RELAÇÕES BIOQUÍMICAS E MOLECULARES DA GERMINAÇÃO E EMERGÊNCIA EM ARROZ VERMELHO, INOCULADO COM *Herbaspirillum seropedicae*

CRISTIANO OLIVEIRA BONFIM

UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA

CAMPINA GRANDE, PB.

AGOSTO DE 2022

RELAÇÕES BIOQUÍMICAS E MOLECULARES DA GERMINAÇÃO E EMERGÊNCIA EM ARROZ VERMELHO, INOCULADO COM *Herbaspirillum seropedicae*

CRISTIANO OLIVEIRA BONFIM

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Estadual da Paraíba / Embrapa Algodão, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre (M.Sc.) em Ciências Agrárias / Área de concentração: Biotecnologia e Melhoramento Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Henrique Salvino Gadêlha Meneses

CAMPINA GRANDE, PB.

AGOSTO DE 2022

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

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL-UEPB

RELAÇÕES BIOQUÍMICAS E MOLECULARES DA GERMINAÇÃO E EMERGÊNCIA EM ARROZ VERMELHO, INOCULADO COM *Herbaspirillum seropedicae*

CRISTIANO OLIVEIRA BONFIM

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Estadual da Paraíba / Embrapa Algodão, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre (M.Sc.) em Ciências Agrárias / Área de concentração: Biotecnologia e Melhoramento Vegetal.

Aprovada em ___ de agosto de 2022

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Carlos Henrique Salvino Gadelha Meneses (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (PPGCA/UEPB)

Dr. Diogo Gonçalves Neder (examinador interno)
Universidade Estadual da Paraíba (PPGCA/UEPB)

Prof. Dr. Jennifer Souza Tomaz (examinador interno)
Universidade Federal do Amazonas (PPGCASA/UFAM)

SUMÁRIO

SUMÁRIO iii
LISTA DE TABELAS v
LISTA DE FIGURAS vi
LISTA DE SIGLAS vii
RESUMO viii
ABSTRACT ix
1. INTRODUÇÃO 10
2. OBJETIVOS 12
2.1. Objetivo geral 12
2.2. Objetivos específicos 12
3. REVISÃO DE LITERATURA 13
3.1. Arroz vermelho 13
3.2. Germinação de sementes 14
3.3. Giberelinas 16
3.4. Ação das giberelinas sobre a germinação de gramíneas 17
3.5. Ação de bactérias promotoras de crescimento em plantas sobre a germinação 18
3.6. Herbaspirillum seropedicae 19
4. MATERIAL E MÉTODOS 21
4.1. Caracterização da área experimental 21
4.2. Pré-teste de germinação das sementes 22

4.3. Tratamentos das sementes 22
4.4. Tratamentos em estudo 23
4.5. Processo de inoculação das sementes 23
4.6. Semeadura e teste de germinação 24
4.7. Variáveis analisadas 25
4.7.1 Fisiológicas e de crescimento 25
4.7.2 Bioquímicas 27
4.8. Análises estatísticas 28
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO 29
5.1. Contagem do número de células viáveis do inoculante e nas sementes 29
5.2. Variáveis fisiológicas e de crescimento 30
5.3. Variáveis bioquímicas 35
6. CONCLUSÕES 38
7. REFERÊNCIAS 39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Contagem realizada no inoculante produzido e nas sementes inoculadas com a estirpe *H. seropedicae*, utilizada no experimento. Campina Grande-PB, 2022. 30

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química das giberelinas GA_1, GA_3, GA_4, GA_7. Fonte: Lavagnini *et al.,* 2014, Campina Grande, PB, 2022. 17
Figura 2. Germinação (A) e índice de velocidade de germinação (B) de sementes de arroz vermelho mediante inoculação com *H. seropedicae.* Campina Grande, PB, 2022..... 31
Figura 3. Primeira contagem de germinação de sementes de arroz vermelho aos cinco dias após a semeadura, inoculadas com *H. seropedicae* nas sementes. Campina Grande, PB, 2022. 32
Figura 4. Comprimento radicular (A) e comprimento da parte aérea (B) de plântulas de arroz vermelho mediante a inoculação de *H. seropedicae* nas sementes. Campina Grande, PB, 2022. 33
Figura 5. Massa fresca total (A) e massa seca total (B) de plântulas de arroz vermelho com sementes não embebidas em água, embebidas em água e em solução de ácido giberélico e inoculadas com *H. seropedicae*, aos 14 dias após semeadura. Campina Grande, PB, 2022. 34
Figura 6. Atividade da α-amilase (A) e atividade da fosfatase ácida de plântulas de arroz vermelho mediante a não embebição e embebição em água, em solução de ácido giberélico e inoculação de *H. seropedicae* nas sementes. Campina Grande, PB, 2022..... 37

LISTA DE SIGLAS

°C─Graus Celsius
µg─Microgramas
µL─ Microlitros
ANVISA─Agência Nacional de Vigilância Sanitária
B.O.D─Demanda biológica de oxigênio
BPCP─Bactérias promotoras do crescimento de plantas
cm─Centímetro
G─Giros
g─Gramas
GA/GAs─ Giberelina/giberelinas
GA_3─ Ácido giberélico
Hs─*Herbaspirillum seropedicae*
kg─Quilogramas
Log─Logaritmo
mg─ Miligramas
min─Minutos
mM─Milimolar
nm─Nanômetros
nmoles─Nanomoles
PB─ Paraíba
pb─ Pares de bases
pH─Potencial hidrogeniônico
PVC─Policloreto de vinila
SE─ sementes embebidas em água e/ou ácido giberélico
SNE─ Sementes não embebidas em água
UBQ5─Ubiquitina
USDA─ Departamento de Agricultura dos Estados Unidos

RESUMO

BONFIM, C.O. Relações bioquímicas e moleculares da germinação e emergência em arroz vermelho, inoculado com *Herbaspirillum seropedicae*. Campina Grande, PB, 2022. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias). Área de concentração: Biotecnologia e Melhoramento Vegetal. Universidade Estadual da Paraíba – UEPB.

O estudo investigou o potencial da bactéria *Herbaspirillum seropedicae* (Hs) na otimização da germinação e crescimento inicial do arroz vermelho (*Oryza sativa* L.). A pesquisa utilizou seis tratamentos diferentes, incluindo sementes embebidas em água, ácido giberélico, e inoculadas com *H. seropedicae*. Os resultados revelaram que o tratamento com sementes não embebidas e inoculadas com *H. seropedicae* promoveu aumentos expressivos em várias variáveis, como germinação, índice de velocidade de germinação, comprimento radicular, massa fresca total, entre outros, em comparação com sementes não embebidas e não inoculadas. A análise estatística confirmou a significância dos efeitos dos tratamentos, destacando a influência positiva da bactéria nas variáveis fisiológicas, e bioquímicas. A concentração da solução de ácido giberélico (GA3) também desempenhou um papel importante nos resultados observados. Os resultados apontam para o potencial agronômico e biotecnológico de *H. seropedicae* na promoção do crescimento do arroz vermelho, independentemente da embebição das sementes. Essas descobertas sugerem que a inoculação com *H. seropedicae* pode ser uma estratégia eficaz para melhorar a germinação e o desenvolvimento inicial dessa cultura, fornecendo insights valiosos para práticas agrícolas mais sustentáveis e eficientes.

Palavras-chave: *Oryza sativa* L.; Bactéria endofítica promotora de crescimento vegetal; fosfatase ácida; α-amilase.

ABSTRACT

BONFIM, C.O. Biochemical and molecular relationships of germination and emergency in red rice, inoculated with *Herbaspirillum seropedicae*. Campina Grande, Paraíba State, Brazil, 2022. Dissertation (Graduate Program in Agricultural Sciences,). Concentration Area: Biotechnology and Plant Improvement. State University of Paraíba- UEPB

The study investigated the potential of the bacterium *Herbaspirillum seropedicae* (Hs) in optimizing the germination and initial growth of red rice (*Oryza sativa* L.). The research employed six different treatments, including seeds soaked in water, gibberellic acid, and inoculated with *H. seropedicae*. Results revealed that the treatment with non-soaked seeds inoculated with *H. seropedicae* significantly increased various variables such as germination, germination speed index, root length, total fresh mass, among others, compared to non-soaked and non-inoculated seeds. Statistical analysis confirmed the significance of the treatment effects, highlighting the positive influence of the bacterium on physiological, and biochemical variables. The concentration of gibberellic acid solution (GA3) also played a crucial role in the observed outcomes. The findings point to the agronomic and biotechnological potential of *H. seropedicae* in promoting red rice growth, regardless of seed soaking. These results suggest that inoculation with *H. seropedicae* could be an effective strategy to enhance the germination and early development of this crop, providing valuable insights for more sustainable and efficient agricultural practices.

Key-words: *Oryza sativa* L.; Endophytic bacteria promoting plant growth; acid phosphatase; α-amylase.

1. INTRODUÇÃO

A germinação e emergência de plantas desempenham papéis fundamentais no ciclo de vida vegetal, representando fases cruciais que determinam o sucesso do estabelecimento e desenvolvimento inicial das culturas. O arroz vermelho (*Oryza sativa*), uma variante notável da cultura do arroz, tem atraído crescente atenção devido à sua resistência a herbicidas e às adaptações que lhe conferem uma vantagem competitiva sobre variedades cultivadas (FERREIRA *et al.,* 2014). Compreender as relações bioquímicas e moleculares subjacentes à germinação e emergência em arroz vermelho torna-se, portanto, um tema de pesquisa de grande relevância, permitindo uma abordagem mais refinada para o manejo eficaz dessa planta invasora (MENESES, 2010).

Neste contexto, a presente dissertação propõe uma investigação aprofundada das complexas interações entre o arroz vermelho e o microrganismo *Herbaspirillum seropedicae*, um diazotrófico associado a plantas conhecido por sua capacidade de promover o crescimento vegetal (RODRIGUES *et al.,* 2012). A inoculação com *H. seropedicae* apresenta-se como um potencial agente modulador dessas relações, uma vez que pode influenciar diretamente os processos bioquímicos e moleculares subjacentes à germinação e emergência do arroz vermelho (RODRIGUES *et al.,* 2015).

Ao considerar a perspectiva da bioquímica, examinaremos as vias metabólicas envolvidas nos estágios iniciais do ciclo de vida do arroz vermelho, identificando os mecanismos bioquímicos que sustentam sua germinação e emergência. Paralelamente, a análise molecular fornecerá insights sobre as expressões gênicas e as respostas genéticas desencadeadas pela interação entre o arroz vermelho e H. seropedicae, delineando os eventos moleculares que determinam o destino dessa planta invasora.

A importância intrínseca deste estudo reside na aplicação prática de seus resultados para o desenvolvimento de estratégias sustentáveis de manejo, visando controlar efetivamente o arroz vermelho e, ao mesmo tempo, explorar o potencial benéfico da associação com *H. seropedicae* para promover o crescimento vegetal. Com isso, esta dissertação busca contribuir significativamente para o avanço do conhecimento científico no campo da fisiologia vegetal e microbiologia, oferecendo perspectivas valiosas para a agricultura sustentável e a gestão responsável de recursos naturais.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito potencial da *H. seropedicae* sobre a germinação e o crescimento inicial de arroz vermelho sob condições controladas.

2.2. Objetivos específicos

Analisar o crescimento de plântulas de arroz vermelho inoculadas com *H. seropedicae,* em ambiente protegido;

Avaliar a germinação de arroz vermelho após a inoculação com *H. seropedicae*, sob condições controladas;

Avaliar os efeitos dos tratamentos de inoculação com *H. seropedicae* no arroz vermelho em contraste com a aplicação de ácido giberélico, na fisiologia e crescimento inicial e bioquímico.

.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Arroz vermelho

O arroz vermelho (*Oryza sativa* L.), uma variante notável da cultura do arroz, tem atraído crescente interesse devido às suas características únicas e desafios agronômicos associados (GUIMARÃES e BALDANI, 2013). Originário do sudeste asiático, o arroz vermelho ganhou destaque global devido à sua resistência a herbicidas, apresentando-se como uma planta invasora robusta capaz de competir efetivamente com as variedades cultivadas (CASTRO *et al.,* 2005; SANTOS *et al.,* 2014).

O arroz vermelho desempenha um papel significativo no cenário socioeconômico e ambiental, especialmente em regiões como o semiárido nordestino. Sua relevância está intrinsecamente ligada à segurança alimentar, pois representa uma fonte crucial de subsistência para comunidades locais (MENEZES *et al.,* 2011). No entanto, sua presença descontrolada pode impactar negativamente as culturas convencionais, comprometendo a produtividade e a sustentabilidade agrícola.

Uma das características distintivas do arroz vermelho é sua notável resistência a herbicidas. Essa resistência tem implicações diretas no manejo de lavouras de arroz, exigindo abordagens específicas para controlar seu crescimento e minimizar seu impacto nas culturas comerciais

(PEREIRA *et al.,* 2008). Estudos sobre os mecanismos genéticos e fisiológicos subjacentes a essa resistência têm sido uma área de pesquisa relevante.

A coexistência do arroz vermelho com variedades cultivadas pode resultar em impurezas e cruzamento, afetando a qualidade e o rendimento do arroz convencional (WEBER, 2012). Isso levanta desafios adicionais para os agricultores, que devem adotar estratégias eficazes para minimizar a presença indesejada do arroz vermelho em suas colheitas (BRITO *et al.,* 2014).

À medida que a compreensão dos aspectos moleculares e bioquímicos do arroz vermelho avança, abre-se espaço para abordagens biotecnológicas inovadoras. A pesquisa procura não apenas controlar o arroz vermelho, mas também explorar seu potencial benéfico. A inoculação com microrganismos como *Herbaspirillum seropedicae* emerge como uma estratégia promissora para melhorar o crescimento do arroz vermelho de maneira sustentável.

O manejo eficaz do arroz vermelho continua sendo um desafio persistente. Estratégias integradas, que combinam abordagens agronômicas, genéticas e biotecnológicas, são essenciais para enfrentar essa questão complexa. Além disso, é crucial estabelecer políticas e práticas agrícolas que visem a coexistência equilibrada do arroz vermelho com as culturas tradicionais, maximizando os benefícios e minimizando os impactos negativos (Gusmão *et al*., 2008).

3.2.Germinação de sementes

A germinação de sementes é um fenômeno vital no ciclo de vida das plantas, marcando o início do desenvolvimento vegetativo (NASSIF *et al.,*1998). Este processo complexo é influenciado por uma variedade de fatores físicos, químicos e genéticos. Aqui abordamos os principais aspectos relacionados à germinação de sementes, explorando os mecanismos moleculares, os fatores externos que influenciam a germinação e as implicações práticas em agricultura e ecologia.

Os mecanismos moleculares da germinação envolvem uma interação intrincada de processos bioquímicos e genéticos (RIBEIRO *et al.,* 2012). As sementes passam por mudanças na expressão gênica, ativação de enzimas como amilases e lipases, e regulação hormonal, com a transição da dormência para o crescimento ativo (REIS *et al.,* 2014; GUIMARAES *et al.,* 2010; WAGNER JUNIOR *et al.,* 2005). Estudos recentes têm se concentrado na identificação de genes-chave e vias metabólicas que desempenham papéis cruciais nesse processo.

A germinação é sensível a fatores externos, incluindo temperatura, umidade, luz e gases. A temperatura ótima varia entre espécies, e a água é um pré-requisito essencial. A luz pode agir como um sinalizador para a germinação, sendo alguns tipos de sementes fotoblásticas, enquanto gases como

o etileno desempenham um papel na regulação hormonal associada à germinação (RIBEIRO *et al.,* 2012).

A dormência de sementes é um mecanismo adaptativo que impede a germinação sob condições desfavoráveis. A quebra de dormência pode ocorrer naturalmente com o tempo, ou ser induzida por fatores ambientais como variações de temperatura, incêndios florestais ou processos físicos como abrasão (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000).

A germinação é de suma importância na agricultura, influenciando diretamente o estabelecimento de culturas. A compreensão dos fatores que afetam a germinação é crucial para o manejo adequado de lavouras, otimizando a época de plantio e garantindo uma taxa de germinação eficaz para a maximização do rendimento (MARCOS FILHO, 2005).

A pesquisa contínua sobre germinação de sementes busca entender melhor os mecanismos moleculares subjacentes, desenvolver técnicas de quebra de dormência mais eficientes e explorar a variabilidade genética para melhorar a resistência ao estresse ambiental durante a germinação. A aplicação desses avanços na prática agrícola pode levar a estratégias mais sustentáveis e adaptáveis.

A germinação de sementes em ambientes secos representa um processo crítico no ciclo de vida das plantas, determinando sua capacidade de estabelecimento em condições áridas. As sementes, ao longo da evolução, desenvolveram mecanismos adaptativos sofisticados para sobreviver em ambientes secos (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000). A dormência, uma resposta comum, permite que as sementes permaneçam inativas até que as condições ambientais sejam favoráveis. Estruturas físicas, como cascas resistentes, são frequentemente observadas, minimizando a perda de água durante a germinação e protegendo as sementes contra estresses ambientais (MARCOS FILHO, 2005).

A germinação em ambientes secos é fortemente influenciada por fatores ambientais, incluindo temperatura, umidade do solo e presença de substâncias reguladoras. A variação na temperatura afeta a taxa de germinação, enquanto a umidade do solo desempenha um papel crítico na disponibilidade de água para as sementes. Substâncias hormonais, como ácido abscísico e giberelinas, desempenham papéis opostos na regulação da germinação, destacando complexas interações (RIBEIRO *et al.,* 2012).

Avanços recentes têm explorado estratégias inovadoras para melhorar a germinação em ambientes secos. O uso de biopolímeros hidroabsorventes em substratos de germinação demonstrou eficácia ao reter água, criando um ambiente propício para as sementes. Além disso, a manipulação genética para identificar e modificar genes relacionados à resistência à seca emerge como uma abordagem promissora para melhorar a germinação em condições áridas (MATSUMOTO, 2005).

Além de seu impacto ecológico, a germinação em ambientes secos tem implicações significativas na agricultura, especialmente em regiões propensas à escassez de água (TAIZ e ZEIGER, 2009). A identificação e desenvolvimento de variedades de culturas resistentes à seca tornam-se essenciais para garantir a segurança alimentar nessas áreas desafiadoras.

3.3.Giberelinas

As giberelinas (GAs) representam uma classe distinta de hormônios vegetais que desempenham um papel multifacetado no crescimento e desenvolvimento das plantas (TAIZ e ZEIGER, 2009). Esse fitormônio foi descoberto em 1926 pelo cientista japonês E. Kurosawa que estudava uma doença do arroz (*Oryza sativa*) denominada de doenças das "plantinhas loucas" onde as plantas de arroz cresciam rapidamente, mas sem produzir semente (LAVAGNINI *et al.,* 2014).

As giberelinas são cruciais para a regulação do crescimento, desde a germinação de sementes até a maturação dos frutos. Além disso, sua influência se estende à resposta das plantas a estresses ambientais, destacando a versatilidade desses hormônios. Uma compreensão abrangente desses processos é fundamental para otimizar o rendimento das culturas e enfrentar desafios agronômicos.

A cascata de síntese de giberelinas envolve múltiplos passos enzimáticos, com destaque para enzimas como a 1-aminociclopropano-1-carboxilato oxidase (ACO) e a ent-copalil difosfato sintase (CPS) (LAVAGNINI *et al.,* 2014). A regulação precisa da síntese e degradação desses hormônios é crítica para modulação do crescimento, sendo alvo de pesquisa intensiva.

O entendimento dos mecanismos de sinalização das giberelinas evoluiu consideravelmente. A ligação aos receptores específicos leva à degradação da proteína DELLA, liberando fatores de transcrição que ativam genes associados ao crescimento. As interações complexas entre as diferentes giberelinas e seus efeitos específicos em diferentes órgãos e estágios de desenvolvimento são áreas de investigação contínua (TAIZ e ZEIGER, 2009).

Além de suas funções clássicas na germinação, crescimento do caule e floração, as giberelinas desempenham papéis essenciais na formação de órgãos reprodutivos, senescência e resposta ao estresse (LAVAGNINI *et al.,* 2014). Compreender como essas funções se entrelaçam oferece insights valiosos para estratégias de manejo agronômico visando aprimorar a produção sustentável.

A manipulação das giberelinas tem implicações práticas significativas na agricultura. Abordagens biotecnológicas, como a modulação genética para otimizar a resposta às

giberelinas, têm o potencial de melhorar a qualidade das colheitas, aumentar a resistência a condições adversas e otimizar a eficiência no uso de recursos.

O ácido giberélico ($C_{19}H_{22}O_6$) é também um regulador de crescimento vegetal, cuja classificação toxicológica se enquadra na Classe IV, tendo seu uso agrícola autorizado para aplicação em sementes de arroz, cevada, feijão, milho, soja e trigo, bem como durante o crescimento e desenvolvimento destas plantas (ANVISA, 2012). Observa-se na Figura 1 a estrutura química desses grupos de giberelinas.

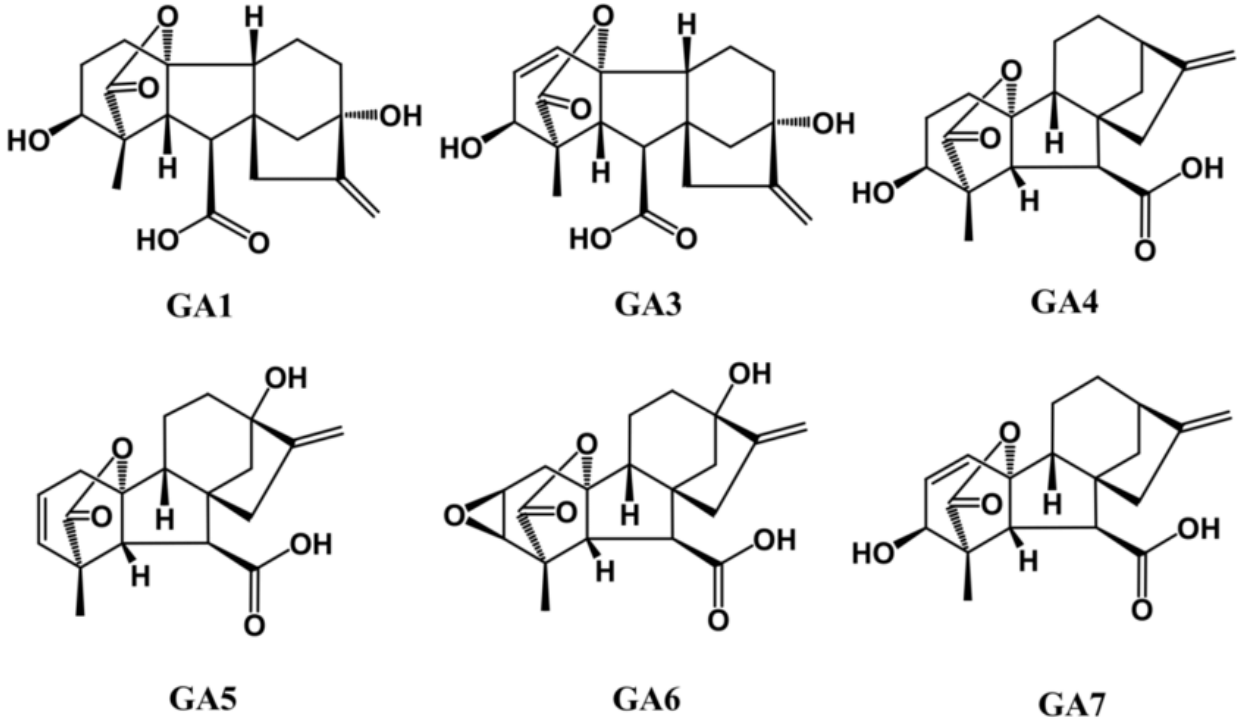

Figura 1. Estrutura química das giberelinas GA_1, GA_3, GA_4, GA_5, GA_6 e GA_7. Fonte: Xingfeng *et al.,* 2018, Campina Grande, PB, 2022.

3.4. Ação das giberelinas sobre a germinação de gramíneas

As giberelinas (GAs) são hormônios vegetais fundamentais que desempenham papéis cruciais na regulação do crescimento e desenvolvimento das plantas. A germinação de sementes é um estágio crítico no ciclo de vida das plantas, e nas gramíneas, que compreendem uma vasta família de plantas monocotiledôneas, esse processo é especialmente relevante devido à sua ampla distribuição e importância econômica na produção de alimentos e forragem (RODRIGUES et al., 2015).

A sinalização das giberelinas durante a germinação é um processo altamente regulado. A interação das giberelinas com seus receptores na membrana celular desencadeia uma cascata de eventos moleculares que resultam na degradação da proteína DELLA (CHIARELO, 2007). Isso

libera fatores de transcrição que ativam genes associados ao crescimento e desenvolvimento, influenciando diretamente a germinação das sementes.

Estudos têm consistentemente demonstrado que a aplicação exógena de giberelinas promove a germinação de sementes de gramíneas. Esse estímulo está associado ao aumento da expressão de genes responsivos às giberelinas, principalmente aqueles relacionados ao metabolismo de amidos e à biossíntese de enzimas digestivas que facilitam a mobilização de reservas durante a germinação (GROHS et al., 2012).

As giberelinas não apenas influenciam a germinação, mas também desempenham um papel crucial na emergência das plântulas e no crescimento inicial das gramíneas. A promoção do alongamento celular e o desenvolvimento do caule são efeitos diretos das giberelinas, contribuindo para o estabelecimento bem-sucedido das plântulas no ambiente (SANTOS *et al.,* 2013).

As giberelinas interagem de maneira complexa com outros hormônios vegetais, como citocininas e auxinas, para modular o desenvolvimento das plantas. Essas interações influenciam a plasticidade do crescimento e podem ter implicações específicas nas gramíneas, que exibem uma variedade de padrões de crescimento (FIOREZE e RODRIGUES, 2014).

O entendimento da ação das giberelinas nas gramíneas tem implicações biotecnológicas significativas. A manipulação genética para otimizar a resposta das plantas a esses hormônios pode ser uma estratégia promissora para melhorar características agronômicas, como a resistência ao estresse e o rendimento de culturas.

3.5. Ação de bactérias promotoras de crescimento em plantas sobre a germinação

As BPCV, notadamente pertencentes aos gêneros Azospirillum, Herbaspirillum, e Pseudomonas, entre outros, têm demonstrado a capacidade de melhorar o crescimento e desenvolvimento das plantas. A atenção crescente está sendo direcionada para compreender como essas bactérias influenciam a fase inicial do ciclo de vida das plantas, particularmente a germinação (RODRIGUES *et al.,* 2012).

As BPCV impactam a germinação através de uma variedade de mecanismos moleculares e fisiológicos. A produção de fitohormônios, como auxinas e citocininas, estimula o desenvolvimento radicular e promove a mobilização de reservas durante a germinação. Além disso, algumas BPC podem facilitar o acesso a nutrientes essenciais, melhorando a absorção pelas sementes (MATOS et al., 2015).

Estudos destacam consistentemente que a inoculação de sementes com BPCV resulta em um aumento na velocidade e uniformidade da germinação. O estímulo adicional no crescimento inicial, incluindo o comprimento radicular e da parte aérea, sugere que essas bactérias

desencadeiam respostas específicas que beneficiam o estabelecimento das plântulas (GIRIO et al., 2015).

Sugimura et al. (2015), estudando a germinação de sementes verificou que BPCV influenciam o metabolismo das plantas durante a germinação, aumentando a atividade de enzimas como amilases, envolvidas na degradação de amido, e fosfatases, essenciais para a disponibilidade de fósforo. Essas mudanças bioquímicas indicam uma influência profunda no uso eficiente de nutrientes durante os estágios iniciais do crescimento.

Segundo Schlindwein et al. (2008), isolados de *Bradyrhizobium* sp. produzem baixas quantidades de ácido indol-acético-AIA (1,2 a 3,3µg mL^{-1}) e elevam alguns dos parâmetros de germinação e de crescimento das plântulas de alface em relação ao tratamento sem inoculação com rizóbios. De acordo com estes autores, é recomendável a inoculação de sementes de alface com rizóbios que produzem baixas quantidades de AIA, atua como promotora de crescimento e melhora os parâmetros de germinação das sementes.

As BPC demonstraram a capacidade de melhorar a tolerância ao estresse durante a germinação, mitigando os efeitos adversos de condições ambientais desfavoráveis. Mecanismos como a produção de substâncias promotoras de resistência e a indução de respostas antioxidantes contribuem para uma maior robustez das plântulas (CONCEIÇÃO *et al.,* 2008).

A compreensão aprofundada dos mecanismos de ação das BPC na germinação oferece oportunidades para aplicações práticas na agricultura. A inoculação de sementes com BPC pode ser uma estratégia sustentável para melhorar a eficiência do uso de nutrientes, reduzir a dependência de fertilizantes químicos e promover o crescimento saudável das culturas (SOARES *et al.,* 2014).

3.6. Herbaspirillum seropedicae

Segundo Euzéby (2014) hoje o gênero *Herbaspirillum* compreende 16 espécie de bactéria que são: *H. seropedicae* (BALDANI et al. 1986), *H. aquaticum* (DOBRITSA et al. 2010), *H. aurantiacum* (CARRO et al. 2012), *H. autotrophicum* (ARAGNO & SCHLEGEL, 1978 reclassificado por DING & YOKOTA, 2004), *H. canariense* (CARRO et al. 2012), *H. chlorophenolicum* (IM et al. 2004), *H. frisingense* (KIRCHHOF et al. 2001), *H. hiltneri* (ROTHBALLER et al. 2006), *H. huttiense* (LEIFSON 1962, reclassifcado por DING & YOKOTA, 2004), *H. huttiense* subsp. huttiense (LEIFSON, 1962; DOBRITSA et al. 2010), *H. huttiense* subsp. putei (DING & YOKOTA 2004, reclassificado por DOBRITSA et al. 2010), *H. lusitanum* (VALVERDE et al. 2003), *H. putei* (DING & YOKOTA 2004), *H. rhizosphaerae*

(JUNG et al. 2007), *H. rubrisubalbicans* (CHRISTOPHER & EDGERTON, 1930 reclassificado por BALDANI et al. 1996) e *H. soli* (CARRO et al. 2012).

A espécie *H. seropedicae* foi descrita em 1986 como sendo uma bactéria diazotrófica endofítica, Gram-negativa, geralmente vibrióide, às vezes helicoidais e membro da subdivisão β das Proteobactérias. Foi a primeira espécie descrita do gênero e isolada de raízes de milho, sorgo, e arroz (BALDANI et al., 1986). Mais tarde foi isolada de raízes, folhas e colmos de cana-de-açúcar, *Brachiaria decumbens* e *Digitaria decumbens* (BALDANI et al., 1996), de raízes, caules e folhas de cana-de-açúcar cultivada na Austrália (BODDEY et al., 1998), dendezeiro e pupunheira (FERREIRA et al., 1995), bananeiras (CRUZ et al., 2001), capim elefante (REIS et al., 2000), e arroz inundado (RODRIGUES, 2004; BRASIL, 2005).

Esta espécie possui capacidade de oxidar diversas fontes de carbono e fixar nitrogênio atmosférico em ambientes microaerófilos (BALDANI et al., 1986). Difere das espécies do gênero Azospirillum pelo seu menor tamanho, por apresentar mais de um flagelo, pela maior tolerância a variações de pH (5,3 a 8,0), pela atividade nitrogenase mais tolerante ao oxigênio (pO2 de até 3% contra 2% das espécies de Azospirillum), e por ter um conteúdo de G+C inferior em comparação com as bactérias do gênero Azospirillum (BALDANI et al., 1986).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Caracterização da área experimental

A condução do experimento ocorreu no Laboratório de Biotecnologia Vegetal, localizado no Complexo Integrado de Pesquisa Três Marias, pertencente à Universidade Estadual da Paraíba (UEPB-CAMPUS I), situado em Campina Grande, PB. Este centro de pesquisa proporcionou as instalações e o ambiente adequados para a realização do estudo, garantindo condições controladas necessárias para a condução precisa dos ensaios. A pesquisa concentrou-se na fase crucial de germinação das sementes de arroz vermelho. Durante essa etapa, foram investigados os efeitos da aplicação de giberelina e da inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* (*H. seropedicae*) sobre o processo de germinação. A escolha dessas variáveis reflete a busca por compreender o impacto desses dois elementos no desenvolvimento inicial das plantas, explorando a interação entre o hormônio vegetal giberelina e a bactéria promotor de crescimento *H. seropedicae*. Ao realizar o experimento nesse ambiente controlado, o estudo buscou contribuir para o avanço do conhecimento nas áreas de biotecnologia vegetal e interações planta-microrganismo. Os resultados obtidos a partir desta pesquisa podem fornecer insights valiosos para a aplicação prática de estratégias que visem otimizar a germinação e o crescimento inicial de sementes de arroz vermelho, beneficiando assim a agricultura local e potencialmente contribuindo para o desenvolvimento de práticas agronômicas mais eficientes e sustentáveis.

4.2. Pré-teste de germinação das sementes

O objetivo deste pré-teste foi avaliar a qualidade fisiológica das sementes de arroz vermelho do genótipo 405 Embrapa Meio Norte. Para realizar essa avaliação, 100 sementes não foram embebidas em água e foram submetidas a um pré-teste de germinação. Este experimento envolveu a germinação dessas sementes em duas caixas gerbox, seguindo a metodologia descrita nos itens 4.3 e 4.6, que tratam do manejo das sementes e do processo de semeadura. É crucial destacar que, diferentemente do experimento principal, neste pré-teste não foram realizadas a inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* e a aplicação de ácido giberélico. Além disso, as sementes não foram embebidas em água antes do processo de germinação. Esse delineamento permitiu avaliar a capacidade intrínseca de germinação das sementes, sem a influência de tratamentos adicionais. Os resultados do pré-teste indicaram que as sementes apresentaram boa qualidade fisiológica, como evidenciado pela percentagem de germinação. Aos 5 dias, observou-se uma taxa de germinação de 78% e 80%, enquanto aos 14 dias, esse índice aumentou para 80% e 84%. O índice de velocidade de emergência, medido em 116 e 127, também corroborou esses resultados positivos.

4.3. Tratamentos das sementes

O procedimento adotado visou evitar a contaminação das sementes por fungos epifíticos provenientes das próprias sementes. Para alcançar esse objetivo, foi realizada a remoção dos tegumentos das sementes. Posteriormente, antes do processo de embebição, as sementes foram submetidas a um protocolo de desinfestação para assegurar a eliminação de possíveis fungos patogênicos. O protocolo consistiu na desinfestação com álcool a 70% por 30 segundos, seguido de hipoclorito de sódio a 2% também por 30 segundos. Essas etapas foram sucedidas por uma lavagem com água destilada autoclavada por 30 segundos, repetida duas vezes para garantir a remoção completa dos agentes desinfestantes. Após esse rigoroso processo de desinfestação, as sementes foram submetidas à secagem em um fluxo laminar, proporcionando um ambiente controlado para evitar possíveis contaminações durante esse estágio crucial. Posteriormente, as sementes foram prontas para os próximos passos do experimento, incluindo a embebição e inoculação, conforme detalhado nos itens 4.4 e 4.5, respectivamente. Esse método de desinfestação adotado, combinando álcool, hipoclorito de sódio e lavagem subsequente, é comumente empregado para reduzir a carga microbiológica nas sementes, promovendo condições assépticas ideais para a realização de experimentos. A desinfestação eficaz é crucial para garantir resultados confiáveis, minimizando a interferência de micro-organismos indesejados no desenvolvimento das

sementes durante o experimento. Esse rigoroso controle sanitário destaca a seriedade e a precisão do protocolo experimental, fornecendo uma base sólida para a interpretação dos resultados relacionados à embebição e inoculação das sementes.

4.4. Tratamentos em estudo

O experimento foi conduzido para avaliar a germinação de sementes de arroz vermelho (*Oryza sativa* L.), especificamente do genótipo 405 Embrapa Meio Norte. A disposição experimental adotada foi um delineamento inteiramente casualizado, composto por seis tratamentos distintos: T1 = SNE (sementes não embebidas), T2 = SE H2O (sementes embebidas em água por 24 horas), T3 = SE H_2O + GA3 (sementes embebidas em solução de ácido giberélico por 24 horas), T4 = SE H_2O + HS (sementes embebidas em água por 24 horas + Herbaspirillum seropedicae), T5 = SE H_2O + GA3 + HS (sementes embebidas em solução de ácido giberélico por 24 horas + *Herbaspirillum seropedicae*), e T6 = SNE + HS (sementes não embebidas + Herbaspirillum seropedicae), cada um com seis repetições.

Para a inoculação da bactéria, *Herbaspirillum seropedicae*, foi utilizado turfa como veículo, sendo que nas testemunhas, a turfa não continha a bactéria. Além disso, a solução de ácido giberélico (GA3) empregada teve uma concentração de 50 mg L^{-1}. A bactéria, após 48 horas de crescimento, foi aplicada durante o processo de embebição das sementes, que ocorreu em água e na solução de ácido giberélico por um período de 24 horas, conforme descrito anteriormente.

A manipulação das sementes foi realizada em béqueres contendo água destilada autoclavada e a solução de ácido giberélico. Os béqueres, contendo os tratamentos com as sementes embebidas, foram envolvidos em papel alumínio para proteção contra a luz e colocados em um ambiente de fluxo laminar para garantir condições livres de contaminantes por um período de 24 horas. Em seguida, o processo de inoculação das sementes foi realizado de acordo com os procedimentos detalhados no item 4.5.

Esse rigoroso protocolo experimental foi projetado para avaliar especificamente o impacto da inoculação com Herbaspirillum seropedicae e da aplicação de ácido giberélico na germinação das sementes de arroz vermelho, proporcionando uma base sólida para a interpretação dos resultados e a obtenção de conclusões confiáveis sobre os efeitos desses tratamentos.

4.5. Processo de inoculação das sementes

O processo de inoculação envolveu o uso de uma estirpe de *Herbaspirillum seropedicae* com características específicas, incluindo a capacidade de solubilizar fósforo in vitro, produção de ácido indolacético (AIA) e redução de acetileno. A estirpe foi reativada em tubos de ensaio

contendo 5 mL de meio de cultura DYGS (2 g de glicose, 1,5 g de peptona, 2 g de extrato de levedura, 0,5 g de $KH_2PO_4.7H_2O$, 0,5 g de $MgSO_4.7H_2O$ para 1L, com pH 6,8), a 30 ºC sob agitação de 150 rpm por 48 horas. Posteriormente, a bactéria foi semeada em placas com meio semi-específico LGI-P. Após verificar a pureza, a estirpe foi multiplicada em tubos contendo meio DYGS nas condições mencionadas.

As células foram lavadas com solução salina, e a densidade óptica foi ajustada para 0,9–1,5 mL em 600 nm. Esta suspensão bacteriana foi então utilizada para a inoculação em Erlenmeyers de 250 mL, contendo 25 mL do meio DYGS, a 30 ºC sob agitação de 150 rpm por 48 horas. O número de células viáveis foi determinado pelo método de microgota, tanto no meio quanto nas sementes inoculadas.

Em seguida, 15 mL do caldo bacteriano foram adicionados a sacos de polipropileno estéril contendo 35 g de turfa para produzir o inoculante. Este inoculante foi homogeneizado e incubado a 30 °C por 24 horas (fase de maturação). Após esse período, as sementes de arroz foram misturadas com o inoculante (turfa) numa proporção específica (250 g de inoculante para cada 20 kg de sementes de arroz), em placas de Petri (6 x 1,5 cm), e autoclavadas. Esse método detalhado de inoculação demonstra a meticulosidade do processo, visando garantir a eficácia e a uniformidade na aplicação do *Herbaspirillum seropedicae* nas sementes de arroz vermelho.

4.6. Semeadura e teste de germinação

Após o processo de inoculação das sementes e a distribuição dos tratamentos, procedeu-se com a semeadura. Esse estágio foi conduzido utilizando duas folhas de papel germitest previamente umedecidas com água destilada autoclavada, na proporção de 2,5 vezes a massa do papel seco autoclavado. Essas folhas foram dispostas em caixas gerbox de dimensões 11 cm x 11 cm x 3 cm, proporcionando um ambiente propício para a germinação. Em cada caixa gerbox, 50 sementes de arroz vermelho referentes a cada repetição de tratamento foram acomodadas de maneira equidistante e lacradas com filme de PVC.

As caixas gerbox foram então colocadas em uma câmara B.O.D (Biochemical Oxygen Demand) com temperatura mantida a 27 ºC e um fotoperíodo de 12 horas de luz branca, conforme preconizado pelas Regras para Análises de Sementes-RAS (BRASIL, 2009). Após 24 horas em condições controladas na câmara B.O.D, deu-se início ao processo de contagem das sementes germinadas, com essa contagem sendo realizada diariamente até o décimo quarto dia do experimento.

Aos sete dias após a semeadura, o substrato foi umedecido novamente com a mesma quantidade inicial de água. Esse cuidado adicional com a umedecimento do substrato destaca a

atenção para manter condições ideais de germinação ao longo do experimento, assegurando um ambiente propício para o desenvolvimento inicial das sementes de arroz vermelho. O protocolo detalhado reforça a metodologia rigorosa adotada para avaliar a germinação sob a influência de diferentes tratamentos e condições controladas.

4.7. Variáveis analisadas

4.7.1 Fisiológicas e de crescimento

A avaliação do Índice de Velocidade de Germinação (IVG) foi conduzida por meio da contagem diária do número de plântulas germinadas até que esse número se estabilizasse, considerando germinada a plântula visível na superfície do papel germitest. O IVG foi determinado utilizando a expressão proposta por Maguire (1962), que leva em consideração o tempo necessário para a germinação de cada plântula, proporcionando uma medida quantitativa da velocidade desse processo. Essa abordagem visa capturar não apenas a taxa de germinação, mas também a uniformidade na emergência das plântulas ao longo do tempo.

A utilização do IVG permite uma análise mais detalhada e sensível do desempenho germinativo, fornecendo informações valiosas sobre a dinâmica do processo de germinação em resposta aos diferentes tratamentos aplicados no experimento. Maguire (1962) propõe um método que considera a contagem diária das plântulas germinadas, ponderando-as de acordo com o tempo necessário para a germinação. Esse índice é uma ferramenta útil na avaliação comparativa da velocidade de germinação entre os tratamentos, contribuindo para uma compreensão mais aprofundada dos efeitos das condições experimentais sobre esse aspecto crucial do desenvolvimento inicial das plantas.:

$$IVG = \frac{G_1}{N_1} + \frac{G_2}{N_2} + \cdots \frac{G_n}{N_n} \quad (1)$$

Onde:

IVG= índice de velocidade de germinação.

G_1, G_2 e G_n= número de plântulas normais computadas na primeira contagem, na segunda contagem e na última contagem, respectivamente.

N_1, N_2 e N_n = número de dias da semeadura à primeira, à segunda e à última contagem, respectivamente.

Aos 5º (primeira contagem de germinação) e 14º (última contagem de germinação) dia após a semeadura (DAS) calculou-se a germinação (GER%) a qual representa a porcentagem de sementes germinadas em relação ao número de sementes dispostas a germinar sob determinadas

condições experimentais, considerando semente germinada aquela que emitiu radícula e/ou parte aérea com aproximadamente 2 mm de comprimento. Para tanto, utilizou-se expressão descrita por Labouriau (1983):

$$G\% = \frac{\sum_{i=1}^{n} x_i}{N} \cdot 100 \qquad (2)$$

Onde:

$\sum_{i=1}^{n} x_i$ = soma das sementes de cada repetição i germinadas, em relação ao número total de sementes (N) colocadas para germinar, sendo os dados expressos em percentagem.

A primeira contagem da germinação foi conduzida juntamente com o teste de germinação, sendo realizada apenas uma avaliação no quinto dia após a semeadura e os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

Utilizando as mesmas plântulas do teste de germinação, procedeu-se à avaliação do Comprimento da Parte Aérea (CPA) e Comprimento Radicular (CRD) aos 14 dias após a semeadura (DAS). A mensuração da parte aérea e da radícula foi realizada em dez plântulas de cada repetição, utilizando uma régua graduada em centímetros. O comprimento de cada plântula foi registrado separadamente para ambas as partes, e as medições foram expressas em centímetros (cm). O comprimento médio das plântulas foi calculado somando as medidas individuais de cada repetição e dividindo pelo número total de plântulas mensuradas. Esse procedimento resultou em um valor médio representativo do comprimento da parte aérea e radicular das plântulas para cada tratamento. Essa abordagem proporciona uma análise quantitativa do desenvolvimento das plântulas, permitindo a comparação entre os diferentes tratamentos e a avaliação dos efeitos das condições experimentais sobre o crescimento inicial das plantas.

As plântulas utilizadas para mensuração do CPA e CRD foram utilizadas também para obtenção da massa fresca total (MFT) e massa seca total (MST), sendo a massa fresca total determinada em balança analítica. O material vegetal foi acondicionado em sacos de papel, os quais foram conduzidos a uma estufa de circulação de ar-forçado para secagem a 60°C por um período de 24 horas e posteriormente efetuou-se a pesagem em balança analítica, assim obtendo a massa seca total.

4.7.2 Bioquímicas

A atividade total da fosfatase ácida foi avaliada aos 14 dias após a germinação, utilizando quatro repetições, cada uma composta por cinco sementes. Para a preparação das amostras, as plântulas foram maceradas em um almofariz contendo 20 mL de uma solução tampão de acetato de sódio 50 mM com pH 5,0, em uma bandeja sobre gelo. Posteriormente, a mistura foi submetida a centrifugação a 15.000 G por 60 minutos a 0 °C em uma centrífuga refrigerada, resultando em um extrato isento de células. Esse extrato foi então incubado a 70 °C por 20 minutos, seguido por uma nova centrifugação a 10.000 G por 30 minutos, e o sobrenadante foi coletado. Alíquotas de 20 µL desse sobrenadante foram misturadas com 80 µL de uma solução de acetato de sódio 50 mM, pH 5,0. Para o controle de branco, foram utilizados 100 µL de tampão de acetato de sódio 50 mM, pH 5,0. Em seguida, 100 µL de p-nitrofenol foram adicionados a uma concentração de 2,5 mg/mL a cada tubo, seguido de uma incubação a 30 °C por 5 minutos. Após essa etapa, foram adicionados 900 µL de água destilada e homogeneizados. A atividade total da enzima foi determinada espectrofotometricamente, medindo a absorbância a 400 nm, conforme descrito por Ching (1986). Os resultados foram expressos em nmoles min^{-1} g^{-1}, proporcionando uma medida quantitativa da atividade da fosfatase ácida nas plântulas, permitindo uma análise detalhada do metabolismo e resposta das plantas aos diferentes tratamentos.

A atividade da α-amilase foi quantificada aos 14 dias após a germinação, utilizando quatro repetições, cada uma composta por cinco sementes. O procedimento iniciou-se com a maceração das plântulas em um almofariz contendo 20 mL de uma solução tampão de acetato de potássio 50 mM com pH 5,0, em uma bandeja sobre gelo. A mistura foi então centrifugada a 15.000 G por 60 minutos a 0 °C em uma centrífuga refrigerada, resultando em um extrato isento de células.

Este extrato foi submetido a uma incubação a 70 °C por 20 minutos, seguida por uma centrifugação a 10.000 G por 30 minutos, e o sobrenadante foi novamente coletado. Alíquotas de 20 µL desse sobrenadante foram misturadas com 80 µL de uma solução de acetato de potássio 50 mM, pH 5,0. Para o controle de branco, 100 µL de tampão de acetato de potássio 50 mM, pH 5,0, foram misturados com 100 µL de amido a uma concentração de 1,7 mg/mL em cada tubo, seguido de uma incubação a 30°C por 5 minutos. Após essa etapa, 100 µL de solução de iodo-iodeto de potássio foram adicionados, homogeneizados, e, por fim, 900 µL de água destilada foram adicionados.

A atividade da enzima foi determinada espectrofotometricamente a 620 nm, conforme a metodologia de Ching (1986), e os resultados foram expressos em mg min^{-1} g^{-1}. Esse método proporciona uma avaliação precisa da atividade da α-amilase nas plântulas, fornecendo

informações detalhadas sobre o metabolismo durante o período crítico de 14 dias após a germinação.

4.8. Análises estatísticas

Os dados das variáveis de resposta obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste (F) de Fisher a 5% de probabilidades de erro. Para as variáveis significativas ($p < 0,05$), foi aplicado teste de comparação de médias (Teste de Tukey). Realizou-se também analise por meio da correlação de Pearson. As análises estatísticas e preparo dos gráficos foram realizadas utilizando o software SIGMAPLOT 11.0 (SYSTAT SOFTWARE INC., 2008).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Contagem do número de células viáveis do inoculante e nas sementes

A contagem do número de células viáveis no inoculante revelou uma população superior a 10^8 células por grama (g^{-1}), com a ausência de contaminantes, conforme detalhado na Tabela 2. Este resultado é consistente com estudos anteriores conduzidos na Embrapa Agrobiologia, nos quais a seleção de veículos de inoculação usando estirpes de *Herbaspirillum* spp. e *Burkholderia* spp. demonstrou que o número de células viáveis permanece acima de 10^8 g^{-1} por até 180 dias após a produção (FERREIRA, 2004).

De acordo com as recomendações de Bashan (1998), uma população no inoculante superior a 10^8 células g^{-1} é essencial para garantir uma inoculação bem-sucedida. A viabilidade e a quantidade adequada de células no inoculante são críticas para assegurar uma introdução eficaz dos microrganismos no solo, onde devem competir com a microbiota nativa e enfrentar condições adversas. Por outro lado, a contagem do número de células nas sementes peletizadas revelou uma população em torno de 10^9 células g^{-1} na semente. Essa informação destaca a importância de garantir um número suficiente de células para que, ao serem introduzidas no solo, possam competir eficientemente com os microorganismos nativos, assegurando sua sobrevivência em condições desfavoráveis no solo. Essa análise reforça a qualidade do inoculante e a eficácia esperada na promoção do crescimento e desenvolvimento das plantas (Tabela 1).

Tabela 1. Contagem realizada no inoculante produzido e nas sementes inoculadas com a estirpe *H. seropedicae*, utilizada no experimento. Campina Grande-PB, 2022.

Tratamentos	Meios de cultura	Log do nº células g^{-1}		
		Inoculante	Semente inoculada	Semente não inoculada
PAL5	LGI-P*	10,32	8,88	N.D.

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

5.2. Variáveis fisiológicas e de crescimento

Os resultados da análise de variância indicaram que os tratamentos exerceram um efeito significativo ($p < 0,01$) sobre as variáveis fisiológicas, incluindo germinação (GER%), primeira contagem de germinação (PCG) e índice de velocidade de germinação (IVG).

Observou-se um aumento significativo na percentagem de germinação das sementes de arroz vermelho que foram embebidas em solução de ácido giberélico e inoculadas com *H. seropedicae* (SE H_2O + GA3 + HS) e das sementes não embebidas e inoculadas com *H. seropedicae* (SNE + HS). Esses tratamentos não apresentaram diferença estatística entre si, mas foram estatisticamente superiores às sementes não embebidas (SNE), sementes embebidas em água (SE H2O), sementes embebidas em solução de ácido giberélico (SE H_2O + GA3) e sementes embebidas em água e inoculadas com H. seropedicae (SE H_2O + HS), sendo estas últimas estatisticamente equivalentes entre si (Figura 2A).

No que diz respeito ao índice de velocidade de germinação (IVG), as sementes de arroz vermelho inoculadas com *H. seropedicae*, tanto embebidas quanto não embebidas, também apresentaram aumentos significativos. Os tratamentos (SE H_2O + GA3 + HS), (SNE + HS) e (SE H_2O + HS) foram estatisticamente semelhantes entre si, e diferentes de (SNE), (SE H_2O) e (SE H_2O + GA3), sendo que (SE H_2O) e (SE H_2O + GA3) foram estatisticamente equivalentes e diferentes de (SNE) (Figura 2B). Esses resultados evidenciam o impacto positivo da inoculação com *H. seropedicae*, combinada com o tratamento de ácido giberélico, na promoção da germinação e velocidade desse processo em sementes de arroz vermelho.

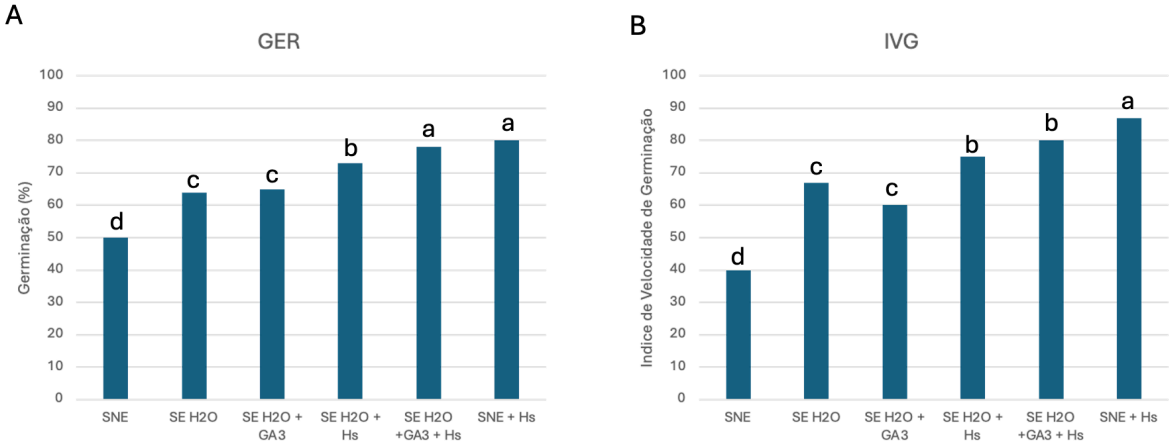

Figura 2. Germinação (A) e índice de velocidade de germinação (B) de sementes de arroz vermelho mediante inoculação com *H. seropedicae.* Campina Grande, PB, 2022.

Os aumentos registrados na Figura A foram de 38,4% e 25,7% para SNE + HS e SE H_2O + GA_3 + HS, respectivamente em relação à testemunha SNE.

Maiores índices de velocidade de germinação de sementes de arroz vermelho foram constatados para SNE +HS, SE H_2O + GA_3 + HS e SE H_2O + HS com incrementos de 51,6%; 40,4% e 35,2%, respectivamente, em relação à testemunha SNE, de acordo com observado na Figura 2B.

Na primeira contagem de germinação, realizada aos cinco dias, observou-se que o maior percentual de sementes germinadas (57,9%) foi registrado para as sementes não embebidas em água e inoculadas com *H. seropedicae* (SNE + HS). No entanto, esse valor não apresentou diferença estatística em relação aos percentuais de 58,6%, 64% e 61,1% observados nos tratamentos SE H_2O + GA3, SE H_2O + HS, SE H_2O + GA3 + HS, respectivamente. Vale ressaltar que esses últimos tratamentos diferiram estatisticamente dos valores registrados para as sementes não embebidas em água (SNE) e as sementes embebidas em água (SE H_2O), que apresentaram 51% e 50% de sementes germinadas, respectivamente (Figura 3).

Esses resultados indicam que a inoculação com *H. seropedicae*, especialmente quando combinada com a imersão em ácido giberélico, promoveu um aumento significativo na germinação das sementes de arroz vermelho durante a primeira contagem aos cinco dias. Esse efeito positivo destaca o potencial da bactéria como agente promotor de crescimento na fase inicial do desenvolvimento das plântulas.

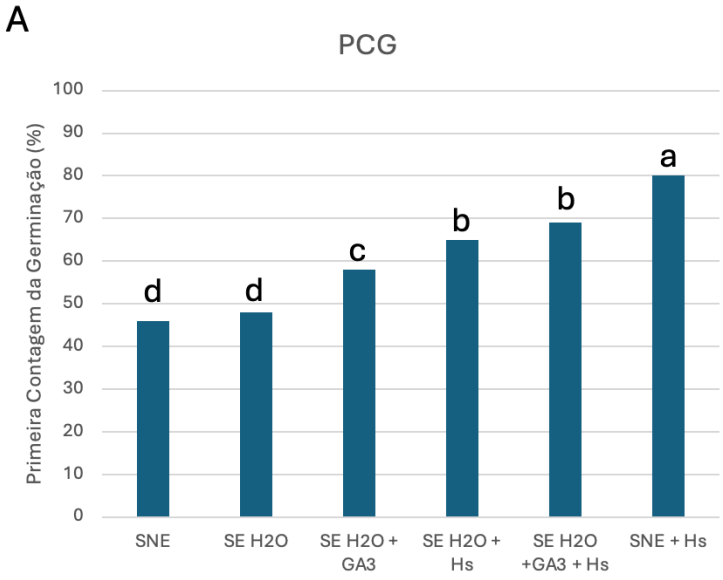

Figura 3. Primeira contagem de germinação de sementes de arroz vermelho aos cinco dias após a semeadura, inoculadas com *H. seropedicae* nas sementes. Campina Grande, PB, 2022.

Destaca-se que o tratamento que se destacou com os valores mais expressivos foi o das sementes não embebidas e inoculadas com *H. seropedicae* (SNE + HS), registrando um comprimento radicular de 4,6 cm e um comprimento da parte aérea de 7,62 cm (Figura 6A e B). Essas diferenças significativas representaram um aumento de 50%, 45,7%, 12,2%, 17,3% e 50,2% no comprimento radicular em relação aos tratamentos SNE, SE H_2O, SE H_2O + GA3, SE H_2O + HS, SE H_2O + GA3 + HS e SNE + HS, respectivamente (Figura 4A). Em relação ao comprimento da parte aérea, o tratamento SNE + HS promoveu incrementos de 70,1%, 63,7%, 40,1%, 8,33% e 18,8% em relação aos tratamentos SNE, SE H_2O, SE H_2O + GA3, SE H_2O + HS, SE H_2O + GA3 + HS e SNE + HS, respectivamente (Figura 4B).

Esses resultados indicam que a inoculação com *H. seropedicae*, especialmente quando combinada com a não embebição das sementes, exerce um impacto positivo substancial no desenvolvimento radicular e da parte aérea das plântulas de arroz vermelho. Este efeito benéfico destaca o potencial da bactéria como agente promotor de crescimento, influenciando positivamente os aspectos morfológicos das plântulas.

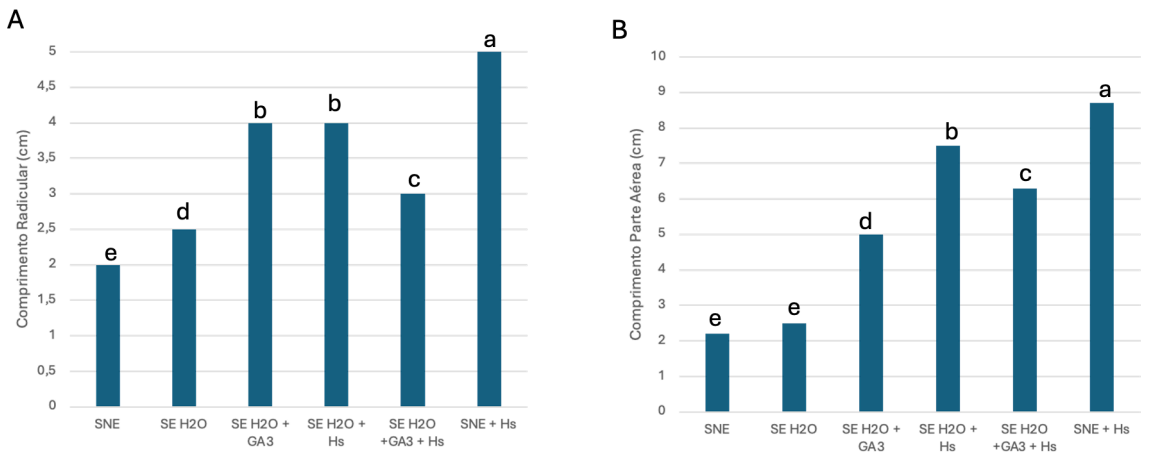

Figura 4. Comprimento radicular (A) e comprimento da parte aérea (B) de plântulas de arroz vermelho mediante a inoculação de *H. seropedicae* nas sementes. Campina Grande, PB, 2022.

Conforme evidenciado nas Figuras 4A e B, os menores valores de comprimento da radícula e parte aérea foram observados nas sementes não embebidas, pois não foram estimuladas. Mesmo quando as sementes foram submetidas à embebição em água por 24 horas, não houve aumento significativo nos comprimentos da radícula e da parte aérea das plântulas de arroz vermelho. No entanto, é importante destacar que os tratamentos SE H_2O + GA3 e SE H_2O + HS apresentaram incrementos significativos de 50,9% e 45,1%, respectivamente, no comprimento da parte aérea. Em relação ao comprimento radicular, os tratamentos SE H_2O + GA3, SE H_2O + HS e SE H_2O + GA3 + HS demonstraram aumentos expressivos de 55,1%, 61% e 66,1%, respectivamente, em comparação com o tratamento das sementes não embebidas e não inoculadas (SNE).

Esses resultados sugerem que a embebição em água, quando combinada com ácido giberélico ou *H. seropedicae*, desempenha um papel significativo no estímulo do crescimento das plântulas de arroz vermelho, proporcionando incrementos notáveis nos comprimentos da radícula e parte aérea. Esses tratamentos podem representar estratégias eficazes para promover o desenvolvimento inicial das plântulas, superando os efeitos limitados observados nas sementes não embebidas.

Prosseguindo com a análise dos resultados das variáveis de crescimento, observou-se que as plântulas provenientes de sementes inoculadas apresentaram maiores valores, destacando-se uma significativa alocação de massa fresca total (0,4 g) e massa seca total (0,5 g) no tratamento SNE + HS. Vale ressaltar que esses valores não apresentaram diferenças estatísticas em relação às médias de 0,45 g e 0,49 g nos tratamentos SE H_2O + HS e SE H_2O + GA3 + HS para massa fresca total e massa seca total, respectivamente (Figura 5A e B).

Por outro lado, o acúmulo de massa fresca total das plântulas foi notavelmente incrementado em 48% nos tratamentos SE H_2O + HS e SE H_2O + GA3 + HS, e em 50,3% no tratamento SNE + HS, em comparação com o tratamento de sementes não embebidas e não inoculadas (SNE) (Figura 5A). Esses resultados sugerem que a inoculação com *H. seropedicae*, especialmente no tratamento SNE + HS, pode promover uma alocação mais eficiente de recursos nas plântulas de arroz vermelho, resultando em um aumento significativo na massa fresca total e massa seca total. Esses achados indicam o potencial da inoculação com *H. seropedicae* em otimizar o crescimento inicial da cultura do arroz vermelho.

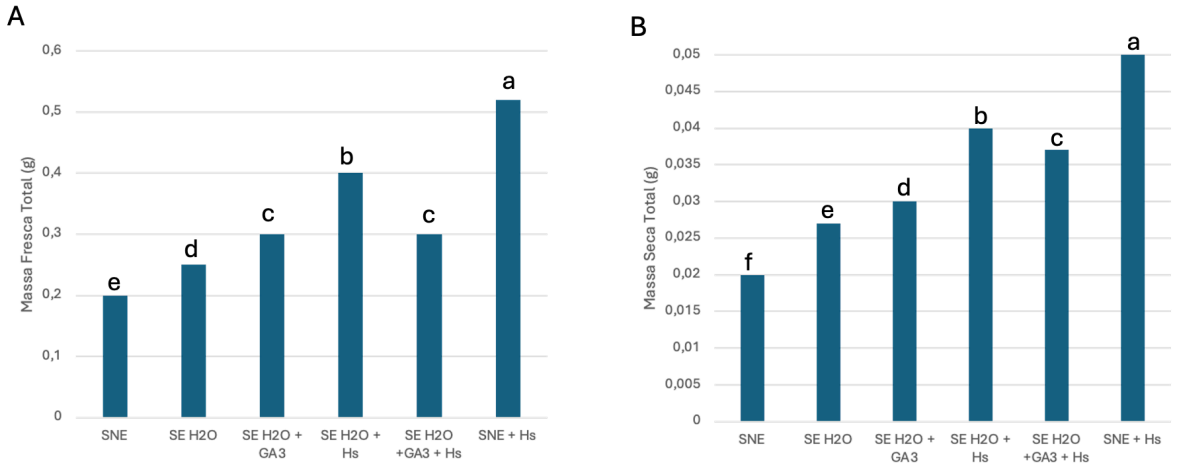

Figura 5. Massa fresca total (A) e massa seca total (B) de plântulas de arroz vermelho com sementes não embebidas em água, embebidas em água e em solução de ácido giberélico e inoculadas com *H. seropedicae*, aos 14 dias após semeadura. Campina Grande, PB, 2022.

Ao comparar o tratamento SE H_2O + HS com SE H_2O, observamos um aumento de 50% na massa fresca total e um aumento de 20% na massa fresca total para SE H_2O + HS quando comparado com SE H_2O + GA3. Entretanto, o tratamento com sementes embebidas em água (SE H_2O) reduziu a massa fresca em 20% quando comparado com as sementes não embebidas (SNE), conforme observado na Figura 5A. A relação entre o tratamento SNE e SNE + HS pode ser observada de forma mais nítida e bem compreendida, mostrando que as folhas estão mais vigorosas para o tratamento de sementes não embebidas em água e inoculadas com a bactéria (Figura 5B) do que as sementes não embebidas e não inoculadas.

Analisando os resultados da massa seca total, verificou-se um aumento de 60% para os tratamentos SE H_2O + HS, SE H_2O + GA3 + HS e de 60% para o tratamento SNE + HS em relação ao tratamento das sementes não embebidas e não inoculadas (SNE). Além disso, houve incrementos de 30% para os tratamentos SE H_2O + HS, SE H_2O + GA3 + HS e de 45% para SNE + HS em relação

ao tratamento das sementes embebidas em água SE H_2O (Figura 5B). No entanto, a embebição das sementes em solução de ácido giberélico (SE H_2O + GA3) apresentou uma massa seca total numericamente igual ao tratamento das sementes não embebidas (SNE), com massa seca total de 0,1 g, indicando que este tratamento não contribuiu para o crescimento das plântulas de arroz vermelho. Este efeito pode ser atribuído ao potencializador de *H. seropedicae*, que, além da produção de ácido giberélico para atuação na sinalização celular, alongamento celular e turgescência vacuolar, foi eficaz em aumentar os níveis de nitrogênio para a planta. Os níveis de nitrogênio podem aumentar de acordo com a colonização da bactéria nos tecidos das plântulas ao longo do tempo. Vale ressaltar que, quando comparamos os valores médios (0,09 g) da massa seca total do tratamento das sementes não embebidas e inoculadas com *H. seropedicae* (SNE + HS) com os valores médios (0,09) das sementes embebidas em água e inoculadas com a bactéria (SE H_2O + G) e sementes embebidas em solução de ácido giberélico e inoculadas com a bactéria (SE H_2O + GA3 + HS), embora essa diferença não seja estatisticamente significativa, observamos um incremento de 30%. Esses resultados sugerem que a inoculação com *H. seropedicae*, especialmente no tratamento SNE + HS, pode influenciar positivamente a alocação eficiente de recursos nas plântulas de arroz vermelho, resultando em um aumento significativo na massa fresca total e massa seca total.

5.3.Variáveis bioquímicas

Os resultados da análise de variância indicam que os tratamentos aplicados tiveram efeitos significativos nas atividades enzimáticas da alfa amilase (APA) e fosfatase ácida (FOA). Os tratamentos SE H2O + HS, SE H2O + GA3 + HS e SNE + HS foram estatisticamente iguais entre si, mas diferiram dos tratamentos SNE, SE H2O e SE H2O + GA3 nas atividades da α-amilase e da fosfatase ácida (Figura 9A e B).

A atividade da α-amilase foi mais elevada no tratamento com sementes não embebidas em água e inoculadas com *H. seropedicae* (SNE + HS), atingindo um valor médio de 90,5 mg min^{-1} g^{-1}. Isso representa um aumento significativo de 38,5% em relação ao tratamento com sementes não embebidas e não inoculadas (SNE), que apresentou uma média de 55,9 mg min^{-1} g^{-1} (Figura 6A).

Além disso, foram observados incrementos de 30%, 25%, 10% e 5% na atividade da α-amilase para o tratamento (SNE + HS) em comparação com os tratamentos SE H_2O, SE H_2O + GA3, SE H_2O + HS, SE H_2O + GA3 + HS, respectivamente. Os tratamentos SE H_2O + HS e SE H_2O + GA3 + HS aumentaram a atividade da α-amilase em 25,7% e 21,5%, respectivamente, em comparação com os tratamentos SE H2O e SE H_2O + GA3. Eles também mostraram aumentos de 35% e 37%, respectivamente, em relação ao tratamento de sementes não embebidas e não

inoculadas (SNE) (Figura 6A). Os tratamentos SE H_2O e SE H_2O + GA3 aumentaram a atividade da α-amilase em 20% em relação ao tratamento (SNE), como evidenciado na Figura 6A.

No caso da atividade da fosfatase ácida (FOA), o tratamento SNE + HS também apresentou a maior atividade, com um valor médio de 80,0 nmoles min^{-1} g^{-1}. Esse valor representa um aumento significativo de 70% na atividade da fosfatase ácida em relação ao tratamento das sementes não embebidas e não inoculadas (SNE), com um valor médio de 51,1 nmoles min^{-1} g^{-1} (Figura 6A).

Além disso, foram observados aumentos de 30%, 20%, 5% e 8% na atividade da fosfatase ácida para o tratamento SNE + HS em relação aos tratamentos SE H_2O, SE H_2O + GA3, SE H_2O + HS, SE H_2O + GA3 + HS, respectivamente. Os tratamentos SE H_2O + HS e SE H_2O + GA3 + HS aumentaram a atividade da fosfatase ácida em 20% e 25%, respectivamente, em comparação com os tratamentos SE H_2O e SE H_2O + GA3. Além disso, houve um aumento de 40% e 50% em relação ao tratamento das sementes não embebidas e não inoculadas (SNE) para os tratamentos SE H_2O + HS e SE H_2O + GA3 + HS, respectivamente (Figura 6B). Os tratamentos SE H_2O e SE H_2O + GA3 apresentaram um aumento de 20% na atividade da fosfatase ácida em relação ao tratamento (SNE), conforme a Figura 6B.

Esses resultados indicam que a inoculação de *H. seropedicae*, especialmente no tratamento SNE + HS, pode influenciar positivamente as atividades enzimáticas da α-amilase e fosfatase ácida em plântulas de arroz vermelho. Essas enzimas desempenham papéis importantes nos processos metabólicos das plantas, como a mobilização de reservas de amido e a absorção de fosfato, e podem contribuir para o aumento do crescimento e desenvolvimento das plântulas.

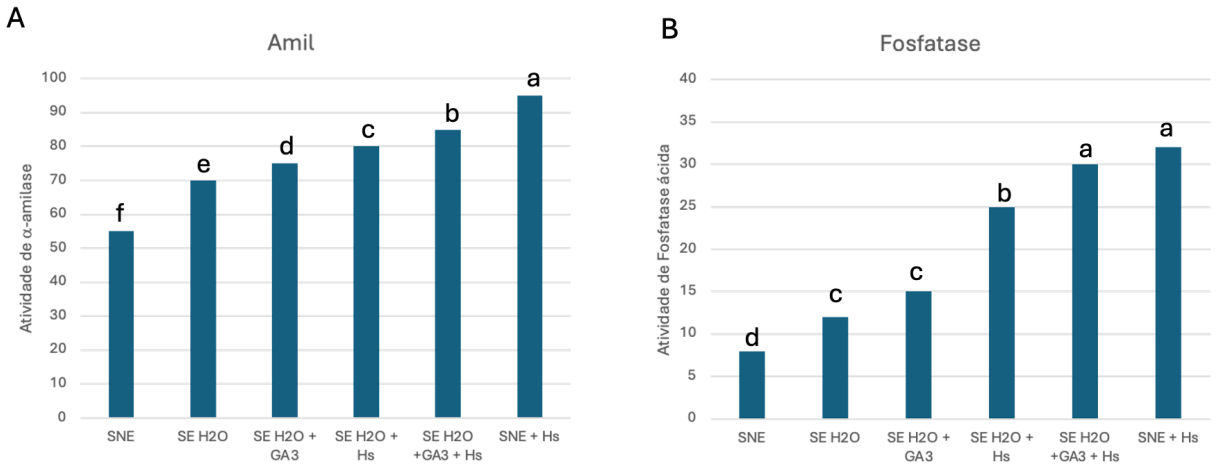

Figura 6. Atividade da α-amilase (A) e atividade da fosfatase ácida de plântulas de arroz vermelho mediante a não embebição e embebição em água, em solução de ácido giberélico e inoculação de *H. seropedicae* nas sementes. Campina Grande, PB, 2022.

Os resultados obtidos indicam que a atividade da fosfatase ácida nas plântulas de arroz vermelho foi significativamente influenciada pelos tratamentos, com destaque para o aumento observado no tratamento SNE + HS, onde as sementes foram inoculadas com *H. seropedicae* e não embebidas em água. A atividade da fosfatase ácida é crucial para a absorção de fosfato pelas plantas, e o aumento observado pode ser atribuído à capacidade da *H. seropedicae* de solubilizar fosfato, contribuindo para a disponibilidade desse nutriente para as plantas.

Além disso, a influência positiva da inoculação de *H. seropedicae* nas atividades enzimáticas destaca o potencial dessa bactéria como promotor de crescimento em plantas de arroz vermelho. A capacidade da *H. seropedicae* de produzir giberelinas pode ter contribuído para os resultados observados, estimulando a taxa fotossintética e aumentando a eficiência no uso do nitrogênio fixado pela bactéria.

Os tratamentos SE H_2O + HS, SE H_2O + GA3 + HS e SNE + HS também apresentaram aumentos significativos na atividade da fosfatase ácida em comparação com o tratamento SE H_2O + GA3 e SE H_2O. Isso sugere que a presença da *H. seropedicae*, tanto associada à água como ao ácido giberélico, teve um impacto positivo na atividade da fosfatase ácida.

Em resumo, os resultados indicam que a inoculação de H. seropedicae em sementes de arroz vermelho, especialmente quando não embebidas em água (tratamento SNE + HS), pode resultar em aumentos significativos na atividade da fosfatase ácida, promovendo um ambiente mais propício para o desenvolvimento das plântulas. Esses achados são relevantes para a compreensão dos benefícios da inoculação de bactérias promotoras de crescimento em culturas agrícolas.

6. CONCLUSÕES

A inoculação de *H. seropedicae* em sementes de arroz vermelho demonstra impactos positivos significativos, promovendo aprimoramentos na velocidade de emergência e germinação das plântulas, além de influenciar positivamente o comprimento radicular e da parte aérea. A presença da bactéria também resulta em um aumento notável na atividade da fosfatase ácida e α-amilase, indicando uma resposta bioquímica mais robusta nas plântulas de arroz vermelho inoculadas.

Além disso, a massa fresca total e massa seca total das plântulas são beneficiadas pela inoculação de *H. seropedicae*, sugerindo que a bactéria desempenha um papel crucial no estímulo ao crescimento inicial dessas plantas. Este efeito positivo da bactéria se estende até os 14 dias após a germinação, evidenciando a persistência do impacto promotor de crescimento ao longo do desenvolvimento inicial das plântulas.

A correlação positiva entre a atividade da fosfatase ácida e α-amilase com parâmetros como percentagem de germinação, primeira contagem de germinação, índice de velocidade de germinação, comprimento da parte aérea e comprimento radicular destaca a importância dessas enzimas na promoção do crescimento e desenvolvimento das plântulas.

Em síntese, *H. seropedicae* apresenta um considerável potencial agronômico e biotecnológico como promotora de crescimento na cultura do arroz vermelho, melhorando a germinação, crescimento inicial e atividade bioquímica das plântulas, independentemente da embebição das sementes. Esses resultados fornecem insights valiosos para o desenvolvimento de estratégias sustentáveis na agricultura, explorando o papel benéfico de bactérias promotoras de crescimento.

7. REFERÊNCIAS

ANVISA. Resolução RE nº 1.390 de 28/03/12. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2012. Disponível em:http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/ad593e004745886d9211d63fbc4c6735/Microsoft+Word+-+A04++%C3%81cido+Giber%C3%A9lico.pdf?MOD=AJPERES, acessado em novembro de 2021.

BASHAN, Y. Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. **Biotechnology Advvances,** v.16, n.2, p.729–770, 1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes,** 399p, 2009.

BRITO, A.A.F.; FERREIRA NETO, M.; MIRANDA, N.O.; LEAL, C.C.P.; LIRA, J.F.B. Teores de nutrientes em plantas de arroz vermelho irrigado com água resíduária doméstica. **Irriga,** edição especial 01, p.1-10, 2014.

CASTRO, E.M.; BRESEGHELLO, F.; RANGEL, P.H.N.; MORAIS, O.P. Arroz. In: BOREM, A. **Melhoramento de espécies cultivadas.** Editora da UFV, p.103-140, 2005.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção.** Editora: FUNEP, 4º ed, 588p, 2000.

CHIARELO, C. Efeitos do uso de Stimulate® no desempenho da cultura do arroz irrigado. **Anais** (Congresso de Iniciação Cientifica da UFPEL), 2007.

CHING, T.M. **Fisiologia do desenvolvimento da semente.** Pelotas: UFPel, CETREISEM, Instituto de Biologia, Departamento de Botânica, [Curso],1986.

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

FERREIRA, E.P.B.; KNUPP, A.M.; MARTIN-DIDONET, C.C.G. Crescimento de cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) influenciado pela inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas. **Biosciense Journal,** v.30, n.3, p.655-665, 2014.

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

FIOREZE, S.L.; RODRIGUES, J.D. Componentes produtivos do trigo afetados pela densidade de semeadura e aplicação de regulador vegetal. **Semina: Ciências Agrárias,** v. 35, n.1, p.39-54, 2014.

GIRIO, L.A.S.; DIAS, F.L.F.; REIS, V.M.; URQUIAGA, S.; SCHULT, N.; BOLONHEZI, D.; MUTTON, M.A. Bactérias promotoras de crescimento e adubação nitrogenada no crescimento inicial de cana‐de‐açúcar proveniente de mudas pré‐brotadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** v.50, n.1, p.33-43, 2015.

GOVERNO DA PARAÍBA. **Governo inova em sistema de produção para manter ranking de maior plantador de arroz vermelho,** 2015. Disponível em: http://paraiba.pb.gov.br/governo-inova-em-sistema-de-producao-para-ser-maior-plantador-de-arroz-vermelho/, acessado em novembro de 2015.

GROHS, M.; MARCHESAN, E.; ROSO, R.; FORMENTINI, T.C.; OLIVEIRA, M.L. Desempenho de cultivares de arroz com uso de reguladores de crescimento, em diferentes sistemas de cultivo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** v.47, n.6, p.776-783, 2012.

GUBLER, F.; KALLA, R.; ROBERTS, J.K.; JACOBSEN, J.V. Gibberellin-regulated expression of a myb gene in barley aleurone cells: Evidence for Myb transactivation of a high-pI α-amylase gene promoter. **The Plant Cell,** v.7, p.1879-1891, 1995.

GUBLER, F.; WATTS, R.J.; KALLA, R.; MATTHEWS, P.; KEYS, M.; JACOBSEN, J.V. Cloning of a rice cDNA encoding a transcription factor homologous to barley GAMYB. **Plant and Cell Physiology,** v.38, p.362-365, 1997.

GUIMARÃES, M.A.; VIDIGAL, D.S.; LOUREIRO, M.E.; DIAS, D.C.F.S.; GUIMARÃES, A.R. Influência de temperatura, luz e giberelina na germinação de sementes de *Thlaspicaerulescens* J. Presl& C. Presl (Brassicaceae). **Revista Ceres,** v. 57, n.3, p. 372-376, 2010.

GUIMARAES, S.L.; BALDANI, V.L.D. Produção de arroz inoculado com bactérias diazotróficas marcadas com resistência induzida ao antibiótico estreptomicina. **Revista Ciência Rural,** v.56, n.1, p.125-132, 2013.

GUIMARÃES, S.L.; BALDANI, J.I.; BALDANI, V.L.D. Efeito da inoculação de bactérias diazotróficas endofíticas em arroz de sequeiro. **Agronomia**, v.37, n.2, p.25-30, 2003.

GUSMÃO, A.R.E.; FARIA, J.M.; FONSECA, J.R.; CAMARGO, G.S.O. Variabilidade genética de genótipos de arroz vermelho (*Oryza sativa* L.) introduzidos no banco ativo de germoplasma da EMBRAPA. **Anais** (I Congresso de genética do Centro Oeste), 2008.

GUPTA, R.; GIGRAS, P.; MOHAPATRA, H.; GOSWMI, V.K.; CHAUHAN, B. Microbial α-Amylases: Biotechnological Perspective. **Process Biochemistry,** v. 38, n. 11, p. 1-18, 2003.

GYANESHWAR, P.; KUMAR, G. N.; PAREKH, L. J.; POOLE, P. S. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. **Plant and Soil,** v.245, p.83-93, 2002.

HARPER, J.L. **Population biology of plants.** London: Academic, 892p, 1977.

HE, D.; HAN, C.; YANG, P. Gene expression profile changes in germinating rice. **Journal of Integrative Plant Biology,** v.53, n.10, p.835-844, 2011.

HUANG, J.; TOYOFUKU, K.; YAMAGUCHI, J.; AKITA, S. Expression of α-amylase isoforms and the RAmylA gene rice (*Oryza sativa* L.) during seed germination, and its relationship with coleoptile length in submerged soil.**Plant Production Science** v.3, n.1, p.32-37, 2000.

ITOH, K.; YAMAGUCHI, J.; HUANG,N. RODRIGUEZ, R.L.; AKAZAWA, T.; SHIMAMOTO, K. Developmental and hormonal regulation of rice α-amylase (*Ramy1A)-gusA* fusion genes in transgenic rice seeds. **Plant Physiology,** v.107, p.25-31, 1995.

KANEKO, M.; INUKAI, Y.; UEGUCHI-TANAKA, M.; ITOH, H.; IZAWA, N.K.; KOBAYASHI, Y.; HATTORI, T.; MYAO, A.; HIROCHIKA, H.; ASHIKARI, M.; MATSUOKA, M. Loss-of-function mutations of the rice GAMYB gene impair α-amylase expression in aleurone and flower development. **The Plant Cell,** v.16, p.33-44, 2004.

LABOURIAU, L.G. A germinação das sementes. Organização dos Estados Americanos. **Monografia** (Graduação em Biologia-OEA) 174p, 1983.

LABORIAU, L.G. On the physiology of seed germination in *Vicia graminea* Sm.I. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.42, n.2, p.235-262, 1970.

LAMBERS, H.; CHAPIN, F.S.; PONS, T.L. **Plant Physiological Ecology.** Editora. Springer-Verlag, 1998. 540p.

LAVAGNINI, C.G.; DI CARNE, C.A.V.; CORREA, F.; HENRIQUE, F.; TOKUMO, L.E.; SILVA, M.H.; SANTOS, P.C.S. Fisiologia vegetal-hormônio giberelina. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia – FAEF,** v.25, n.1, p.48-52, 2014.

LEITE, A.I.; ALMEIDA, M.A.; OLIVEIRA, M.I.; BALÇA, M.J.; COSTA, S.L. Da célula ao organismo. Editora: **Areal Editores**, 120p, 2000.

LI,W.; HAN, .; TAO, F.; CHONG, K. Knockdown of SAMS genes encoding S-adenosyl-l-methionine synthetases causes methylation alterations of DNAs and histones and leads to late flowering in rice. **Journal Plant Phisiology,** v.15, p.1837-1843, 2011.

LI, Y.; VAN DEN ENDE, W.; ROLLAND, F. Sucrose induction of anthocyanin biosynthesis is mediated by DELLA. **Molecular Plant,** v.7, p.570-572, 2014.

MAGALHAES, B.Z.N.; VIEIRA, M.C. **Hormônios Vegetais.** Projeto Fundão,Faculdade de Educação da UFRJ, 3p, 2008. Disponível em: http://www.projetofundao.ufrj.br/biologia/images/materiais/hormonios_vegetais_mariana_cabrera_barbara_neil.pdf, acesso em janeiro de 2016.

MAGAZU, S.; MIGLIARDO, F.; BENEDETTO, A.; LA TORRE, R.; HENNET, L. Bio-protective effects of homologous disaccharides on biological macromolecules. **European Biophysics Journal,** v.41, p.361–367, 2012.

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

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas.** Editora. ABRATES-Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes, 659p, 2015.

MARENCO, R.A.; LOPES, N.F. **Fisiologia Vegetal: fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral.** Editora: UFV, 439p, 2011.

MATOS, G.F.; SANTOS, S.G.; BALDANI, J.I.; REIS, V.M.; ROUWS, L.F.M. Efeito positivo de *Bradyrhizobium* e *Rhizobium* em germinação e crescimento radicular de cana-de-açúcar em condições de casa de vegetação. **Anais** (XV Semana Científica Johanna Döbereiner), 2015. Disponível em: http://ojs.cnpab.embrapa.br/index.php/scjd/article/view/2565/550, acesso em dezembro de 2015.

MATSUMOTO, K. Giberelinas em plantas superiores: síntese e propriedades fisiológicas. In: CID, L.P.B. **Hormônios vegetais em plantas superiores**, 1ª ed. Embrapa Recursos genéticos e biotecnologia, p.80-101, 2005.

MENESES, C. H. S. G. Definição do papel do exopolissacarídeo de *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5 na sobrevivência à estresses abióticos e nas etapas iniciais do processo de colonização de raízes de arroz. **Tese** (Doutorado em Biotecnologia Vegetal), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 126p, 2010.

MENEZES, B. R. S.; MOREIRA, L. B.; LOPES, H. M.; PEREIRA, M. B. Caracterização morfoagronômica em arroz vermelho e arroz de sequeiro. **Pesquisa Agropecuária Tropical,** v.41, n.4, p.490-499, 2011.

NASSIF, S.M.L.; VIEIRA, I.G.; FERNANDES, G.D. Fatores externos (ambientais) que influenciam a germinação de sementes. **Informativo Sementes-IPEF,** 1998. Disponível em http://www.ipef.br/tecsementes/germinacao.asp, acessado em novembro de 2015.

PEREIRA, J.A.; MORAIS, O.P.; BRESEGHELLO, F. Análise da heterose de cruzamentos entre variedades de arroz-vermelho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** v.43, n.9, p.1135-1142, 2008.

REIS, D.F.A.; COSTA, E.M.M.; GONÇALVES, J.R.; CIDES, M.F.B.; RODRIGUES, T.M. A influência da luz na germinação das sementes de rabanete (*Raphanus sativus,* L.). **AdolesCiência - Revista Júnior de Investigação,** v.3, n.1, 2014.

RIBEIRO, E.B.; SILVEIRA, E.K.C.P.; MELO, E.F.; FARIA, R.A.N.; LONDE, L.N. ALBUQUERQUE, C.J.B. Germinação de diferentes linhagens de sorgo em resposta ao fotoblastismo. **Anais** (XXIX Congresso Nacional de milho e sorgo), 2012.

RODRIGUES, L.A.; BATISTA, M.S.; ALVAREZ, R.C.F.; LIMA, S.F.; ALVES, C.Z. Avaliação fisiológica de sementes de arroz submetidas a doses de bioestimulante. **Nucleus,** v.12, n.1, 2015.

RODRIGUES, A.C.; ANTUNES, J.E.L.; MEDEIROS, V.V.; BARROS, B.G.F.; FIGUEIREDO, M.V.B. Resposta da co-inoculação de bactérias promotoras de crescimento em plantas e *Bradyrhizobium* sp. em caupi. **Bioscience Journal,** v.28, Supplement1, p.196-202, 2012.

SANTOS, V.M.; MELO, A.V.; CARDOSO, D.P.; GONCALVES, A.H.; VARANDA, M.A.F.; TAUBINGER, M. Uso de bioestimulante no crescimento de plantas de *Zea mays* L. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.12, n.3, p.307-318, 2013.

SANTOS, J.V.A.; SCHAEDLER, C.E.; SILVA, V.N.; SCALCON, R.M.; SILVEIRA, P.C. Uso de fitorregulador no tratamento de sementes de cultivares de arroz irrigado (*Oryza sativa*) e biótipo de arroz vermelho. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão,** v.6, n.2, 2014.

SCHLINDWEIN, G.; VARGAS, L.K.; LISBOA, B.B.; AZAMBUJA, A.C.; GRANADA, C.E.; NAIANA CRISTINE GABIATTI, N.C.; PRATES, F.; STUMPF, R. Influência da inoculação de rizóbios sobre a germinação e o vigor de plântulas de alface. **Ciência Rural,** v.38, n.3, p.658-664, 2008.

SOARES, V.N.; RADKE, A.K.; TILLMANN, M.A.A.; MOURA, A.B.; SCHUCH, L.O.B. Desempenho fisiológico de sementes de arroz tratadas com rizobactérias e tiametoxam submetidas a diferentes temperaturas. **Journal of Seed Science***,* v.36, n.2, p.186-193, 2014.

SUGIMURA, Y.; MICHIYAMA, H.; HIRANO, T. Involvement of α-amylase genes in starch degradation in rice leaf sheaths at the post-reading stage.**Plant Production Science,** v.18, n.3, p.277-283, 2015.

SYSTAT SOFTWARE INC. **SigmaPlot**. San Jose California USA, 2008.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4ª ed. Porto Alegre: Editora: Artmed, 819p, 2009.

WAGNER JUNIOR, A.; ALEXANDRE, R.S.; NEGREIROS, J.R.S.; PARIZZOTTO, A.; BRUCKNER, C.H. Influencia da escarificação e do tempo de embebição das sementes sobre a germinação de maracujazeiro (*Passiflora edulis* e *Flavicarpa degener*). **Revista Ceres,** v.52, n.301, p.369-378, 2005.

WEBER, J.M. Arroz: características químicas, culinárias e nutricionais das diferentes variedades consumidas no Brasil. **Trabalho de Conclusão de Curso** (Graduação em Nutrição-Universidade de Brasília), 71p, 2012.