat seedlings. *Phytochem* 1991; 30:407-9;
 1709 of photosynthesis, canopy properties and plant production to rising CO₂. *New Phytologist* 165,
 1710 351-371.

1711 Oren, R.; Sperry, J.S.; Katul, G.G.; Pataki, D.E.; Ewers, B.E.; Phillips, N.; Schafer, K.V.R.
 1712 1999. Survey and synthesis of intra- and interspecific variation in stomatal sensitivity to vapour
 1713 pressure deficit. *Plant, Cell and Environment*, 22(12): 1515-1526.

1714 Ozturk, L., Demir, Y., 2002. In vivo and in vitro protective role of proline. *Plant Growth Regul.*
 1715 38, 259-264.

1716 Porra RJ, Thompson WA, Kriedemann PE (1989) Determination of accurate extinction
 1717 coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four
 1718 different solvents: Verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic
 1719 absorption spectroscopy. *Biochem Biophys Acta* 975: 384- 394.

- 1720 Rahman SML, Mackay WA, Quebedauex B, Nawata E, Sakuratani T (2002) Superoxide
1721 dismutase, leaf water potential, relative water content, growth and yield of a drought-sensitive
1722 tomato cultivars. *Subtrop Plant Sci* 54:16-22
- 1723 Raines C.A. (2003) The Calvin cycle revisited. *Photosynthesis Research* 75, 1-10. Parry
1724 M.A.J., Andralojc P.J., Khan S., Lea P.J. & Keys A.J. (2002) Rubisco activity: effects of
1725 drought stress. *Annals of Botany* 89, 833-839.
- 1726 Rêgo, M.C.F.; Ilkiu-Borges, F., Filippi, M.C.C.; Gonçalves, L.A; Silva, G.B. 2014.
1727 Morphoanatomical and Biochemical Changes in the Roots of Rice Plants Induced by Plant
1728 Growth-Promoting Microorganisms. *Journal of Botany* 2014: 1-10.
- 1729 Reinhardt, D. H. & Rost, T. L. "Salinity accelerates endodermal development and induces an
1730 exodermis in cotton seedling roots," *Environmental and Experimental Botany*, vol. 35, no. 4,
1731 pp. 563-574, 1995.
- 1732 Rhodes D, Nadolska-Orczyk A, Rich PJ. Salinity, osmolytes and compatible solutes In: Lauchli
1733 A, Luttge U, eds. *Salinity, Environment, Plant, Molecules*. Netherlands: Al-Kluwer Academic
1734 Publishers, 2002:181-204.
- 1735 Rhodes, D., Hanson, A.D., 1993. Quaternary ammonium and tertiary sulfonium compounds in
1736 higher-plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 44, 357-384
- 1737 Rolli, E.; Marasco, R.; Vigani, G.; Ettoumi, B.; Mapelli, F., Deangelis, M. L.; Gandolfi, C.;
1738 Zhu, X.C.; Song, F.B.; Liu, S.Q.; Liu, T.D. X. Zhou. Arbuscular mycorrhizae improves
1739 photosynthesis and water status of *Zea mays* L. under drought stress. *Plant soil environmental.*,
1740 58, 2012 (4): 186-191.
- 1741 S.A. Anjum, X. Xie, L. Wang, M.F. Saleem, C. Man, W. Lei. Morphological, physiological
1742 and biochemical responses of plants to drought stress. *Afr J Agric Res*, 6 (9) (2011), pp. 2026-
1743 2032

- 1744 Sakurai J, Ishikawa F, Yamaguchi T, Uemura M, Maeshima M. 2005. Identification of 33 rice
1745 aquaporin genes and analysis of their expression and function. *Plant and Cell Physiology* 46,
1746 1568–1577.
- 1747 Salvucci M.E. (1989) Regulation of Rubisco activity *in vivo*. *Physiologia Plantarum* 77, 164–
1748 171.
- 1749 Serraj R, Sinclair TR. Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under
1750 drought conditions? *Plant Cell Environ* 2002; 25:333-41.
- 1751 Sharma SS, Dietz KJ. The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in
1752 plant responses and adaptation to heavy metal stress. *J Exp Bot*
- 1753 Sivasakthivelan, P. and Saranraj, P. (2013). Azospirillum and its Formulations: A Review.
1754 *International Journal of Microbiological Research* 4, 275-287.
- 1755 Subramanian KS, Charest C, Dwyer LM, Hamilton RI. 1995. Arbuscular mycorrhizas and
1756 water relations in maize under drought stress at Tasseling. *New Phytologist* 129 , 643 –650.
- 1757 Tardieu F, Granier C, Muller B. 2011. Water deficit and growth. Co-ordinating processes
1758 without an orchestrator? *Current Opinion in Plant Biology* 14: 283–289.
- 1759 Tezara W., Mitchell V., Driscoll S.P. & Lawlor D.W. (2002) Effects of water deficit and its
1760 interaction with CO₂ supply on the biochemistry and physiology of photosynthesis in
1761 sunflower. *Journal of Experimental Botany* 53, 1781–1791.
- 1762 Uga Y, Okuno K, Yano M. 2008. QTLs underlying natural variation in stele and xylem
1763 structures of rice root. *Breeding Science* 58, 7–14.
- 1764 Vikram, A., Hamzehzarghani, H., Alagawadi, A. R., Krishnaraj, P. U. and Chandrashekar, B.
1765 S. (2007). Production of plant growth promoting substances by phosphate solubilizing bacteria
1766 isolated from vertisols. *Journal of Plant Sciences* 2, 326-333.

- 1767 Vikram, A., Hamzehzarghani, H., Alagawadi, A. R., Krishnaraj, P. U. and Chandrashekar, B.
1768 S. (2007). Production of plant growth promoting substances by phosphate solubilizing bacteria
1769 isolated from vertisols. *Journal of Plant Sciences* 2, 326-333.
- 1770 Vile D, Pervent M, Belluau M, Vasseur F, Bresson J, Muller B, Granier C, Simonneau T. 2012.
1771 *Arabidopsis* growth under prolonged high temperature and water deficit: independent or
1772 interactive effects? *Plant, Cell & Environment* 35: 702-718.
- 1773 Yancey PH. Compatible and counteracting solutes In: Strange K ed. *Cellular and Molecular*
1774 *Physiology of Cell Volume Regulation*. Boca Raton, FL: CRC Press,
- 1775 Yang F, Miao LF (2010). Adaptive responses to progressive drought stress in two poplar species
1776 originating from different altitudes. *Silva Fennica*, 44: 23-37.
- 1777 Yang, W.-J., Rich, P.J., Axtell, J.D., Wood, K.V., Bonham, C.C., Ejeta, G., Mickelbart, M.V.,
1778 Rhodes, D., 2003. Genotypic variation for glycine betaine in sorghum. *Crop Sci.* 43, 162-169.
- 1779 Zhang H, Xie X, Kim MS, Korniyev DA, Holaday S, Pare PW. 2008. Soil bacteria augment
1780 *Arabidopsis* photosynthesis by decreasing glucose sensing and abscisic acid levels in planta.
1781 *Plant Journal* 56: 264-273.
- 1782
- 1783
- 1784
- 1785
- 1786
- 1787

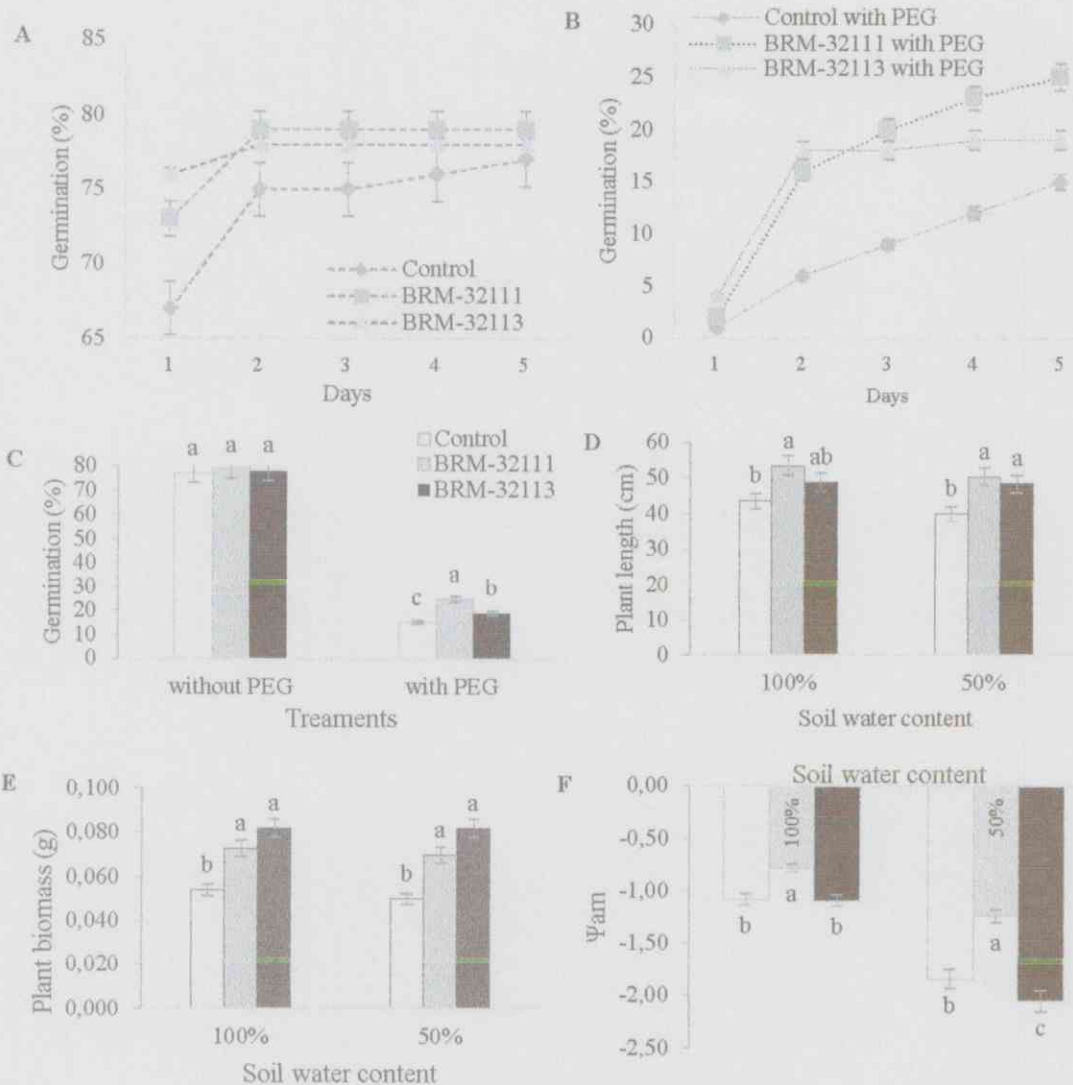


Figura 1. Germinação de sementes com água (A) e Polietilenoglicol - 6000(PA) (-1,2 Mpa) (B), e germinação aos cinco dias após semeadura (C), comprimento da planta (D), biomassa da planta (E) e potencial hídrico antemanhã (Ψ_{am}), aos 28 dias após semeadura e provenientes de sementes inoculadas com BRM-32111, BRM-32113 e controle com água.

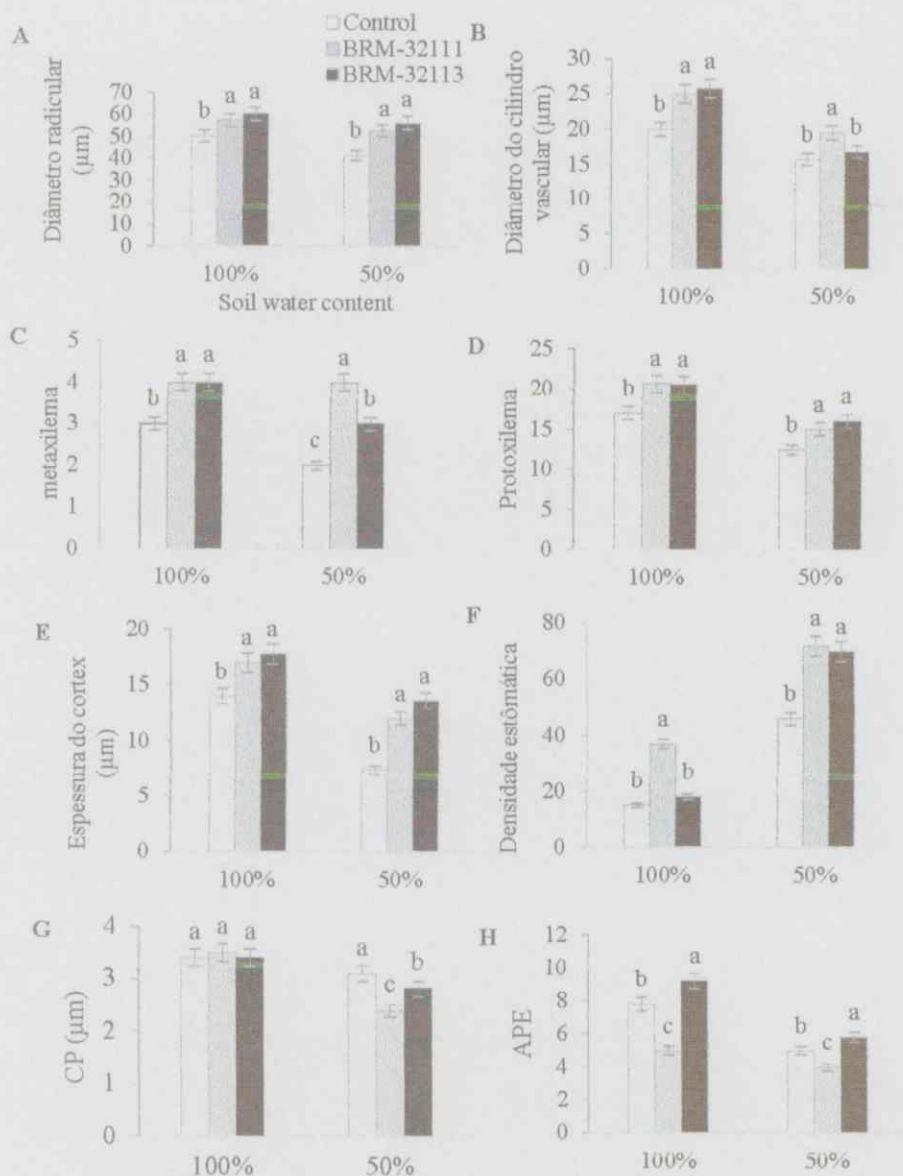


Figura 2. Anatomia de raiz e folha de plantas de arroz, diâmetro da raiz (A), cilindro vascular (B), polos de protoxilema (C), e elementos de vaso de metaxilema (D), espessura de córtex (E), densidade estomática (F), comprimento do estômato (CP) (G), área do poro estomático (APE) (μm^2) (H), aos 28 dias após a germinação, em solo com e sem déficit hídrico. Tratamento controle (não inoculado), e plantas inoculas com *Burkholderia pyrrocinia*-BRM-32113 e *Pseudomonas fluorescens* BRM-32111. Barras seguidas de mesma letra minúscula não diferem (Duncan, $p < 0.05$), $n=20$

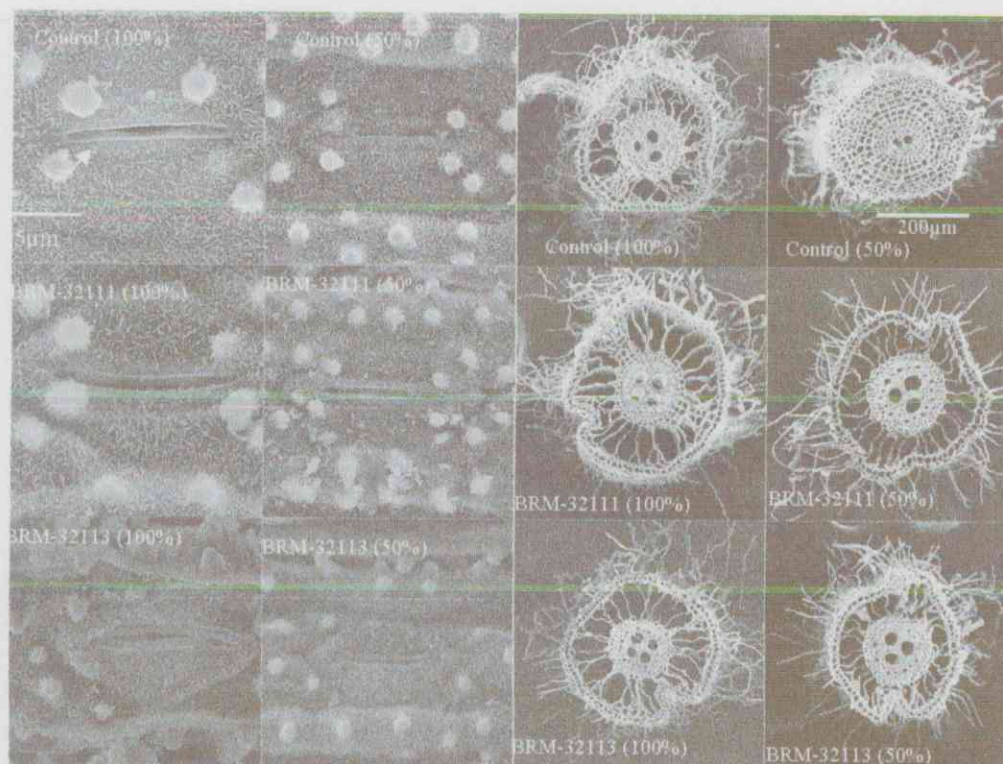


Figure 3. Eletromicrografias de raízes adventícias de arroz obtida a partir de sementes tratadas com PGPRs, 28 dias após a germinação. Plantas controle (Não inoculadas) e inoculadas com *Burkholderia pyrrocinia*-BRM-3213 e *Pseudomonas fluorescens*-BRM-3211, submetidas a lâminas de água no solo de 100 % da capacidade de campo (1), e 50 % da capacidade de campo. Estômatos (seta branca), Cilindro vascular (vc), pólos protoxilema (px), e elementos de vasos de metaxilema (mx), cortex (c), e diâmetro da raiz.

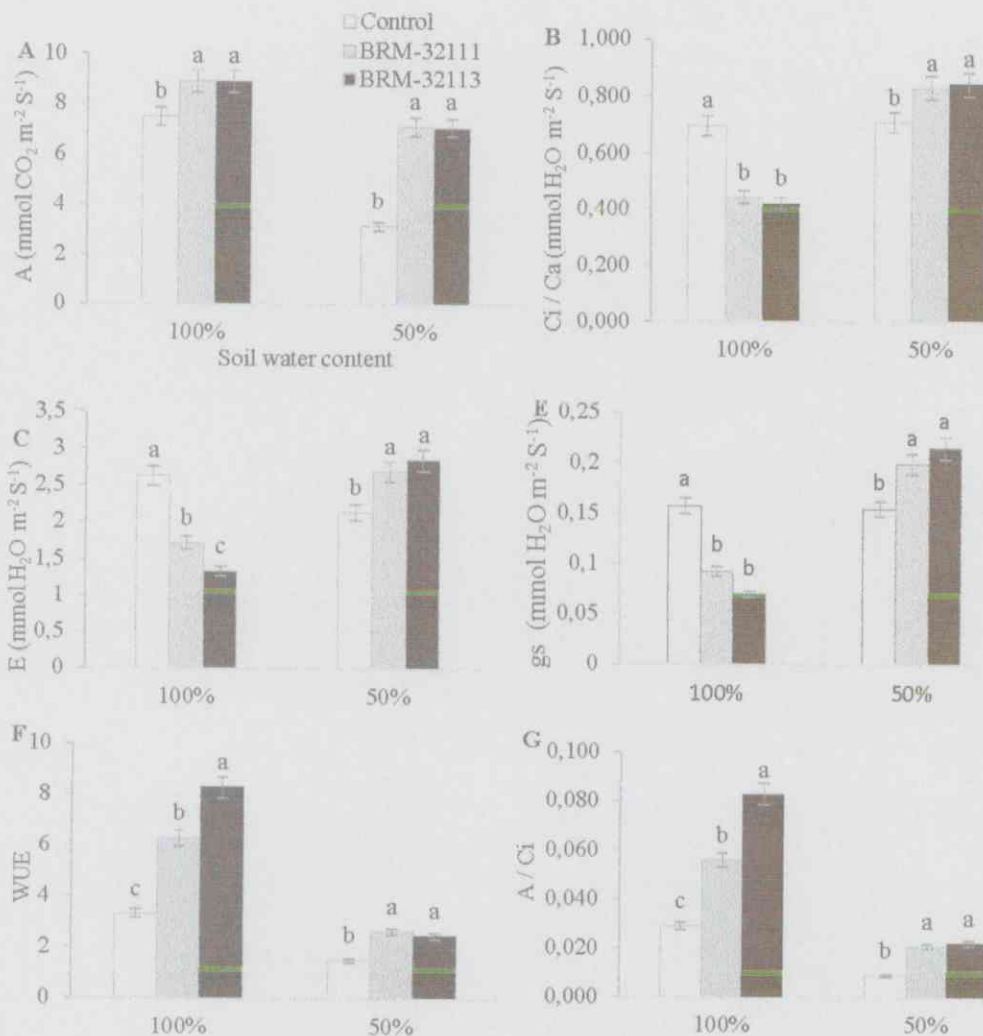


Figure 4. Taxa de assimilação líquida de carbono (A) ($\text{mmol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ S}^{-1}$) (A), condutância estomática ao vapor de água (g_s) ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ S}^{-1}$) (B), carbono intercelular (C_i) ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ S}^{-1}$) (C), taxa de transpiração (E) ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ S}^{-1}$) (D), uso eficiente da água (WUE) (A / E) (E), eficiência de carboxilação da rubisco (A / C_i), aos 28 dias após a germinação, em solo com e sem déficit hídrico. Tratamento controle (não inoculado), e plantas inoculadas com *Burkholderia pyrrocinia*-BRM-32113 e *Pseudomonas fluorescens* BRM-32111. Barras seguidas de mesma letra minúscula não diferem (Duncan, $p < 0,05$), $n=20$.

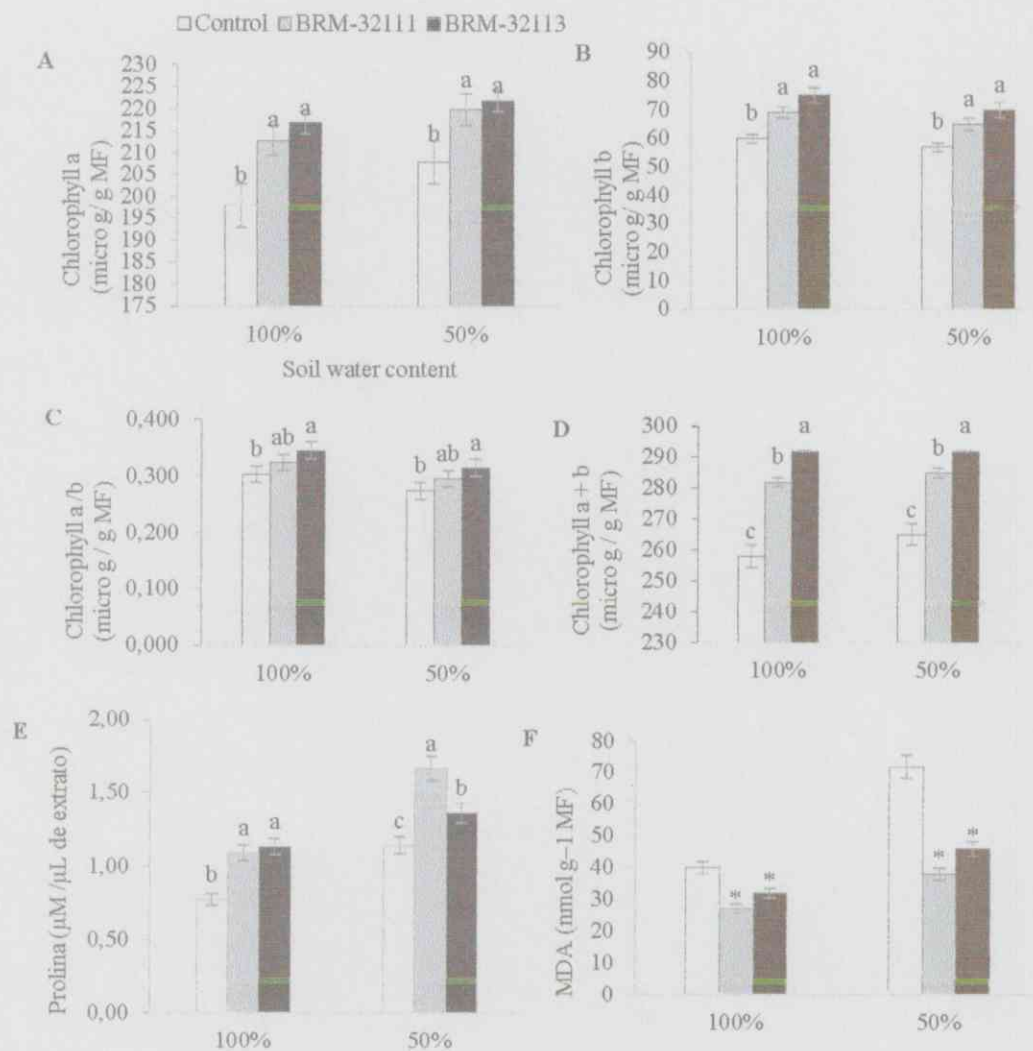


Figure 5. Clorofila a (micro g / g de MF) (A), clorofilaphyll b (micro g / g de MF)(B), chlorophyll a + b (micro g / g de MF)(C), chlorophyll a / b (micro g / g de MF)(D), Prolina (E), MDA (F), aos 28 dias após a germinação, em solo com e sem déficit hídrico. Tratamento controle (não inoculado), e plantas inoculas com *Burkholderia pyrrocinia*-BRM-32113 e *Pseudomonas fluorescens* BRM-32111. Barras seguidas de mesma letra minúscula não diferem (Duncan, $p < 0,05$), $n=20$.

1873
1874
1875
1876
1877
1878
1879
1880
1881
1882
1883
1884
1885
1886
1887
1888
1889
1890
1891
1892
1893
1894
1895
1896
1897
1898
1899
1900
1901
1902
1903
1904
1905
1906
1907
1908
1909
1910
1911
1912
1913

Capítulo 4

4. Mitigação de compostos alelopáticos no arroz de terras altas por rizobactérias³

Marcela Cristiane Ferreira Rêgo^a; Aline Figueiredo Cardoso^b, Taina da Cruz Ferreira^c, Marta Cristina Corsi de Filippi^d, Telma Fátima Vieira Batista^e, Rafael Gomes Viana^f, Gisele Barata da Silva^{g*}.

^a Plant Protection Laboratory, Institute of Agrarian Sciences, Federal Rural University of Amazon, CEP.066.077-830.Belém, Pará, Brazil. E-mail: marcela.rego@ufra.edu.br

^b Plant Protection Laboratory, Institute of Agrarian Sciences, Federal Rural University of Amazon, CEP.066.077-830.Belém, Pará, Brazil. E-mail: aline_f_cardoso@hotmail.com

^c Plant Protection Laboratory, Institute of Agrarian Sciences, Federal Rural University of Amazon, CEP.066.077-830.Belém, Pará, Brazil. E-mail: thayna_ferreira_9@hotmail.com

^d Phytopathology Laboratory, Brazilian Enterprise for Agricultural Research - Rice and Beans, CEP 75375-000, Goiânia, Goiás, Brazil: E-mail: cristina.filippi@embrapa.br

^e Plant Protection Laboratory, Institute of Agrarian Sciences, Federal Rural University of Amazon, CEP.066.077-830.Belém, Pará, Brazil. E-mail: telmabatistacoelho@yahoo.com.br

^f Plant Protection Laboratory, Institute of Agrarian Sciences, Federal Rural University of Amazon, CEP.066.077-830. Belém, Pará, Brazil. E-mail: rafael.gomes@ufra.edu.br

^{g*} Plant Protection Laboratory, Institute of Agrarian Sciences, Federal Rural University of Amazon, CEP.066.077-830. Belém, Pará, Brazil. E-mail: gisele.barata@ufra.edu.br

³ Este capítulo segue as normas de apresentação do Checklist. da ² Este capítulo segue as normas de apresentação do Checklist. da AOB Plants

1940	Sumário
1941	Arbuscular mycorrhizal fungi - AMF
1942	Área dos poros estomáticos - APE
1943	Concentração intercelular de CO ₂ - <i>Ci</i>
1944	Condutância estomática - <i>gs</i>
1945	Densidade de tecidos foliares – DFT
1946	Eficiência de carboxilação da rubisco - <i>A/Ci</i>
1947	<u>Plant growth-promoting rhizobacteria</u> - PGPR
1948	Solo com resíduo - WR
1949	Solo sem resíduo - NR
1950	Stomatal density – SD
1951	Taxa líquida de assimilação de CO ₂ - <i>A</i>
1952	Transpiração - <i>E</i>
1953	Uso eficiente da água - WUE
1954	
1955	
1956	
1957	
1958	
1959	
1960	
1961	
1962	
1963	
1964	
1965	
1966	
1967	
1968	
1969	
1970	
1971	
1972	
1973	

1974 **Resumo**

1975 Os compostos alelopáticos reduzem o crescimento e a produtividade das plantas de arroz em
1976 plantios consecutivos, principalmente, em terras altas. As rizobactérias *Pseudomonas*
1977 *fluorescens* BRM-32111 e *Burkholderia pyrrocinia* BRM-32113 foram registradas como
1978 promotoras do crescimento em arroz. Este estudo foi desenvolvido para compreender o efeito
1979 da aplicação de rizobactérias em plantas de arroz de terras altas em plantios consecutivos. Os
1980 experimentos foram em delineamento inteiramente ao acaso, com quatro repetições e quatro
1981 tratamentos constituídos de sementes de arroz inoculados com *P. fluorescens* BRM-32111, com
1982 *B. pyrrocinia* BRM-32113 e plantas não inoculadas (controle) semeadas em solo com resíduo
1983 (WR) e plantas não inoculadas em solo sem resíduo (NR) de raízes de plantas de arroz. O
1984 crescimento de plântulas e plantas de arroz controle (WR) foi afetado negativamente pelos
1985 compostos alelopáticos. Em semeio com resíduo, plantas inoculadas com as rizobactérias *P.*
1986 *fluorescens* BRM-32111 e *B. pyrrocinia* BRM-32113 induziram aumento em 88% na biomassa,
1987 em 3% na área foliar, em 40% e 67% no comprimento e biomassa radicular, respectivamente,
1988 em 21% na clorofila *a* e em 53% na clorofila *a + b*, em 50% na *A*, em 227% na *A/Ci* e em 63%
1989 no WUE comparado as plantas controle WR. Esses resultados indicam que as rizobactérias *P.*
1990 *fluorescens* BRM 32111 e *B. pyrrocinia* BRM 32113 aumentam a tolerância de plantas de arroz
1991 ao estresse com aleloquímicos, com possíveis aplicações práticas agrícolas sobre o efeito da
1992 aleloquímica ambiental no arroz de terras altas.

1993

1994 **Palavras-chave:** Arroz, *B. pyrrocinia*, *P. fluorescens*, alelopatia, rhizobacteria

1995

1996

1997

1998

1. Introdução

Os plantios consecutivos de arroz em terras altas apresentam redução de crescimento e produtividade em até 65% em cinco anos de cultivo (Fageria and Baligar 2003, Pinheiro et al 2006), o mesmo efeito alelopático ocorre em plantas de milho e sorgo (Amb & Ahluwalia 2016), provavelmente devido a degradação dos resíduos de plantas no solo que liberam aleloquímicos e por acúmulo de metabólitos oriundos de exsudados radiculares presentes no solo, dentre os metabólitos que produzem efeitos alelopáticos em arroz estão os terpenóides, esteróides, fenóis, cumarinas, flavonóides, taninos, alcalóides, glicosídeos cianogênicos e outros compostos (Putnam, 1988; Rice 1984).

A alelopátia é definida como qualquer processo que envolva os metabólitos secundários produzidos por plantas, microorganismos, vírus, e fungos, e que influenciam o crescimento e desenvolvimento da produção agrícola e sistema biológico (Torres et al , 1996). E esses compostos podem atuar inibindo germinação, crescimento, redução da profundidade radicular das plantas, o efeito danoso pode variar de acordo com a cultivar e a concentração e combinação de metabólitos (McPherson et al., 1971; Chou et al. 1991).

O desenvolvimento de tecnologias para mitigar os danos dos aleloquímicos em plantios consecutivos de arroz tornam-se importantes no contexto da pesquisa em condições de terras altas. Como alternativas mitigadoras têm-se a seleção de culturas de arroz tolerantes aos aleloquímicos (Wathugala 2015), a rotação de cultura com espécies da família Fabaceae como *Vigna unguiculata* (L.) Walp., *Crotalaria paulina* Schrank e *Mucuna aterrima* Piper & Tracy (Marengo and Santos, 1999) e o uso dos microorganismos como os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e as rizobactérias promotoras de crescimento (PGPR) (Helme 1999; Major 2010).

As PGPR são bactérias benéficas capazes de induzir crescimento e aumentar a tolerância das plantas aos estresses bióticos e abióticos (Kloepper et al., 1980, 2004; Kremer,

2006; Mishra and Nautiyal, 2012). O uso de microorganismo para o aumento da tolerância de
aleloquímicos é uma opção sustentável, por melhorar a tolerância das plantas e, assim,
permitir o cultivo de um solo sem excessos de fertilizantes. Uma das ações dos aleloquímicos
sobre as plantas é a alteração da atividade mitótica de células jovens e diminuição no número
de células ou alongamento celular ou ambos, essa ação resulta na inibição de atividades
metabólicas e menor taxa de crescimento nas plantas (Rice, 1984), a inibição no crescimento
também pode ser devida à diminuição na germinação, podendo ser atribuída à alteração da
atividade enzimática que afeta a mobilização de compostos de armazenamento na germinação,
que causa uma resposta de inchaço e aumentando o nível de peroxidase em plantas de arroz.

A aplicação de FMA e PGPR aumentaram a tolerância das plantas a compostos
aleloquímicos (Helme 1999; Major 2010). Os FMA atuam nas plantas alterando a absorção de
água (Egerton-Warburton, et al. 2007), nitrogênio, fósforo e metais (Barto et al. 2011), e os
sinais de aleloquímicos presentes no solo inibindo o efeito sobre as plantas (Barto et al. 2012).

A tecnologia que modifica os aleloquímicos transformando-os em reguladores do
crescimento de plantas em sorgo, permite a gestão eficaz da produção agrícola, devido à
degradação dos aleloquímicos no solo (Bhadoria 2011; Ihsan et al., 2015; Uddin et al., 2014).
O *Sorghum bicolor* (L), libera pelo exudado radicular a sorgoleona que pode inibir o
crescimento de plantas daninhas, no entanto, a planta de o sorgo torna-se tolerante quando
tratada com microorganismos capazes de usar sorgoleona como fonte de carbono e mineralizá-
lo através de degradação completa de CO₂ no solo (Gimsing et al., 2009).

No entanto, tem-se a hipótese de que PGPR além de induzir crescimento em plantas de
arroz (Rêgo et al., 2014), induz também aumento da tolerância do arroz aos compostos
aleloquímicos deixados pela cultura no solo. Este mecanismo não foi demonstrado em arroz
terras altas. Neste trabalho, objetivou-se investigar a aplicação do PGPR (*Pseudomonas*

fluorescens BRM-32111 e *Burkholderia pyrrocinia* BRM-32113) sobre plantas de arroz cultivadas em solo com resíduos aleloquímicos de plantas de arroz.

2. Material e métodos

2.1. Material vegetal e microrganismos

Os experimentos foram em delineamento inteiramente ao acaso com quatro repetições (um vaso com cinco plantas) e quatro tratamentos constituídos de duas rizobactérias ambas inoculadas em sementes em solo com resíduo (*Pseudomonas fluorescens* BRM-32111 e *Burkholderia pyrrocinia* BRM-32113) e dois controles (sementes com água em solo com resíduo (WR) e em solo sem resíduo (NR). Sementes de arroz da cultivar Primavera foram inoculadas com a suspensão de *Pseudomonas fluorescens* BRM-32111 e *Burkholderia pyrrocinia* BRM-32113 feita de acordo com metodologia descrita por FILLIPI et al., (2011) e o controle sementes submersas em água destilada e esterilizada. Para o solo com resíduo foi adicionado 23 mg de raízes de arroz conforme descrito por Ranagalage (2014). O Conteúdo de compostos alelopáticos produzido pelos resíduos (tabela 1). E o solo utilizado foi de uma área não cultivada no Pará, Brasil, e caracterizado como: pH H₂O 5.4; 589 g argila kg⁻¹; 66 g silt kg⁻¹; 144 g areia kg⁻¹; 63 mg K⁺ dm⁻³; 4 mg P dm⁻³; 0.4 mg Ca²⁺ dm⁻³; 0.2 cmolc Mg²⁺ dm⁻³; 0.1 cmolc Al³⁺ dm⁻³; and 3 mg Si kg⁻¹.

Tabela 1. Compostos alelopáticos, contidos em raízes de plantas de arroz (por vaso), aos 21 dias após a semeadura.

	Biomassa radicular	Compostos fenolicos totais	Flavonoides
Controle	0.015	0.340	0.339
BRM-32111	0.017	0.446	0.403
BRM-32113	0.016	0.456	0.408

Valores médios expresso em (mg / g Ms), e obtidos em estudos prévios por Rêgo et al., (2014).

2.2. Germinação de sementes e vigor de plântula

Em caixa plástica (11 x 11 x 3.5 cm), contendo 100 g de solo e umedecido com 50 mL de água destilada estéril foram semeadas 25 sementes por repetição, totalizando 100 sementes / tratamento. Aos sete dias após semeio foram avaliados a germinação (%), índice de velocidade de germinação foi calculado por $IVG = \Sigma(n/t)$, onde: t = número de dias da semeadura contado a cada dia e n = número de plântulas normais contada a cada dia, e massa fresca da plântula, o ensaio foi repetido duas vezes.

2.3. Promoção do crescimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, na Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) – Belém/Pa, com vasos contendo 750 g de solo de Latossolo amarelo distrófico, e adubados com 1.17 g de N – P - K (Nitrogênio, Fósforo e Potássio), 0.35 g de Uréia e 0.7 g de FTE (micronutrientes) por vaso. Foram semeadas 10 sementes inoculadas por vaso e aos 11 dias após germinação foi feito o desbaste para cinco plantas por vaso. Aos 21 dias após o semeio foram avaliados: biomassa total (mg), altura da planta (cm), área foliar (cm²), conteúdo relativo de clorofila (SPAD), biomassa radicular (g) e comprimento radicular (cm), as trocas gasosas e quantificação de pigmentos fotossintéticos. O ensaio foi repetido quatro vezes.

2.4. Estudo anatômico da folha

A dimensão dos estômatos foi obtida através da área equivalente do elipsóide que representa a área dos poros estomáticos (APE) pela seguinte fórmula: $(\pi \times \text{Comprimento} \times \text{largura}) / 4$, de acordo com Minnocci et al. (1995) e Bartolini et al. (1997). O stomatal density (SD, stomata mm^{-2}) ($n = 20$ treatments) of the inferior lamina, according to Sack et al. (2003). A densidade de tecidos foliares (DFT, mg cm^{-3}) foi calculada pela razão massa foliar por unidade de área foliar (Mg cm^{-2}) e espessura foliar (Wright e Westoby 2002). Em lâmina foliar com $0,5 \times 0,5$ cm com auxílio de ocular milimetrada, Microscópio Motic (BA-400).

2.5. Quantificação de pigmentos

Da terceira folha foram obtidos 15 mg de tecido foliar e maceradas em 240 μL em EtOH 98 % e incubadas a 80°C por 20 minutos, e em seguida centrifugadas a 4°C em 14.000 rpm durante cinco minutos. Posteriormente, o sobrenadante foi coletado e o pellet submetido a mais duas extrações, em EtOH de 80% e 50%, respectivamente. Os sobrenadantes foram coletados e homogeneizados. As etapas de extração dos pigmentos foram realizadas sob banho de gelo e na ausência de luz, conforme metodologia definida por Porra (1989). Posteriormente uma alíquota de 20 μL do extrato vegetal etílico de cada amostra foi adicionado em um meio de reação com 120 μL de EtOH 98% e 40 μL do mix etílico. E submetidas a determinação da absorbância, estimada em comprimento de onda (λ) 645 nm e 665 nm. Com a absorbância obtidas, foi estimada as concentrações de clorofila a e b, a / b e total através das fórmulas 1 e 2, posteriormente normalizado pela massa fresca de cada amostra.

$$\text{(Fórmula - 1) Clorofila a} = 5.48 * \text{Abs665} - 2.16 * \text{Abs645} \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{poço}} \right)$$

$$\text{(Fórmula - 2) Clorofila b} = 9.67 * \text{Abs645} - 3.04 * \text{Abs665} \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{poço}} \right)$$

2119 2.6. Troca gasosa

2120 As plantas de arroz foram avaliadas quanto a troca gasosa, com um sistema portátil de
2121 fotossíntese (LI-6400XT; LI-COR, Lincoln, NE). A taxa líquida de assimilação de CO₂ (A),
2122 condutância estomática (g_s) e transpiração (E), concentração intercelular de CO₂ (C_i), e
2123 estimado uso eficiente da água (WUE) (A/E) e eficiência de carboxilação da rubisco (A / C_i),
2124 foram avaliados a uma concentração de CO₂ 400 $\mu\text{mol mol}^{-1}$, 50% de umidade relativa, 28 °C de
2125 temperatura, 300 $\mu\text{mol s}^{-1}$ o fluxo de ar e uma densidade de fluxo de fótons de 1200 $\mu\text{mol (m}^2\text{)}$
2126 s^{-1} . O instrumento foi estabilizado de acordo com a orientações do fabricante.

2128 2.7. Análise estatística

2129 Os dados obtidos nos experimentos foram submetidos a análise de variância e as medias
2130 foram comparados pelo de Duncan ($p < 0.05$) em programa SPSS 21.0, e erro padrão
2131 ($p < 0,05$). Posteriormente, foi estimado o coeficiente de correlação linear entre as variáveis de
2132 crescimento das plantas de arroz aos 21 dias após o semeio em Software Past 2.0 ($p < 0,05$).

2134 3. Resultados

2136 3.1. Germinação de sementes e vigor de plântula e promoção de crescimento em plantas

2137 Sementes controle WR tiveram redução em 2% na germinação quando comparadas as
2138 sementes controle NR, no entanto as sementes inoculadas com *P. fluorescens* BRM-32111
2139 tiveram aumento na germinação em 2% em relação ao controle WR (Figura 2 A). Em solo com
2140 resíduo (WR), o comprimento das plântulas em todos os tratamentos tiveram redução média de
2141 22% (Figura 2 B) em relação ao controle NR, a biomassa das plântulas inoculadas com *P.*
2142 *fluorescens* BRM-32111 foi 27 % maior em relação ao controle WR (Figura 2 C).

2143 As plantas controle WR apresentaram redução em todas as variáveis relacionadas a
2144 promoção de crescimento (Figura 2). A biomassa das plantas inoculadas com as rizobactérias

aumentou 88 % quando comparada ao controle WR (Figura 2 D). O comprimento das plantas com *B. pyrrocinia* BRM-32113 aumentou em 25% e 22 %, em relação ao controle NR e controle WR, respectivamente (Figura 2 E). Plantas inoculadas com as rizobactérias tiveram aumento em 3% na área foliar, em 30% no conteúdo relativo de clorofila (SPAD), em 40% na biomassa radicular e 67% no comprimento radicular em relação ao controle WR, respectivamente (Figura 2 H).

Ocorreu aumento do comprimento do poro estomático nas plantas inoculadas com *P. fluorescens* BRM-32111 em 19% e 91% em relação aos controle NR e controle WR respectivamente (Figura 3 A), a área do poro estomático e densidade estomática foram maiores em 102% e 83% nas plantas tratadas com *P. fluorescens* BRM-32111 quando comparadas ao controle WR, respectivamente (Figura 3 B), e DFT foi maior nas plantas inoculadas com *P. fluorescens* BRM-32111 em 18% e 8% em relação aos controle NR e controle WR, respectivamente (Figura 3 D).

3.2. Quantificação de pigmentos

A concentração de pigmentos reduziu nas plantas controle WR quando comparado com controle NR. E em plantas inoculadas com as rizobactérias tiveram aumento em 21% na clorofila a e em 53% na soma das clorofilas a +b (Figura 4). Para chl b e a razão chl a / b ocorreu incremento em 22% e 25% nas plantas inoculadas *P. fluorescens* BRM-32111 em relação ao controle NR, e em 21 % e 28 % em relação ao controle WR, respectivamente (Figura 4 B – D).

3.3. Troca gasosa

Todos os parâmetros de trocas gasosas foram afetados em plantas controle WR quando comparadas ao controle NR e em solo com resíduo (WR). As plantas inoculadas com as rizobactérias tiveram aumento em *A* de 37% e 50% em relação ao controle NR e controle WR,

respectivamente (Figura 5 A). Para WUE o aumento foi em 128 % e 63 % em relação ao controle NR e controle WR, respectivamente (Figura 5 E). No entanto, houve aumento na eficiência da carboxilação da rubisco em 227% incluindo plantas com rizobactérias e controle WR comparado ao controle NR (Figura 5 F). Enquanto que, plantas controle NR tiveram em 47% no g_s , em 42% no C_i e em 60% no E comparadas as plantas inoculadas com rizobacterias (Figura 5 B-C-D).

4. Discussão

4.1. Germinação de sementes, vigor de plântula e promoção de crescimento em plantas

No presente estudo, os resíduos de arroz adicionados no solo reduziram a germinação, o comprimento e a biomassa das plântulas de arroz de terras altas. Entretanto, em plântulas de arroz provenientes de sementes inoculadas com a rizobactéria *P. fluorescens* BRM-32111 (WR), foram mitigados os danos na germinação, na biomassa e no comprimento quando comparadas a plantas não inoculadas (WR) crescidas em solo com resíduo, indicando que a rizobactéria induziu a proteção aos efeitos danosos dos aleloquímicos no estágio de plântula. Em plantios subsequentes de arroz de terras altas, ha redução em ate 50% de produtividade, a qual é atribuída a vários fatores, entre eles a liberação de aleloquímicos provenientes dos resíduos do arroz no solo (Chou, 1991). Os principais compostos aleloquímicos incluem phenolic acids, *p*-coumaric acid, ferulic acid, benzoic acid, syringic acid and salicylic acid (Chou and Lin, 1976; Putnam, 1988; Rice 1984). Esses compostos de resíduos de arroz no solo reduzem a germinação, retardam o vigor de plântulas, crescimento de plantas, a expansão foliar, e alongamento de raízes como mostrado no presente estudo (Figura 1 – 2). Também ja foram registrados esses efeitos negativos para a cultura do milho cultivado sobre resíduos de sorgo e arroz (Amb & Ahluwalia 2016). Esses danos são atribuídos a uma cadeia de sinais percebidos pelas radículas que absorvem as substâncias alelopáticas liberadas no solo, depois da

2196 decomposição das raízes de arroz, e que quando em contato com a membrana celular da raiz
2197 ocasionam a despolarização, alteração no efluxo de íons e a redução de condutividade
2198 hidrolítica, resultando em menor absorção de água e nutrientes pelas raízes interferindo no
2199 desenvolvimento da planta (Baziramakenga et al, 1995; Lehman e Blum, 1999).

2200 As plantas de arroz inoculadas com *P. fluorescens* BRM-32111 e *B. pyrrocinia* BRM-
2201 32113 tiveram aumento de germinação, comprimento e biomassa em relação a plantas controle
2202 crescida em solo com resíduo (WR) (Figura 2). Estudos demonstraram que há relação entre o
2203 crescimento das plantas e os microrganismos no solo na presença de compostos alelopáticos,
2204 por múltiplos mecanismos. No presente estudo, as PGPR *P. fluorescens* BRM-32111 e *B.*
2205 *pyrrocinia* BRM-32113 induziram aumento no crescimento e biomassa de raízes, que pode ser
2206 decorrente da melhoria no processo de crosstalk entre solo-planta-microrganismo, os exsudados
2207 radiculares estimulam a formação do corum sense bacteriano, com aumento na liberação de
2208 polissacarídeos que combinados com partículas de argila induziram a formação de mucigel
2209 (Guckert et al., 1975), substância que facilita o crescimento radicular e protege as PGPRs na
2210 rizosfera (Kiers & Denison 2008; Venturi & Keel, 2016; Van Dam & Bouwmeester, 2016).
2211 Outra capacidade das bactérias da rizosfera é a degradação dos aleloquímicos através da ação
2212 enzimática podem alterar a toxidez do composto aleloquímico transformando-os em uma forma
2213 não tóxica (Bais et al., 2006; Mishra et al., 2013; Bhadoria 2011; Macias et al., 2003; Inderjit
2214 et al., 2011; Zou et al., 2014; Wu et al., 2015). Os compostos aleloquímicos (fitotoxinas, 2,4-
2215 diacetylphloroglucinol (2,4DAPG), phenazine, Cianeto de Hidrogênio (HCN), antibióticos e
2216 enzimas de degradação da parede celular das raízes das plantas) liberados por gramíneas podem
2217 ter sido degradado pelas PGPR *P. fluorescens* BRM-32111 e *B. pyrrocinia* BRM-32113 no
2218 presente estudo, e transformado os compostos em uma forma não tóxica, o que favoreceu o
2219 crescimento das plantas de arroz em solo WR.

2220 Alem dos microorganismos promoverem o crescimento também atuam na modulação
2221 do gene responsivo ao estresse, e na inibição das enzimas antioxidantes e da secreção de
2222 aleloquímicos no solo (Barazani and Friedman, 1999; Bais et al., 2006; Mishra et al., 2013). O
2223 maior desenvolvimento do sistema radicular, parte aérea, biomassa, densidade estomática,
2224 foliar e massa foliar, área foliar e poro estomático foram obtidos em plantas de arroz inoculadas
2225 com *P. fluorescens* BRM-32111. Essas adaptações morfológicas das plantas inoculadas com *P.*
2226 *fluorescens* BRM-32111 em solo com resíduo, favoreceram a aquisição de CO₂, o que auxilia
2227 a planta a desenvolver seu potencial no aumento sua biomassa para crescimento (Galmés et al.,
2228 2007; Millar et al. 2011).

2229

2230 4.2. Quantificação de pigmentos

2231 Em solo com resíduo, as plantas de arroz (WR) tiveram redução na concentração dos
2232 pigmentos fotossintéticos, enquanto que, em plantas inoculadas com *P. fluorescens* BRM-
2233 32111 houve aumento na concentração das clorofilas. No controle WR, as plantas apresentaram
2234 uma drástica redução de clorofila a, a qual pode estar relacionada com a perda da capacidade
2235 das células em sintetizar clorofila quando exposta ao composto aleloquímico, como ocorreu em
2236 algas verdes (*Chlorella vulgaris*) expostas a ao aleloquímico N-fenil-2-naftilamina (Bornman
2237 e Vogelmann, 1991; Haifeng et al., 2009).

2238 Quanto clorofila b e a razão a / b, houve aumento nas plantas inoculadas com *P.*
2239 *fluorescens* BRM-32111 e semeadas em WR, indicando um aumento na eficiência no centro
2240 dos complexos de reação fotossintética do sistemas de antena de FSII PSI. Esses sistemas podem
2241 ser divididos nos complexos de antenas interiores contendo clorofila b e os complexos de
2242 captação, transmissão e dissipação do excedente de luz (NPQ,qP, Fv/Fm) (Björkman, 1981;
2243 Haifeng et al., 2009). O composto alelopático N-fenil-2-naftilamina, em alga verde, alterou a
2244 função do transporte de elétrons fotossintéticos, corrente do PSII para PSI, formando

2245 complexos elétrons doadores-receptores com a filoquinona e naftoquinona (Dwivedi e Rao,
2246 1972; Haifeng et al., 2009). A rizobactéria *P. fluorescens* BRM-32111 pode ter estimulado as
2247 plantas a tolerar o estresse através da manutenção do complexo antena e / ou manutenção do
2248 transporte de elétrons.

2249

2250 4.3. Troca gasosa

2251 Um dos mecanismos caracterizados fitotóxicos induzidas por aleloquímico é a inibição
2252 da fotossíntese e da evolução do oxigênio através interação com componentes do fotossistema
2253 II (PSII) (Einhelling, 1995). No presente estudo, as plantas de arroz controle (WR) tiveram o
2254 aparato fotossintético afetado negativamente pelo resíduo (WR), entretanto, os danos foram
2255 mitigados quando as plantas foram inoculadas com as rizobactérias *P. fluorescens* BRM-32111
2256 e *B. pyrrocinia* BRM-32113. Os aleloquímicos reduzem a fotossíntese por causar redução na
2257 transferência de elétrons ou por reduzir e inibir a síntese de ATP e NADPH, reduzir a
2258 condutância estomática e a transpiração (Yu et al., 2003; Wu et al., 2004). Como observado
2259 nesse estudo, em plantas de arroz cultivada em solo com resíduo (WR) tiveram redução drástica
2260 na condutância estomática (gs) e na transpiração (E), assim como já foi observado em plantas
2261 de outras culturas. Esse efeito foi atribuído aos aleloquímicos dos grupos do fenóis, composto
2262 alelopático decorrente da decomposição de gramínea, que causam perturbação nas membrana
2263 celulares que pode culminar na morte celular, a manutenção da integridade de membranas
2264 celulares, em resposta ao ataque de radicais livres, está relacionada ao balanço entre
2265 citocinina que leva ao aumento da atividade das enzimas do estresse oxidativo como
2266 catalase e peroxidase e aumento de concentrações de ácido abscísico (ABA) nas folhas,
2267 e do cálcio que tem o papel de atuar sobre a redução do extravasamento de eletrólito,
2268 (Yan et al. 2006; Nishiyama et al., 2011; Gidrol et al., 1994). (Einhellig, 1996; Weir et al.,
2269 2004).

2270 O aumento nos parâmetros de trocas gasosas em A, WUE e A/Ci em plantas de arroz
2271 inoculadas com *P. fluorescens* BRM-32111 e *B. pyrrocinia* BRM-32113 e semeadas em solo
2272 com resíduo foram resultantes do estímulo ao crescimento das plantas, as quais tiveram maior
2273 área foliar e pigmentos fotossintéticos e esses estão diretamente ligados ao aumento da taxa
2274 fotossintética, o que auxiliou no acúmulo em biomassa nas plantas de arroz inoculadas com as
2275 rizobactérias (Galmés et al., 2007; Millar et al. 2011) (Tabela 2). Os resultados de plantas não
2276 inoculadas NR e WR, foram semelhantes com os obtidos em plantas de milho e soja, submetidas
2277 a compostos aleloquímicos liberados por nogueira preta (*Juglas nigra* L.), que apresentaram
2278 redução na taxa de assimilação líquida de CO₂ (Shibu & Gillespie 1998), no entanto as plantas
2279 de arroz inoculadas com *P. fluorescens* BRM-32111 e *B. pyrrocinia* BRM-32113 tiveram
2280 aumento na taxa de assimilação de CO₂ e maior condutância estomática (gs) e carbono interno
2281 (Ci) em comparação a plantas não inoculadas WR, indicando essas alteram o comportamento
2282 fisiológico das plantas, aumentando a tolerância aos aleloquímicos. Estudos com estirpes de
2283 *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis*, e outras espécies, que se associam com as raízes
2284 de plantas foram capazes de proporcionar tolerância a alelopatia e de degradar os aleloquímicos
2285 liberados de planta de *Gmelina arborea* (Barazani e Friedman, 2001; Hauser, 1993). As plantas
2286 inoculadas com *P. fluorescens* BRM-32111 tiveram comportamento semelhantes as de plantas
2287 consideradas tolerantes aos efeitos dos aleloquímicos, com maior área foliar, DTF, e biomassa
2288 radicular o que indica a ocorrência do espessamento das paredes celulares o que contribui para
2289 aumentar a eficiência na troca gasosa e WUE (Niinemets, 2001).

2290 A rotação de culturas é indicada como uma forma diminuir os efeitos alelopáticos nas
2291 plantas, em estudos de rotação de culturas com arroz de terras altas e trigo no Paquistão, as
2292 culturas tiveram redução na produção nos plantios sucessivos, mesmo com a adoção de boas
2293 práticas culturais. Essas perdas poderão ser mitigadas com o uso de microorganismos (*P.*

2294 *fluorescens* BRM-32111 e *B. pyrrocinia* BRM-32113) que induzam aumento de tolerância às
2295 plantas de arroz de terras altas aos resíduos alelopáticos.

2296 As rizobactérias (*P. fluorescens* BRM-32111 e *B. pyrrocinia* BRM-32113) registradas
2297 como promotoras de crescimento e supressoras de brusone em arroz de terras altas (Filippi et
2298 al., 2011 ; Rêgo et al., 2014), induziram o aumento da tolerância das plantas aos compostos
2299 alelopáticos e deverão ser avaliadas em campo para confirmar mais esse atributo positivo no
2300 manejo de arroz de terras altas para aumento de produtividade em mesma área e em anos
2301 consecutivos de plantios e redução de aberturas de novas áreas para plantio de arroz.

2302

2303 5. Conclusão

2304 As rizobactérias (*Pseudomonas fluorescens* BRM-32111 e *Burkholderia pyrrocinia*
2305 BRM-32113) mitigam os danos fisiológicos e induzem o crescimento de plantas, induziram a
2306 tolerância aos compostos aleloquímicos em plantas de arroz, e devem ser investigado em
2307 experimentos de campo para serem inseridos no manejo da cultura em terras altas.

2308

2309 Acknowledgements

2310 Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e
2311 Tecnológico (CNPq), Fundação de Pesquisas da Amazônia (Fapesp) e a Universidade Federal
2312 Rural da Amazônia (UFRA) pelo financiamento da pesquisa, e a Agência Federal Brasileiro de
2313 Apoio e Avaliação da Educação Superior (CAPES) para a concessão de bolsas de estudos de
2314 doutorado.

2315

2316 **Referência**

- 2317 Al-Johani N S, Aytah A A, Boutraa T. 2012. Allelopathic impact of two weeds, *Chenopodium*
 2318 *murale* and *Malva parviflora* on growth and photosynthesis of barley (*Hordeum vulgare* L.).
 2319 *Pakistan Journal of Botany*, 44, 1865–1872.
- 2320 AMB, M. K.; AHLUWALIA, A. S. Allelopathy: Potential Role to Achieve New Milestones in
 2321 Rice Cultivation. *Rice Science*, 2016, 23(4): 165-183.
- 2322 Azcón-Aguilar C, Barea JM: Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant
 2323 pathogens — an overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza* 1996, 6:457-464.
- 2324 Bais, H. P.; Weir, T. L.; Perry, J.; Gilroy, L. G. S.; Vivanco, J. M. (2006). The role of root exudates
 2325 in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annu Rev Plant Biol.* 57, 233 -266.
- 2326 Barazani, O.; Friedman, J. 1999. Allelopathic bacteria and their impact on higher plants. *Crit.*
 2327 *Rev. Plant Sci.* 18, 741 – 755.
- 2328 Barto, E.K., Hilker, M., Mueller, F., Mohny, B.K., Weidenhamer, J.D. & Rillig, M.C. (2011)
 2329 The fungal fast lane: common mycorrhizal networks extend bioactive zones of allelochemicals
 2330 in soils. *PLoS ONE*, 6, e27195.
- 2331 Barto, E.K., Weidenhamer, J.D., Cipollini, D. & Rillig, M.C. (2012) Fungal superhighways: do
 2332 common mycorrhizal networks enhance below ground communication? *Trends in Plant*
 2333 *Science*, 17, 633–637.
- 2334 Baziramakenga, R., Leroux, G.D. and Simard, R.R. (1995) Effects of Benzoic and Cinnamic
 2335 Acids on Membrane Permeability of Soybean Roots. *Journal of Chemical Ecology*, 21, 1271 -
 2336 1285.
- 2337 Benoit, R. E. and Sterkey, R. L. 1968. Enzyme inactivation as a factor in the inhibition of
 2338 decomposition of organic matter by tannins. *Soil Sci.*, 105: 203- 208
- 2339 Bhadoria, P. (2011). Allelopathy: a natural way towards weed management. *Am. J. Exp. Agric.*
 2340 1, 7 – 20.

- 2341 Björkman, O., 1981. Responses to different quantum flux densities. In: Lange, O.L., Nobel,
2342 P.S., Osmond, C.B., Ziegler, H. (Eds.), *Physiological Plant Ecology I. Encyclopedia of Plant*
2343 *Physiology*. Springer-Verlag, Berlin.
- 2344 Blum U, Rebbeck J. 1999. Inhibition and recovery of cucumber roots given multiple treatments
2345 of ferulic acid in nutrient culture. *J Chem Ecol*, 15(3): 917–928.
- 2346 Bornman, J.F., Vogelmann, T.C., 1991. Effect of UV-B radiation on leaf optical properties
2347 measured with fiber optics. *J. Exp. Bot.* 42, 547–554.
- 2348 Chou C H, Chang F J, Oka H I. 1991. Allelopathic potential of wild rice *Oryza perennis*.
2349 *Taiwania*, 36: 201–210
- 2350 Chou C H, Lin H J. 1976. Autoinhibition mechanism of *Oryza sativa*: 1. Phytotoxic effect of
2351 decomposing rice residue in soil. *J Chem Ecol*, 2(3): 253–367.
- 2352 Chou C H, Lin T J, Kao C I. 1977. Phytotoxins produced during decomposition of rice stubbles
2353 in paddy soil and their effect on leachable nitrogen. *Bot Bull Acad Sin*, 18: 45–60
- 2354 Dwivedi, P.C., Rao, K.G., 1972. Electron donor–acceptor complexes of N-phenyl-2-
2355 naphthylamine with quinones. *Indian J. Chem.* 10, 944–945.
- 2356 Egerton-Warburton, L.M., Querejeta, J.I. & Allen, M.F. (2007) Common mycorrhizal networks
2357 provide a potential pathway for the transfer of hydraulically lifted water between plants. *Journal*
2358 *of Experimental Botany*, 58, 1473–1483
- 2359 Einhellig F A. 1996. Interactions involving allelopathy in cropping systems. *Agron J*, 88(6):
2360 886–893
- 2361 Fageria NK, Baligar VC. 2003. Upland rice and allelopathy. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*
2362 34:1313-1329.
- 2363 Filippi, M. C. C., Silva, G. B. Da; Silva-Lobo, V., Côrtes, M. V. C. B., Moraes, A. J. G., and
2364 Prabhu A. S., 2011. Leaf blast (*Magnaporthe oryzae*) suppression and growth promotion by
2365 rhizobacteria on aerobic rice in Brazil. *B. Control.* 58, 160-166.

- 2366 GIDROL, X.; LIN, W.S.; DEGOUSEE, N.; YIP, S.F.; KUSH, A. Accumulation of reactive
2367 oxygen species and oxidation of cytokinin in germinating soybean seeds. *European Journal of*
2368 *Biochemistry*, v.224, p.21-28, 1994.
- 2369 Gimsing, A. L., Baelum, J., Dayan, F. E., Locke, M. A., Sejero, L. H., and Jacobsen, C. S.
2370 (2009). Mineralization of the allelochemical sorgoleone in soil. *Chemosphere* 76, 104 – 1047.
- 2371 Guckert A, Breisch H, Reisinger O: Electron-microscopic study on interrelation of mucigel,
2372 clay and microorganisms. *Soil Biol Biochem* 1975, 7:241-250.
- 2373 Haifeng, Q.; Xiaoyan, X.; Wei, C.; Hong, J.; Yuanxiang, J.; Weiping, L.; Zhengwei, F..
2374 Allelochemical stress causes oxidative damage and inhibition of photosynthesis in *Chlorella*
2375 *vulgaris*. *Chemosphere* 75 (2009) 368–375.
- 2376 Holappa, L.D. and Blum, U. (1991) Effects of Exogenously Applied Ferulic Acid, a Potential
2377 Allelopathic Compound, on Leaf Growth, Water Utilization, and Endogenous Abscissic Acid
2378 Levels of Tomato, Cucumber, and Beans. *Journal of Chemical Ecology*, 17, 865-886.
- 2379 Hussain MI, Reigosa MJ (2011). Allelochemical stress inhibits growth, leaf water relations,
2380 PSII photochemistry, non-photochemical fluorescence quenching, and heat energy dissipation
2381 in three C3 perennial species. *J. Exp. Bot.* 62:4533-4545.
- 2382 Ihsan, M. Z., Khaliq, A., Mahmood, A., Naeem, M., El-Nakhalawy, F., and Alghabari, F.
2383 (2015). Field evaluation of allelopathic plant extracts alongside herbicides on weed management
2384 indices and weed – crop regression analysis in maize. *Weed Biol. Manag.* 15, 78 – 86.
- 2385 Inderjit, Wardle, D. A., Karban, R., and Cllaway, R. M. (2011). The ecosystem and evolutionary
2386 contexts of allelopathy. *Trends Ecol. Evol.* 26, 655 – 662.
- 2387 Inderjit, Weston LA: Root exudates: an overview. In *Root Ecology*. Edited by Kroon H, Visser
2388 EJW. Springer Berlin Heidelberg; 2003:235-255.
- 2389 Kiers ET, Denison RF: Sanctions, cooperation, and the stability of plant-rhizosphere
2390 mutualisms. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 2008, 39:215-236.

2391 Kloepper, J. W., Leong, J., Teintze, M., and Schrot, M.N. (1980). Enhanced plant growth by
 2392 siderophores produced by plant growth – promoting rhizobacteria. *Nature* 286, 885 – 886.
 2393 Kremer, R. J. (2006). “The role of allelopathic bacteria in weed management”, in
 2394 *Allelochemicals: Biological Control of Plant Pathogens and Diseases*, eds X. Inderjit and K. G.
 2395 Mukerji (Dordrecht: Springer Netherlands Press). 143 – 155.
 2396 Lehman ME, Blum U (1999). Evaluation of ferulic acid uptake as a measurement of
 2397 allelochemical dose: effective concentration. *J. Chem. Ecol.* 25:2585-2600.
 2398 Lokajová V, Bačkorová M, Bačkor M. 2014. Allelopathic effects of lichen secondary
 2399 metabolites and their naturally occurring mixtures on cultures of aposymbiotically grown lichen
 2400 photobiont *Trebouxia erici* (Chlorophyta). *South African Journal of Botany*, **93**, 86–91.
 2401 Macias, F. A. Marin, D., Oliveros – Bastidas, A., Varela, R. M., Simonet, A. M., Carrera, C et
 2402 al., (2003). Allelopathy as a new strategy for sustainable ecosystems development . *Biol. Sci.*
 2403 *space* 17, 18 – 23.
 2404 Major, J., Rondon, M., Molina, D., Riha, S. J., and Lehmann, J. 2010. Maize yield and nutrition
 2405 during 4 years after biochar application to a Colombian savanna oxisol. *Plant Soil.* 333, 117 –
 2406 128.
 2407 MARENCO, R.A.; SANTOS, A. M. B. Crop rotation reduces weed competition and increases
 2408 chlorophyll concentration and yield of rice. *Pesquisa agropecuária brasileira*. Brasília, v.34, n.
 2409 10, p.1881 - 1887, (1999).
 2410 McPherson, J. K., Chou, C. H. and Muller, C. H. 1971. Allelopathic constituents of the
 2411 chaparral shrub (*Adenostoma fasciculatum*). *Phytochemistry* 10: 2925–2933
 2412 Mishra, S., and Nautiyal, C. S. (2012). Reducing the allelopathic effect of *Parthenium*
 2413 *hysterophorus* L. on wheat (*Triticum aestivum* L.) by *Pseudomonas putida*. *Plant growth regul.*
 2414 66, 155 – 165.

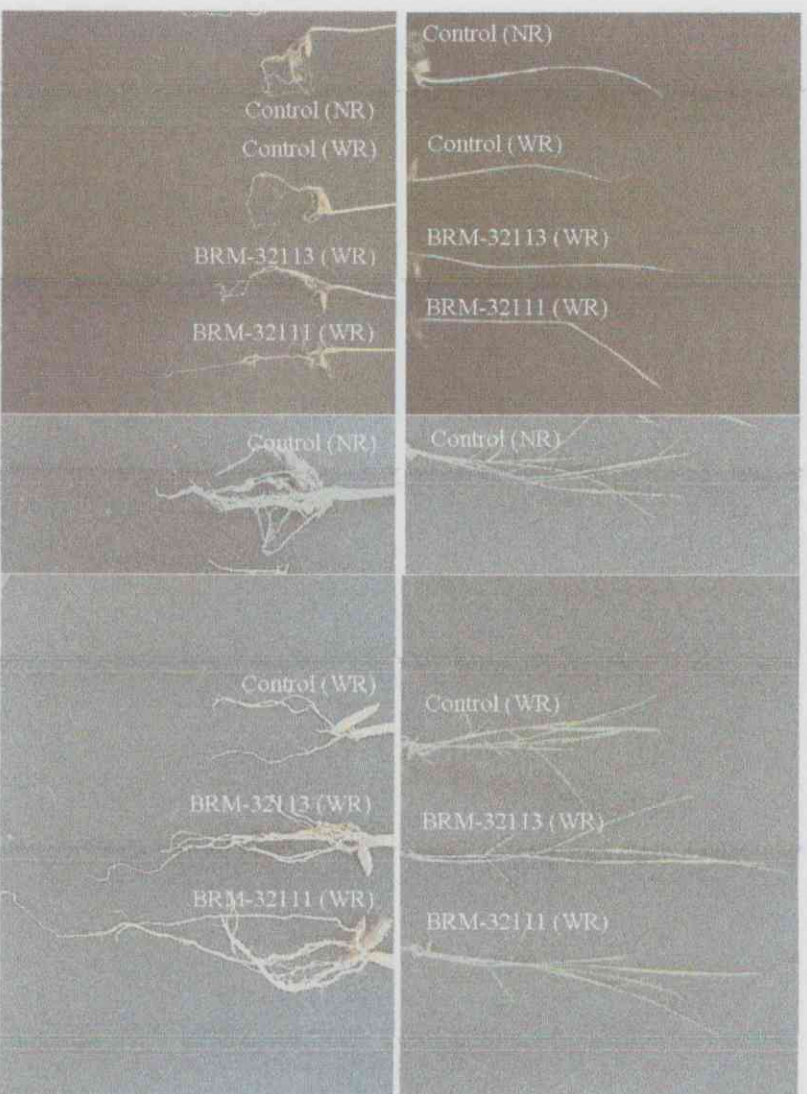
- 2415 Mishra, S., Upadhyay, R. S., and Nautiyal, C. S. (2013) Unravelling the beneficial role of
2416 microbial contributors in reducing the allelopathic effects of weeds. *Appl. Microbiol.*
2417 *Biotechnol.* 97, 5659 – 5668.
- 2418 Niinemets Ü (2001) Global-scale climatic controls of leaf dry mass per area, density, and
2419 thickness in trees and shrubs. *Ecology* 82(2):453–469.
- 2420 NISHIYAMA, R.; WATANABE, Y.; FUJITA, Y.; LE, D.T.; KOJIMA, M.; WERNER, T.;
2421 VANKOVA, R.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K.; KAKIMOTO, T.;
2422 SAKAKIBARA, H.; SCHMULLING, T.; TRAN, L.P. Analysis of cytokinin mutants and
2423 regulation of cytokinin metabolic genes reveals important regulatory roles of cytokinins in
2424 drought, salt and abscisic acid responses, and abscisic acid biosynthesis. *Plant Cell*, v.23,
2425 p.2169-2183, 2011.
- 2426 Patterson DT (1981). Effects of allelopathic chemicals on growth and physiological responses
2427 of soybean (*Glycine max*). *Weed Sci.* 29:53- 59.
- 2428 Pinheiro B da S, Castro E da M de, Guimaraes CM. 2006. Sustainability and profitability of aerobic rice
2429 production in Brazil. *Field Crops Res.* 97:34-42.
- 2430 Porra RJ, Thompson WA, Kriedemann PE (1989) Determination of accurate extinction
2431 coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four
2432 different solvents: Verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic
2433 absorption spectroscopy. *Biochem Biophys Acta* 975: 384- 394.
- 2434 Putnam A R. 1988. Allelochemicals from plants as herbicides. *Weed Technol*, 2(4): 510–518
- 2435 RANAGALAGE, A.S.; JAYAKODY, T.S.D. AND WATHUGALA, D.L. Allelopathic
2436 Potential of Rice Residues of Selected Rice Varieties (*Oryza sativa* L.) Against *Echinochloa*
2437 *crus-galli*. *Journal of Tropical Forestry and Environment Vol. 4. No 02 (2014) 24-30.*
- 2438 Rêgo, M.C.F.; Ilkiu-Borges, F., Filippi, M.C.C.; Gonçalves, L.A; SILVA, G.B. 2014.
2439 Morphoanatomical and Biochemical Changes in the Roots of Rice Plants Induced by Plant
2440 Growth-Promoting Microorganisms. *Journal of Botany* 2014: 1-10.

- 2441 Rice, E. L. 1984. *Allelopathy* 2ndEdn. Orlando, Florida: Academic Press Inc. P 422.
- 2442 Shibu, J., Andrew R. G. 1998. Allelopathy in black walnut (*Juglans nigra* L.) alley cropping. II.
- 2443 Effects of juglone on hydroponically grown corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.
- 2444 Merr.) growth and physiology. *Plant and Soil* 203: 199–205.
- 2445 Sodaeizadeh H, Rafiollahossaini M, Havlík J, Van Damme P. 2009. Allelopathic activity of
- 2446 different plant parts of *Peganum harmala* L. and identification of their growth inhibitors
- 2447 substances. *Plant Growth Regulation*, **59**, 227–236.
- 2448 Torres A, Olivia R M, Castellano D, Cross P. 1996. A science of the future. In: Proceedings of
- 2449 the 1st World Congress on Allelopathy. Cadiz, Spain: University of Cadiz: 278
- 2450 Uddin, M. R., Park, S. U., Dayan, F. E., and Pyon, J. Y. (2014). Herbicidal activity of formulated
- 2451 sorgoleone, a natural product of sorghum root exudate. *Pest. Manag. Sci.* 70, -252 – 257.
- 2452 Van Dam NM, Bouwmeester HJ: Metabolomics in the rhizosphere: tapping into belowground
- 2453 chemical communication. *Trends Plant Sci* 2016, 21 :256-265.
- 2454 Venturi V, Keel C: Signaling in the rhizosphere. *Trends Plant Sci* 2016, 21 :187-198.
- 2455 Wathugala, D.L.; Ranagalage. A.S. Comparison of Allelopathic Potential of Sri Lankan
- 2456 Varieties (*Oryza sativa* L.) using *sativus* L.) as an Indicator Plant. *International Journal of*
- 2457 *Agriculture Innovations and Research*. Vol 3, 1473-2319 (2015).
- 2458 Wu, H., Pratley, J., Lemerled, D. and Haig, T. (1999). Crop Cultivars with allelopathic
- 2459 capability. *Weed Research* 39: 171-180.26.
- 2460 Wu, Z., Yang, L., Wang, R., Zhang, Y., Shang, Q., Wang, L., et al. (2015). In vitro study of the
- 2461 growth, development and pathogenicity responses of *Fusarium oxysporum* to phthalic acid, an
- 2462 autotoxin from Lanzhou lily. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 31, 1227 – 1234.
- 2463 Xiao DQ, Zhang HY, Spiertz JHJ, Yu J, Xie GH, Bouman BAM. 2010. Crop response of aerobic rice
- 2464 and winter wheat to nitrogen, phosphorus and potassium in a double cropping system. *Nutr. Cycl.*
- 2465 *Agroecosyst.* 86:301- 315.

- 2466 Yan, X., Lynch, J.P. and Beebe, S.E. (1995). Genetic variation for phosphorus efficiency of
2467 common bean in contrasting soil types. I. Vegetative response. *Crop Science* 35: 1086-1093.
- 2468 YAN, Y.; WEI, C.L.; ZHANG, W.R.; CHENG, H.; LIU, J. Cross-talk between calcium and
2469 reactive oxygen species signaling. *Acta Pharmacologica Sinica*, v.27, p.821-826, 2006.
- 2470 Yang CM, Lee CN, Chou CH (2007). Effects of three allelopathic phenolics on chlorophyll
2471 accumulation of rice seedlings by inhibition of supply orientation. *Bot. Bull. Acad. Sinica*
2472 43:299-304.
- 2473 Zhou Y, Yu J. 2006. Allelochemicals and photosynthesis. In: *Allelopathy*. Springer, The
2474 Netherlands. pp. 127–139.
- 2475 Zou, S. P., Li, X. W., Ma, Y. Q., and Yang, S. Y. (2014). Soil microbes are linked to the
2476 allelopathic potential of different wheat genotypes. *Plant Soil* 378, 49 – 58.
2477

2478

2479



2480
2481
2482 **Figura 1.** Parte aérea e raízes de plântulas e plantas de arroz, aos 7 e 21 dias após a germinação, em solo sem resíduo (NR) e solo com resíduo

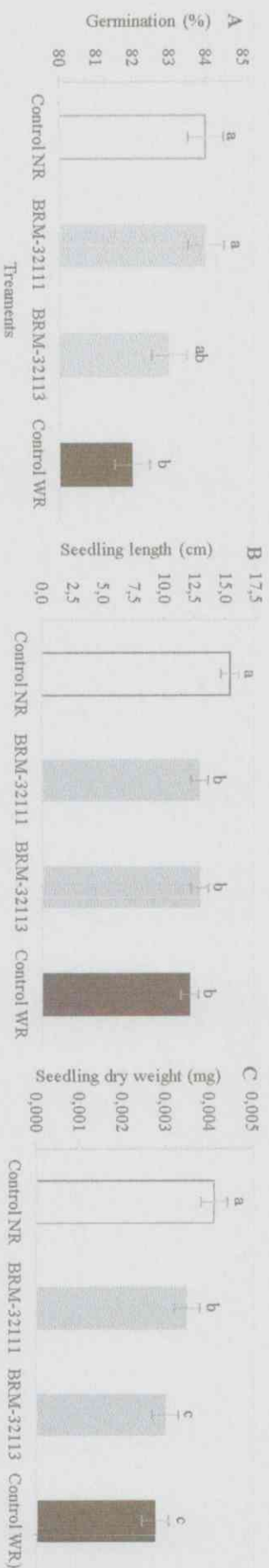
2483 (WR) de plantas de arroz. Tratamento controle (não inoculado), e plantas inoculadas com *Burkholderia pyrrocina* BRM-32113 e *Pseudomonas*

2484 *fluorescens* BRM-32111.

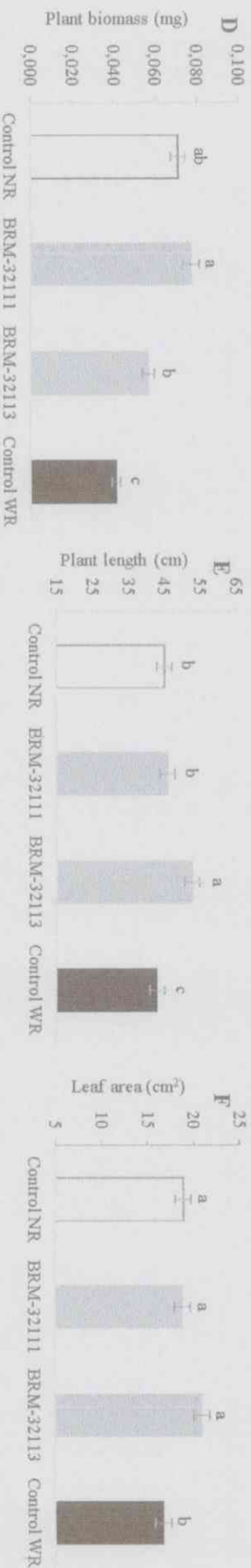
2485

2486

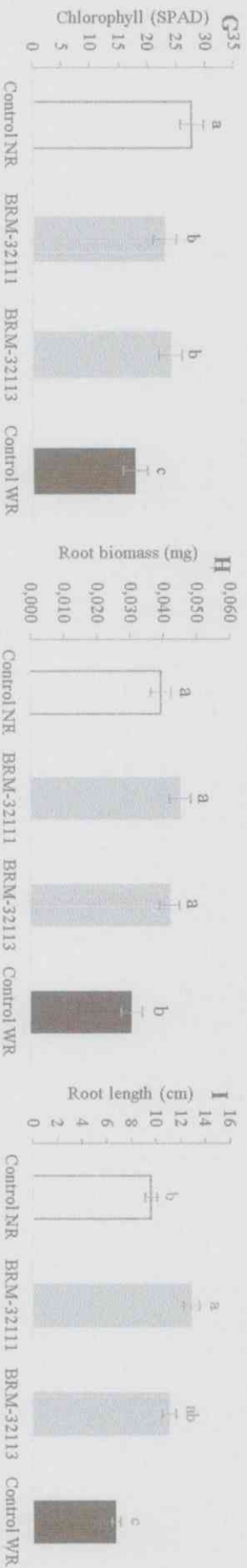
2487



2488



2489



2490

2491

Figure 2. Germinação (A), comprimento da plântula (B), e biomassa da plântula (C), sete dias após a germinação, e biomassa de planta (D),

2492 comprimento de planta (E), área foliar (F), clorofila (SPAD)(G), biomassa radicular (H) comprimento das raízes (I), aos 21 dias após a germinação,
 2493 em solo sem resíduo (NR) e com resíduo (WR) de plantas de arroz. Tratamento controle (não inoculado), e plantas inoculadas com *Burkholderia*
 2494 *pyrrocinia*-BRM-32113 and *Pseudomonas fluorescens* BRM-32111. Barras seguidas de mesma letra minúscula não diferem (Duncan, $p < 0,05$),
 2495 $n=20$.
 2496

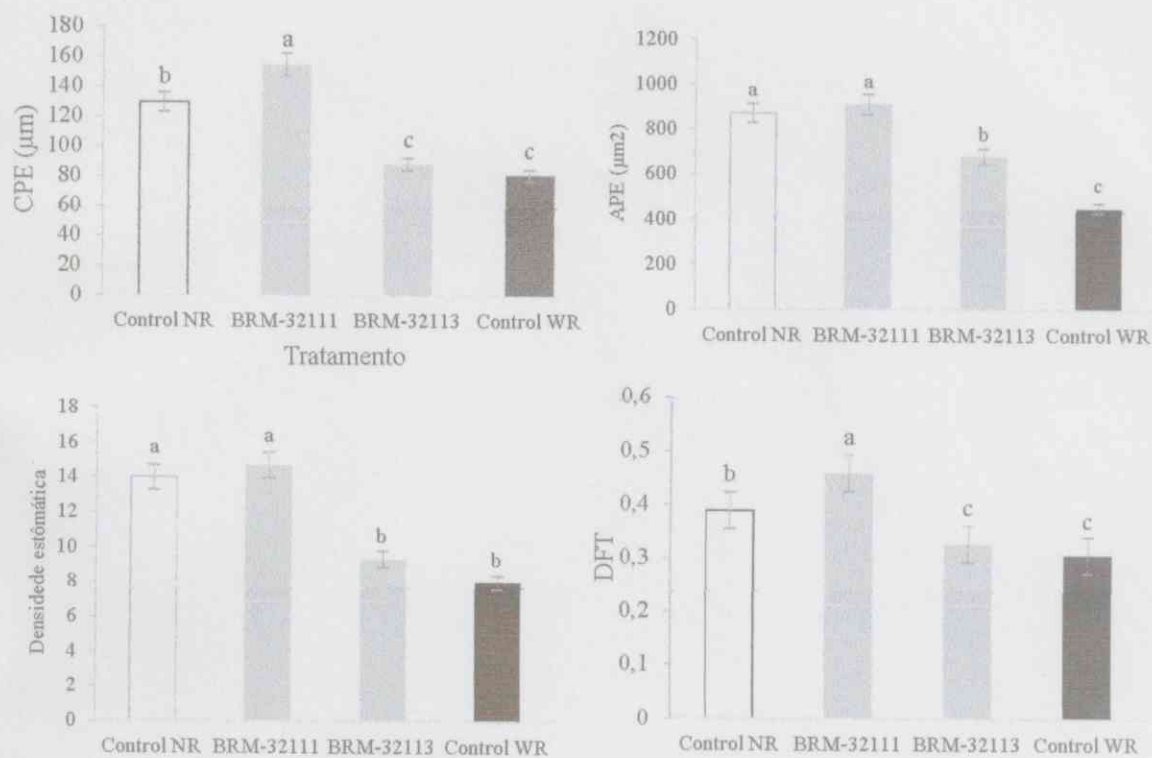


Figura 3. Comprimento do poro estomático (CPE) (A), área do poro estomático (APE) (B), densidade estômática (C), DFT = (massa fresca da folha / (unidade de área foliar x espessura da folha))(D), aos 21 dias após a germinação, em solo sem resíduo (NR) e com resíduo (WR) de plantas de arroz. Tratamento controle (não inoculado), e plantas inoculadas com *Burkholderia pyrrocinia*-BRM-32113 and *Pseudomonas fluorescens* BRM-32111. Barras seguidas de mesma letra minúscula não diferem (Duncan, $p < 0,05$), $n=20$.

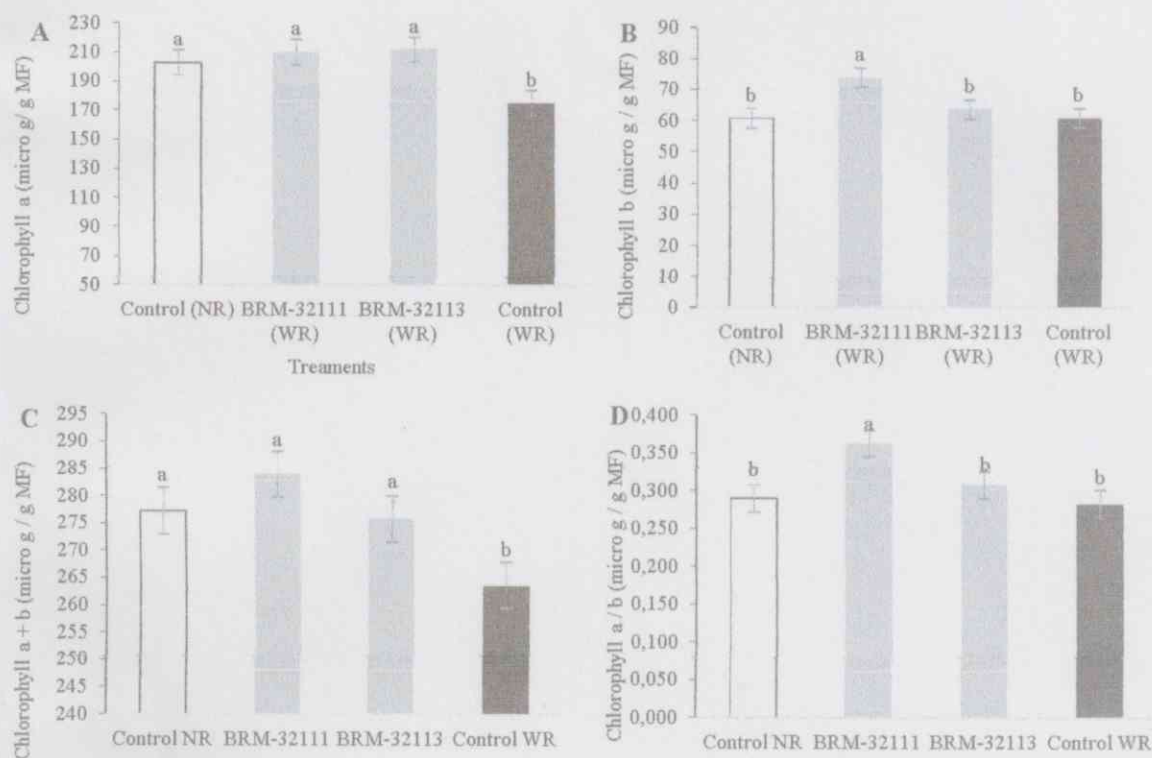


Figure 4. Clorofila a (micro g / g de MF)(A), clorofila b (micro g / g de MF)(B), clorofila a + b (micro g / g de MF)(C), clorofila a / b (micro g / g de MF)(D), aos 21 dias após a germinação, em solo sem resíduo (NR) e com resíduo (WR) de plantas de arroz. Tratamento controle (não inoculado), e plantas inoculadas com *Burkholderia pyrrocinia*-BRM-32113 and *Pseudomonas fluorescens* BRM-32111. Barras seguidas de mesma letra minúscula não diferem (Duncan, $p < 0,05$), $n=20$.

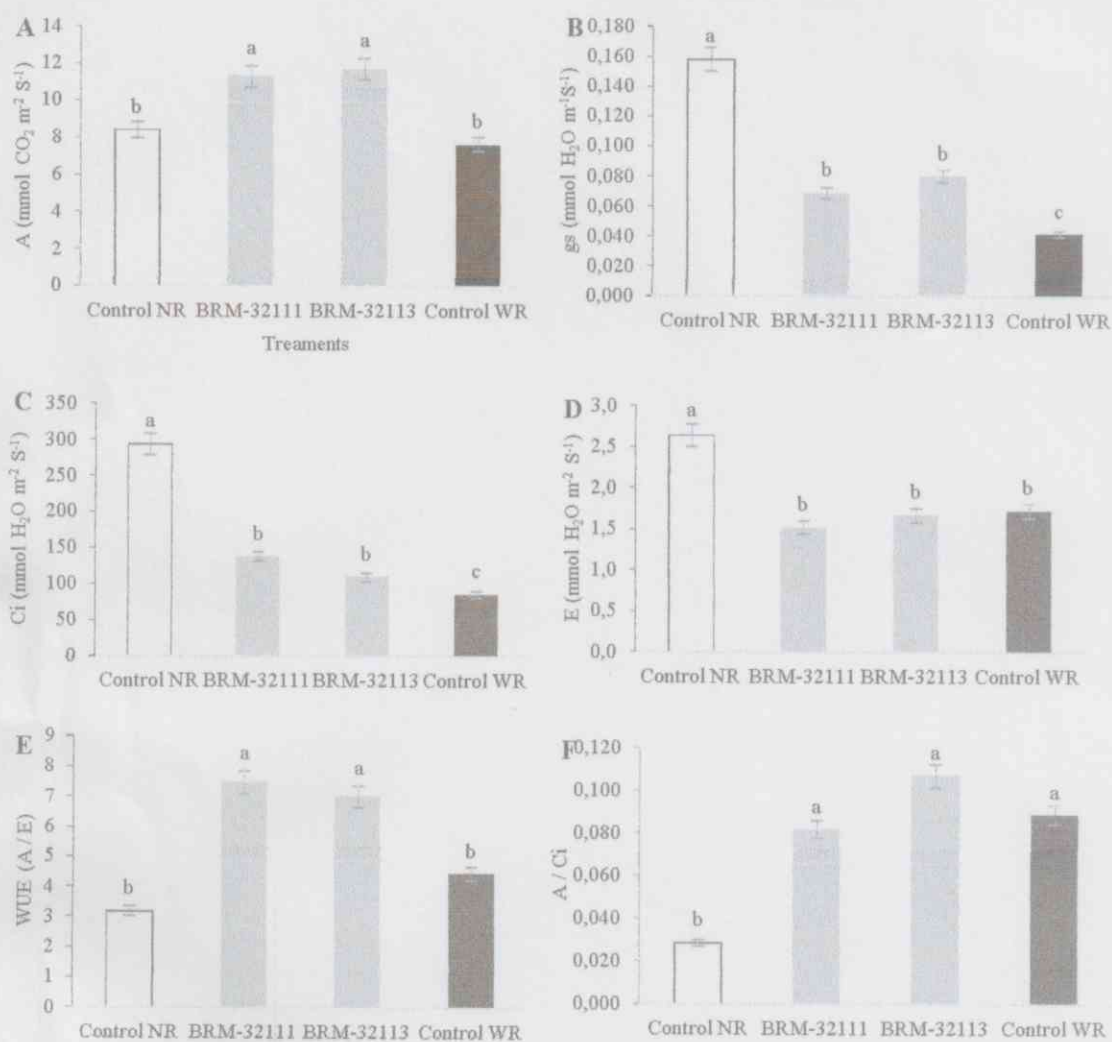


Figure 5. Taxa de assimilação líquida de carbono (A) ($\text{mmol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ S}^{-1}$) (A), condutância estomática ao vapor de água (gs) ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ S}^{-1}$) (B), carbono intercelular (C_i) ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ S}^{-1}$) (C), taxa de transpiração (E) ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ S}^{-1}$) (D), uso eficiente da água (WUE) (A/E) (E), eficiência de carboxilação da rubisco (A/C_i), aos 21 dias após a germinação, em solo sem resíduo (NR) e com resíduo (WR) de plantas de arroz. Tratamento controle (não inoculado), e plantas inoculadas com *Burkholderia pyrrocinia*-BRM-32113 and *Pseudomonas fluorescens* BRM-32111. Barras seguidas de mesma letra minúscula não diferem (Duncan, $p < 0,05$), $n=20$.

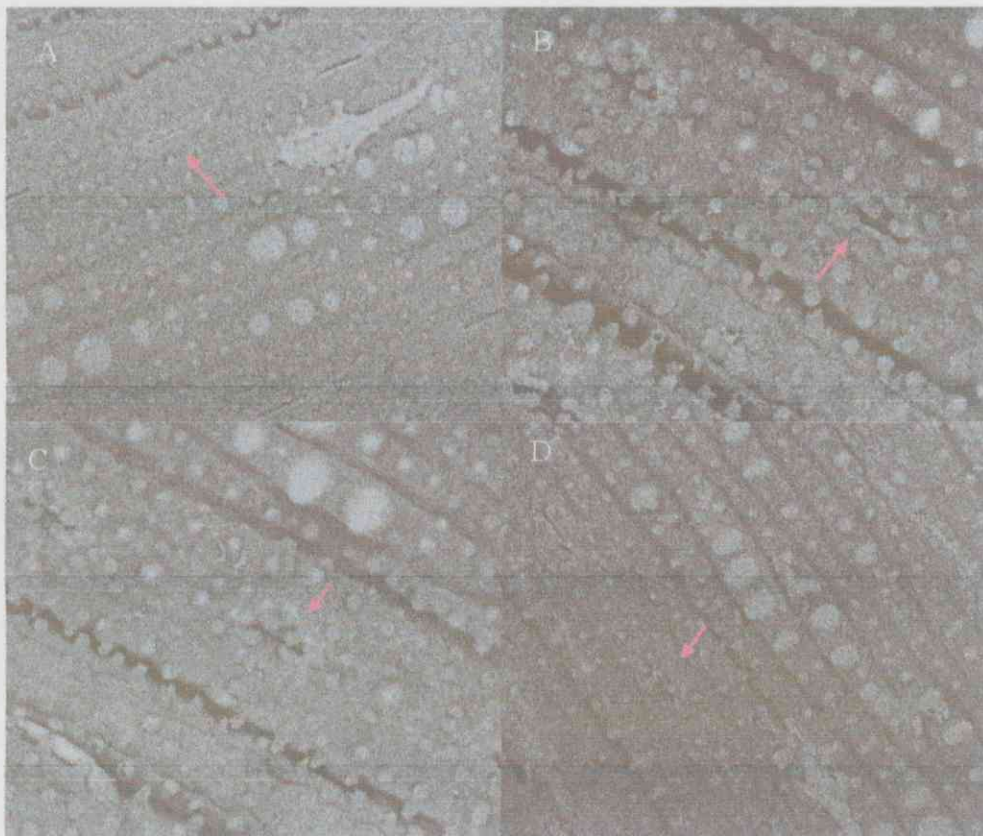


Figure 6. Electromicrografia da face abaxial de folhas de arroz obtida de sementes tratadas com PGPR, 21 dias após semeadura em solo sem resíduo (NR) e com resíduo (WR). Controle em solo NR (A), e BRM-32111 WR (B), BRM-32113 WR(C), Control WR (D). Estômatos (setas vermelhas).

Tabela 2. Estimativa dos coeficientes de correlação linear entre as variáveis de crescimento das plantas de arroz aos 21 dias após o semeadura.

	TB	PL	LA	RB	RL	Chl a	Chl b	Chl a+b	Chl a/b	A	gs	CI	E	WUE	A / CI
TB	0,000	0,931	0,259	0,182	0,429	0,633	0,216	0,500	0,125	0,040	0,430	0,749	0,282	0,328	0,869
PL	0,019	0,000	0,000	0,908	0,000	0,180	0,661	0,075	0,828	0,752	0,420	0,640	0,449	0,592	0,305
LA	0,240	0,763	0,000	0,938	0,185	0,137	0,652	0,086	0,771	0,886	0,604	0,532	0,599	0,540	0,293
RB	-0,282	0,025	-0,017	0,000	0,951	0,446	0,001	0,648	0,000	0,148	0,042	0,042	0,078	0,095	0,963
RL	-0,169	0,712	0,280	0,013	0,000	0,879	0,777	0,792	0,949	0,530	0,124	0,185	0,137	0,174	0,750
Chl a	0,103	0,283	0,313	0,163	-0,033	0,000	0,365	0,000	0,031	0,247	0,489	0,568	0,542	0,485	0,586
Chl b	0,262	0,094	0,097	-0,646	-0,061	-0,193	0,000	0,763	0,000	0,018	0,435	0,478	0,721	0,878	0,324
Chl a+b	-0,145	0,370	0,357	0,098	0,057	0,666	0,065	0,000	0,109	0,241	0,179	0,251	0,246	0,222	0,614
Chl a/b	0,322	-0,047	-0,063	-0,701	-0,014	-0,442	0,899	-0,336	0,000	0,062	0,584	0,574	0,842	0,995	0,325
A	0,421	-0,068	-0,031	-0,304	-0,135	0,246	0,480	0,249	0,386	0,000	0,838	0,742	0,334	0,496	0,890
Gs	0,169	-0,173	0,111	0,419	-0,323	-0,149	-0,167	-0,284	-0,118	0,044	0,000	0,000	0,000	0,000	0,052
CI	0,069	-0,101	0,134	0,418	-0,280	-0,123	-0,152	-0,244	-0,121	-0,071	0,957	0,000	0,000	0,000	0,002
E	0,229	-0,162	0,113	0,367	-0,312	-0,131	-0,077	-0,246	-0,043	0,206	0,981	0,917	0,000	0,000	0,045
WUE	-0,209	0,115	-0,131	-0,349	0,287	0,150	0,033	0,259	0,001	-0,146	-0,969	-0,959	-0,978	0,000	0,003
A / CI	-0,036	-0,218	-0,224	0,010	-0,069	0,117	-0,210	0,108	-0,210	0,030	-0,401	-0,590	-0,413	0,576	0,000

2573 Total biomass (TB), plant length (PL), leaf area (LA), root biomass (RB), root length (RL), taxa de assimilação líquida de carbono
 2574 (4), condutância estomática ao vapor de água (gs), carbono intercelular (CI), taxa de transpiração (E), uso eficiente de água (WUE), eficiência da
 2575 carboxilação da rubisco (A / CI). Software Past 2.0 (p < 0,05).

4. Conclusões gerais

O presente estudo evidenciou que as PGPR testadas são eficientes no auxílio a planta a tolerar o estresse hídrico em lâminas de água no solo de até 62 % nesta lâmina as plantas atingem a biomassa crítica, e mitigaram os danos fisiológicos ocasionados pelos aleloquímicos, sendo que, o isolado *P. fluorescens*-BRM-3211 foi mais eficiente, em amenizar os efeitos negativos morfo-anatômicos em lâminas de água no solo de até 50 % da capacidade de campo, e no WUE em 50 % da capacidade de campo. Estudos de campo devem ser realizados para investigar o manejo da cultura com uso de PGPR em terras altas e sua eficiência.