

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**SILÍCIO E BIOAGENTES NA SUPRESSÃO DA BRUSONE FOLIAR EM
ARROZ**

ALAN CARLOS ALVES DE SOUZA

Orientador:

Prof.(a) Dr.(a) Marta Cristina Corsi de Filippi

Março - 2014

ALAN CARLOS ALVES DE SOUZA

**SILÍCIO E BIOAGENTES NA SUPRESSÃO DA BRUSONE FOLIAR EM
ARROZ**

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Federal de Goiás, como exigência para obtenção do título de Mestre em Agronomia, área de concentração: Fitossanidade.

Orientadora:

Prof.(a) Dr.(a) Marta Cristina Corsi de Filippi

Coorientadora:

Prof.(a) Dr.(a) Gisele Barata da Silva

Goiânia, GO - Brasil

2014

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação na (CIP)
GPT/BC/UFG**

S729s Souza, Alan Carlos Alves de
Silício e bioagentes na supressão da brusone foliar em
arroz [manuscrito] / Alan Carlos Alves de Souza. - 2014.
48 f. : il., figs, tabs.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Marta Cristina Corsi de Filippi;
Co-orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Gisele Barata da Silva

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás,
Escola de Agronomia, 2014.

Bibliografia.

Inclui lista de figuras e tabelas.

1.Arroz – Brusone 2. *Oryza sativa* 3. Brusone – Controle
biológico. I. Título.

CDU: 633.18:632.93

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS (TEDE) NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: **Dissertação** **Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor (a):	Alan Carlos Alves de Souza		
E-mail:	alanceresino@yahoo.com.br		
Seu e-mail pode ser disponibilizado na página? <input checked="" type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não			
Vínculo empregatício do autor	Não possui - bolsista		
Agência de fomento:	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico	Sigla:	CNPq
País:	Brasil	UF:	GO CNPJ:
Título:	Silício e bioagentes na supressão da brusone foliar em arroz		
Palavras-chave: silicato de cálcio e magnésio, PGPR, <i>Trichoderma</i> , nutrição mineral, resistência.			
Título em outra língua:	Calcium and magnesium silicate and bioagents interaction in rice leaf blast suppression		
Palavras-chave em outra língua:	calcium silicate and magnesium, PGPR, <i>Trichoderma</i> , growth promotion, disease control.		
Área de concentração:	Fitossanidade		
Data defesa: (dd/mm/aaaa)	24/02/2014		
Programa de Pós-Graduação:	Agronomia		
Orientador (a):	Prof.(a) Dr.(a) Marta Cristina Corsi de Filippi		
E-mail:	macrisfilippi@gmail.com		
Co-orientador (a):	Prof.(a) Dr.(a) Gisele Barata da Silva		
E-mail:	gisele.barata@ufra.edu.br		

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.

Data: ____ / ____ / ____

Assinatura do (a) autor (a)

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

ALAN CARLOS ALVES DE SOUZA

Silício e Bioagentes na Supressão da Brusone Foliar em Arroz

Dissertação DEFENDIDA em 24 de fevereiro de 2014, e APROVADA pela Banca Examinadora constituída pelos membros:

MCFilipi

Dr^a. Marta Cristina Corsi de Filippi
Presidente – Embrapa Arroz e Feijão

Alexandre Bryan Heinemann

Dr. Alexandre Bryan Heinemann
Membro – Embrapa Arroz e Feijão

Fabício José Rodrigues

Prof. Dr. Fabrício de Ávila Rodrigues
Membro – UFV

Aos meus pais Sebastião e Vanilda.

Ao meu irmão Luan Fernando.

À minha namorada Karina.

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter me dado saúde, serenidade e força para a realização deste trabalho.

À Universidade Federal de Goiás, pela oportunidade de realizar este curso de Mestrado.

À CNPq pela concessão de bolsa de estudos para o Mestrado.

À minha orientadora e segunda mãe Dr^a. Marta Cristina Corsi de Filippi, pelo apoio, paciência, amizade e exemplo a ser seguido.

Aos meus pais e meu irmão pelo incentivo, apoio e companheirismo durante toda a minha vida acadêmica.

À minha namorada, pelo carinho, paciência, apoio e amor durante estes dois anos.

À Embrapa arroz e feijão pela oportunidade de execução do trabalho.

À Dr^a. Valácia Lemes Lobo Silva, Dr. Anne Sintarama Prabhu e a Prof^a Gisele Barata da Silva, por todas as orientações e auxílios.

Ao gestor do laboratório de Fitopatologia da Embrapa Arroz e Feijão, Msc. Marcio Vinicius de Carvalho Barros Côrtes pela amizade, paciência e apoio.

Aos funcionários da Embrapa Arroz e Feijão, Pedro Maurício, Luís Lopes, Celso, Mônica, Lívia pela amizade e por toda a ajuda.

Aos meus colegas de trabalho e estudo, Bárbara, Bruna, Amanda, Lorena, Rafaela, Thatyane, Priscila Santos, Fernanda, Lidiane, Stella, Maythsulene e os demais do Laboratório de Fitopatologia da EMBRAPA Arroz e Feijão, pelo ótimo convívio, amizade, companheirismo e apoio.

Ao meu amigo e exemplo Fábio, pelo apoio, companheirismo e amizade.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste curso. AGRADEÇO.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	9
LISTA DE FIGURAS	10
RESUMO GERAL	11
GENERAL ABSTRACT	12
1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 A CULTURA DO ARROZ.....	15
2.2 BRUSONE.....	16
2.3 MECANISMOS DE DEFESA DAS PLANTAS.....	18
2.4 SILÍCIO E SUA AÇÃO NAS PLANTAS.....	19
2.5 RIZOBACTÉRIAS E SUA AÇÃO NAS PLANTAS.....	21
2.6 <i>Trichoderma</i> E SUA AÇÃO NAS PLANTAS.....	22
3 MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1 FONTE E APLICAÇÃO DO SILÍCIO.....	24
3.2 BIOAGENTES.....	24
3.3 FORMA DE APLICAÇÃO DOS BIOAGENTES NAS PLANTAS.....	25
3.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	26
3.5 INOCULAÇÃO DE <i>M. oryzae</i>	26
3.6 ATIVIDADES BIOQUÍMICAS.....	27
3.6.1 Coleta de amostras.....	27
3.6.2 Extração de proteínas totais.....	27
3.6.3 β -1,3 glucanase (GLU).....	28
3.6.4 Quitinase (QUI).....	28
3.6.5 Peroxidase (POX).....	28
3.6.6 Fenilalanina Amônia Liase (FAL).....	29
3.6.7 Lipoxigenase (LOX).....	29
3.6.8 Ácido Salicílico (AS).....	29
3.7 ANÁLISE DOS DADOS.....	30
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
4.1 SEVERIDADE DA BRUSONE FOLIAR EM E1.....	31
4.2 SEVERIDADE E AACPD DA BRUSONE FOLIAR EM E2.....	33
4.3 ATIVIDADES BIOQUÍMICAS.....	35
4.3.1 Na ausência de <i>M. oryzae</i>	35
4.4.2 Na presença de <i>M. oryzae</i>	36
5 CONCLUSÕES	43
6 REFERÊNCIAS	44

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** Efeito da adubação de SiCaMg em plantas de arroz tratadas com a Mistura dos três bioagentes (via semente e rega com os bioagentes *B. pyrocinia* e *T. asperellum* e, via pulverização foliar com *P. fluorescens*) e no controle (sem a aplicação de bioagentes) na severidade da brusone foliar, em análise de regressão polinomial.... **27**
- Figura 2** Severidade da brusone foliar, em plantas de arroz adubadas com 2 ton SiCaMg.ha⁻¹ inoculadas com suspensão de conídios de *M. oryzae* (3x10⁵ con.mL⁻¹)..... **28**
- Figura 3** Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) da brusone foliar em plantas de arroz..... **29**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Severidade da brusone foliar em plantas de arroz, em E1.....	26
Tabela 2	Severidade da brusone foliar em plantas de arroz, em E2.....	28
Tabela 3	Atividade de QUI (U.mg ⁻¹) em folhas de arroz coletadas em 24 horas após o desafio com <i>M. oryzae</i> e; 48 horas após o desafio com <i>M. oryzae</i>	32
Tabela 4	Atividade de GLU (U.mg ⁻¹) em folhas de arroz coletadas em 24 horas após o desafio com <i>M. oryzae</i> e; 48 horas após o desafio com <i>M. oryzae</i>	32
Tabela 5	Atividade de FAL (U.mg ⁻¹) em folhas de arroz coletadas em 24 horas após o desafio com <i>M. oryzae</i> e; 48 horas após o desafio com <i>M. oryzae</i>	32
Tabela 6	Atividade de LOX (U.mg ⁻¹) em folhas de arroz coletadas em 24 horas após o desafio com <i>M. oryzae</i> e; 48 horas após o desafio com <i>M. oryzae</i>	33
Tabela 7	Atividade de POX (U.mg ⁻¹) em folhas de arroz coletadas em 24 horas após o desafio com <i>M. oryzae</i> e; 48 horas após o desafio com <i>M. oryzae</i>	33
Tabela 8	Concentração de AS (ng.g ⁻¹) em folhas de arroz coletadas em 24 horas após o desafio com <i>M. oryzae</i> e; 48 horas após o desafio com <i>M. oryzae</i>	34

RESUMO GERAL

SOUZA, A.C.A. **Silício e bioagentes na supressão da brusone foliar em arroz**. 2014. 48 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Fitossanidade) - Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014.¹

O arroz é considerado o cereal que possui potencial para a erradicação da fome e da má nutrição. Porém, durante seu cultivo, é submetido a estresses bióticos e abióticos, o que diminui a produtividade nas principais regiões de cultivo, acompanhado do aumento dos custos com insumos, como fertilizantes e agrotóxicos. O objetivo deste trabalho foi estudar o efeito do silício, isoladamente e em combinação com bioagentes, na supressão de brusone foliar em plantas de arroz de terras altas. Foram realizados dois experimentos, em delineamento fatorial, em casa de vegetação (E1 e E2). E1: composto de 5 tratamentos (controle; 1 ton SiCaMg.ha⁻¹; 2 ton SiCaMg.ha⁻¹; 4 ton SiCaMg.ha⁻¹; 8 ton SiCaMg.ha⁻¹), 5 subtratamentos (controle; *Burkholderia pyrrocinia*; *Pseudomonas fluorescens*; *Trichoderma asperellum*; mistura dos três bioagentes) e 8 repetições, com o objetivo de selecionar os melhores tratamentos, através da severidade de brusone (*Magnaporthe oryzae*) nas folhas. E2: composto por 2 tratamentos (controle; 2 ton SiCaMg.ha⁻¹), 3 subtratamentos (controle; *Trichoderma asperellum*; mistura dos três bioagentes) e 4 repetições, com o objetivo de investigar o efeito dos melhores tratamentos, para a promoção de crescimento das plantas e supressão de brusone foliar e na ativação dos mecanismos de defesa da planta. A interação entre a adubação silicatada e os bioagentes mostrou-se promissora. Em E1, o melhor tratamento para a redução de brusone foliar foi a combinação entre os três bioagentes e plantas adubadas com 2 ton SiCaMg.ha⁻¹, suprimindo a doença em 96%. Em E2, as combinações entre *T. asperellum* e plantas adubadas com 2 ton SiCaMg.ha⁻¹ e, a mistura dos bioagentes em plantas adubadas com 2 ton SiCaMg.ha⁻¹ aumentaram significativamente a atividade das enzimas quitinase, β -1,3 glucanase, peroxidase, fenilalanina amônia-liase, e o teor de ácido salicílico na ausência de *Magnaporthe oryzae*. A mistura dos três bioagentes, em plantas adubadas com 2 ton SiCaMg.ha⁻¹ proporcionou o aumento expressivo das enzimas quitinase, β -1,3 glucanase e o teor de ácido salicílico às 24 e 48 horas após a inoculação com *M. oryzae*. A redução da brusone foliar acompanhada da participação ativa dos mecanismos de defesa elegem a adubação silicatada e os bioagentes como estratégias importantes para o manejo sustentável.

Palavras-chaves: silicato de cálcio e magnésio, PGPR, *Trichoderma*, nutrição mineral, resistência.

¹Orientadora: Prof^a. Dr^a. Marta Cristina Corsi de Filippi – EMBRAPA/PPGA

GENERAL ABSTRACT

SOUZA, A.C.A. **Calcium and magnesium silicate and bioagents interaction in rice leaf blast suppression**. 2014. 48 p. Dissertation (Master in Agronomy) - Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014.¹

Rice is considered a cereal that has the potential to eradicate hunger and malnutrition. However, during its cultivation, is submitted to biotic and abiotic stresses, which lowers productivity in key growing regions, followed by the rising cost of inputs such as fertilizers and pesticides. The aim of this work was to study the effect of silicon, alone and in combination with bioagents on growth promotion and leaf blast suppression of on upland rice. Two experiments, E1 and E2 were conducted in a factorial design in the greenhouse conditions. E1: aimed to select the best treatments for plant growth promotion and rice blast (*Magnaporthe oryzae*) suppression. It was composed by 5 plots (control; 1 ton SiCaMg.ha⁻¹; 2 ton SiCaMg.ha⁻¹; 4 ton SiCaMg.ha⁻¹; 8 ton SiCaMg.ha⁻¹), 5 subplot (control; *Burkholderia pyrocinia*; *Pseudomonas fluorescens*, *Trichoderma asperellum*; mixture of all these three bioagents) and 8 replication. E2: aimed to investigate the defense mechanisms of the best treatment selected in E1. It was composed of 2 plots (control; 2 ton SiCaMg.ha⁻¹) and subplot 3 (control; *Trichoderma asperellum*; mixture of all these three bioagents) and 4 replication. Silicon fertilization and bioagents interaction proved to be promising. In E1, *T. asperellum* combined with 2 ton.ha⁻¹ of SiCaMg plant fertilization increased 45.63% of plant growth and, the combination of all three bioagents with 2 ton ha of SiCaMg plants fertilization was the best treatment reducing 96% of leaf blast. In E2, the two best treatments in E1 statistically increased QUI, GLU, POX and FAL activity as well AS content in the absence of *Magnaporthe oryzae*. However, 24 and 48 hours after challenger inoculation with *M. oryzae*, only QUI and GLU activity and AS content statistically increased in the treatment that combined all three bioagents and 2 ton.ha⁻¹ of SiCaMg plants fertilization. Leaf blast reduction through the activation of defense mechanisms elected the combination silicon fertilization and bioagents as important strategies for sustainable rice disease management.

Keywords: calcium silicate and magnesium, PGPR, *Trichoderma*, growth promotion, disease control.

¹Orientadora: Prof^a. Dr^a. Marta Cristina Corsi de Filippi – EMBRAPA/PPGA

1 INTRODUÇÃO

A produção de arroz é considerada segurança alimentar para o mundo, porque é indispensável para a alimentação de 3,7 milhões de seres humanos, diariamente. Este cereal além de fornecer um excelente balanceamento nutricional, é uma cultura extremamente rústica, além de ser considerada a espécie de maior potencial de aumento de produção para o combate da fome, no mundo (FAO, 2012). Cerca de um quinto da população mundial depende do arroz para subsistência, sendo esta a principal fonte de renda de países pobres na Ásia e na África (IRRI, 2011).

O Brasil está entre os dez principais países produtores mundiais de arroz, responsável por 2,17% do total mundial (FAO, 2012). Toda a produtividade brasileira é destinada ao consumo interno, compondo-se no principal produto da cesta básica, representando 22% do orçamento familiar (EMBRAPA, 2005). No entanto, o cultivo de arroz no Brasil vem decrescendo a cada ano. Na safra 2012/2013, foram cultivadas 2.409 milhões de hectares, 11,5% a menos que a safra passada, sendo 22,87% da área destinada ao plantio de arroz de terras altas e 77,13% ao arroz irrigado. No total, nessa mesma safra, foram produzidos 11.945 milhões de toneladas (CONAB, 2013). A causa da diminuição da produtividade é o elevado custo de produção que recaem sobre o custo final. Entre os insumos necessários atualmente, para a produção do arroz de terras altas destacam-se os fertilizantes e fungicidas (FAO, 2012; CONAB, 2013).

O sistema de produção de arroz de terras altas é a forma de plantio da cultura que mais cresce atualmente, se espalhando principalmente pela região do cerrado brasileiro (Crusciol et al., 2005). Isto se deve às vantagens que esta forma de cultivo exerce sobre o sistema irrigado, como menor custo de produção, consumo reduzido de água e menor efeito negativo na camada de ozônio. Entretanto, o arroz de terras altas possui baixa produtividade, correspondente da alta ocorrência de doenças e à falta de resposta da planta a adubação, resultando em problemas de arranque inicial e crescimento da planta, principalmente em áreas de cultivos sucessivos (Filippi et al., 2012). Fatores como a preservação ambiental, sustentabilidade e a produção de alimentos mais saudáveis, fizeram com que uso de insumos

químicos se torne cada vez mais restrito e cauteloso. Com isso, a alternativa da integração de novas práticas de cultivos e de fatores biológicos aos sistemas de cultivo de arroz de terras altas se tornou o grande desafio. As doenças do arroz são destrutivas, sendo a brusone, causada pelo fungo *Magnaporthe oryzae*, a principal, podendo diminuir em até 100% o potencial produtivo das cultivares geneticamente melhoradas. A brusone ocorre durante todo o ciclo da cultura, e devido alta variabilidade genética do patógeno, o seu controle é difícil pela falta de resistência estável no campo (Filippi et al., 2006).

Tanto o uso de bioagentes, como o fungo *Trichoderma* e rizobactérias, como o da adubação silicatada vem sendo explorado por muitos pesquisadores, demonstrando que ambos possuem potencial para o biocontrole de doenças de plantas (Filippi et al., 2012; Cruz et al., 2013; Oliveira et al., 2010; Rodrigues et al., 2005). Porém, os benefícios da utilização dos bioagentes, em combinação com a adubação silicatada, na supressão de doenças de plantas de arroz ainda é desconhecido. Este trabalho teve como objetivo estudar o efeito do silício, isoladamente e em combinação com bioagentes, na supressão de brusone foliar em plantas de arroz de terras altas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A CULTURA DO ARROZ

O arroz pertence ao domínio Eukarya, Reino Plantae, Filo Magnoliophyta, Classe Liliopsida, Ordem Poales, Família Poaceae (Graminea), Gênero *Oryza*, sendo a espécie *Oryza sativa* mais estudada atualmente. É cultivado em países de clima subtropicais e tropicais. Originário da Ásia Meridional, o arroz atravessou fronteiras e conquistou o mundo. Atualmente, está entre as culturas mais plantadas e consumidas, sendo considerada a terceira maior cerealífera e a base da alimentação da maior parte da população mundial (Vaughan et al., 2005).

Devido ao arroz ser um alimento fundamental na nutrição humana, seus benefícios são ainda pouco conhecidos. O arroz é rico em carboidratos, o que o caracteriza como uma fonte essencial de energia para o metabolismo humano, e, além disso, é também uma importante fonte de proteínas, sais minerais e vitaminas do complexo B, como a B1 (tiamina), B2 (riboflavina) e B3 (niacina) (Barata, 2005). Segunda FAO (2006), o arroz fornece 20% da energia e 15% das proteínas necessárias ao homem, se destacando pela sua fácil digestão, e por ser um produto de origem vegetal, isento de colesterol, possuindo um baixo teor de gordura. É alimento básico para cerca de 2,4 bilhões de pessoas e, segundo estimativas, até 2050 a demanda da produção terá que aumentar para atender o dobro da população (EMBRAPA, 2005).

A produção e o consumo de arroz mundial estão principalmente concentrados nos países do sudeste asiático, por questões culturais e pela produção agregada. O consumo médio mundial de arroz por habitante é de 84,8 Kg/ano, uma demanda grande em relação ao consumo brasileiro que é de 52,5 quilogramas por habitante/ano (base casca). Essa média de consumo é principalmente representada por países subdesenvolvidos, onde em países de primeiro mundo o consumo agregado é de apenas 16,7 Kg/habitante/ano. A produção mundial de arroz gira entorno de 606 milhões de toneladas, onde o Brasil contribui com 13.140.900

toneladas (2,17% do total mundial), se destacando como maior produtor ocidental (FAO, 2006).

O cultivo de arroz no Brasil é dividido em dois sistemas, o irrigado e o de terras altas. O sistema de arroz irrigado é o mais produtivo no Brasil, devido às condições hídricas serem mais controladas e a tecnologia estar mais avançada (melhores cultivares) em relação ao sistema de terras altas. O cultivo do arroz de terras altas, a exemplo de outras culturas como soja e milho, conta apenas com as chuvas para seu desenvolvimento e este sistema é amplamente utilizado em todo Brasil, com exceções dos estados Tocantins e Maranhão. As áreas de lavouras de arroz de terras altas vêm caindo safra a safra. Os motivos são a concorrência com a soja e o milho, a diminuição de abertura de novas áreas, a alta incidência de doenças e a baixa resposta das plantas a adubação (CONAB, 2013).

A cultura do arroz é afetada por doenças que reduzem a produtividade e a qualidade dos grãos, bem como a qualidade fisiológica e sanitária da semente. Nos dois sistemas de cultivo, o gasto com o uso de fungicidas chegam a representar 45% dos custos de produção (DEPEC, 2013). Mais de 80 doenças causadas por patógenos, incluindo fungos, bactérias, vírus e nematóides, foram registradas na literatura em diferentes países (EMBRAPA, 2005). Dentre as doenças do arroz, a brusone é a mais importante, pela sua ampla distribuição geográfica e danos causados (Nunes et al., 2007; Ou, 1972). A doença é um desafio para os orizicultores, e constitui-se um dos fatores limitantes da produtividade do arroz irrigado e de terras altas, em todo o território brasileiro e no mundo (Igarashi et al., 1986).

2.2 BRUSONE

A brusone é causada pelo fungo *Pyricularia oryzae*, na fase anamórfica ou assexuada, e *Magnaporthe oryzae* na fase teleomorfa ou sexuada (Prabhu & Filippi, 2006). O estágio teleomorfo do fungo ainda não foi encontrado na natureza (Agrios, 2005). Segundo Bedendo (1997), os registros da ocorrência da brusone datam de 1600 e foram feitas na QUIna. Sua distribuição geográfica é ampla e sua ocorrência foi relatada em 70 países ocorrendo praticamente onde o arroz é cultivado (Ou, 1985). No Brasil, a brusone foi relatada pela primeira vez em 1912 no Estado de São Paulo (Prabhu & Filippi, 2006).

A doença pode ocorrer em toda a parte da planta, desde os estádios iniciais de desenvolvimento até a fase final de produção de grãos, sendo mais crítica a infecção nas folhas entre 20 e 50 dias de idade e nas panículas, na fase de enchimento dos grãos. Os sintomas nas folhas iniciam-se com a formação de pequenas lesões necróticas, de coloração

marrom, que evoluem, aumentando de tamanho, tornando-se elípticas, com margem marrom e centro cinza ou esbranquiçado (Bedendo, 1997). A infecção, em outras partes da planta, afeta os nós do colmo, entrenós e várias partes da panícula, causando efeito direto na perda das panículas (POTAFOS, 2005).

As perdas causadas pela brusone são muito variáveis em função da pressão do inóculo, que é dependente das condições climáticas, do sistema de produção e das práticas culturais, do grau de resistência da cultivar utilizada, da ocorrência do patógeno virulento e da época de incidência da doença (Dario et al., 2005). É considerada uma doença policíclica, por ser capaz de realizar vários ciclos reprodutivos em uma mesma safra, tornando difícil a manipulação de resistência na planta. Sob condições favoráveis ao desenvolvimento da doença, as perdas causadas podem chegar até 100% (EMBRAPA, 2004).

Segundo Prabhu & Filippi (2006), o seu ciclo se inicia quando o conídio entra em contato com a superfície foliar do hospedeiro e adere-se a ela com a ajuda de uma substância adesiva denominada mucilagem, preexistente em uma bolsa localizada na extremidade do conídio. Para a penetração e colonização do tecido foliar é necessária a formação do apressório. A colonização de plantas hospedeiras suscetíveis desencadeia uma desorganização do metabolismo celular, resultando na formação de lesões típicas. Essas lesões são tipicamente formadas após 72 horas da inoculação do patógeno na epiderme, coalescendo, causando necroses e diminuindo a área fotossintética da folha de arroz. Do tecido colonizado são produzidos esporos assexuais que darão início a um novo ciclo. O inóculo primário pode ser disperso pelo vento, água ou sementes infectadas.

Para a tentativa de controle da brusone no arroz, um dos métodos é a utilização da resistência horizontal e resistência vertical. A resistência horizontal tem maior efeito em controlar o desenvolvimento da doença durante o ciclo da cultura, ou seja, ela visa diminuir a pressão da doença na lavoura, e é mais utilizado em cultivos de arroz inundado. A resistência vertical tem maior efeito em combater o inóculo inicial, ou seja, ela evita que o ciclo do patógeno se inicie, sendo utilizada em arroz de terras altas, onde possui inóculo iniciais. Porém ambas são facilmente suplantadas, devidos a variabilidade do fungo ser alta (Prabhu & Filippi, 2006).

Na safra de arroz de 2004, nos Estados Unidos, foi registrada a perda de 50% da produção de 2350 hectares (Prabhu & Filippi, 2006). Na China, houve três grandes surtos de brusone, durante os anos de 1982-1985, 1992-1994 e 2001-2005, onde a área, contendo plantas infestadas por brusone, foi superior a 3,8 milhões de hectares em 1982-1985, representando perdas de milhões de toneladas (Sun et al., 1999). No ano de 1993, apenas na

região Sul da China foram perdidos 1,1 milhão de toneladas de arroz. Nos anos recentes, 5,7 milhões de hectares de arroz foram afetados pela doença (Khush & Jena, 2009). No Brasil, Prabhu et al., (2003) mostrou em estudo que a brusone é capaz de causar perdas na massa de grãos de 47,8%, reduzindo pela metade toda a produção.

2.3 MECANISMOS DE DEFESA DAS PLANTAS

Em condições naturais as plantas são desafiadas constantemente por uma grande quantidade de microrganismos fitopatogênicos, principalmente fungos, bactérias e nematóides. Os fatores determinantes da resistência de plantas a fitopatógenos estão relacionados a um grande arsenal de mecanismos de defesa, sendo eles constitutivos e químicos (Ođjakova; Hadjiivanova, 2001). As defesas constitutivas, denominadas pré-formadas, são compostas de barreiras estruturais (ceras, cutinas, suberina, lignina, compostos fenólicos, celulose, calose, parede celular espessa, cutículas, tricomas, entre outros) já existentes antes do ataque de patógenos, visando conter a agressão inicialmente (Pascholati & Leite, 2011; Agrios, 2005).

As defesas químicas, denominadas pós-formadas, são caracterizadas pela indução de resistência, que se resume em aumentar a resistência de plantas através da ação de agentes externos, sem ocorrer nenhuma alteração no genoma da planta (Stadnik, 2000), ou seja, envolvendo a ativação de mecanismos de defesa latentes existentes nas plantas em resposta ao tratamento com agentes bióticos ou abióticos, sendo conhecida como resistência sistêmica adquirida (SAR) ou indução de resistência sistêmica (ISR) (Bonaldo et al, 2005). Esta, porém, é manifestada somente quando a planta é desafiada pelo patógeno. A SAR atua na produção de um sinal liberado a partir do primeiro contato do patógeno com a planta ou do local de aplicação do indutor e sua posterior translocação para outras partes da planta, ativando nesses tecidos reações de defesa e impedindo, à distância, uma posterior infecção do patógeno, caracterizando uma indução sistêmica (Métraux, 2001). A ISR envolve a ativação de diferentes vias sinalizadoras de respostas de defesa, nas quais os mensageiros secundários têm um papel fundamental (Dantas et al., 2004). Estes mecanismos latentes referem-se às defesas bioquímicas e estruturais pós-formadas (Toledo, 2009).

Os agentes bióticos ou abióticos são denominados elicitores, e apresentam uma natureza diversificada, podendo ocorrer através de compostos presentes em extratos de plantas, preparações de cogumelos e leveduras, rizobactérias promotoras de crescimento, fungos promotores de crescimento, silício, ácido salicílico, ácido jasmônico, entre outros

(Toledo, 2009). Estes agentes bióticos e abióticos, quando ativados, apresentam diferentes respostas na planta, como uma reação de hipersensibilidade; acúmulo de Proteínas-RP, como quitinases e β -1,3-glucanases. Estas proteínas apresentam atividade hidrolítica, sobre polímeros estruturais presentes nas paredes de fitopatógenos, tendo como consequência, o enfraquecimento das mesmas, podendo acarretar a morte desses microrganismos. A fenilalanina amônia-liase, enzima do metabolismo secundário, está envolvida na rota dos fenilpropanóides; a lipoxigenase, enzima envolvida na peroxidação de lipídios; a peroxidase, capaz de catalisar grande número de reações como a redução de peróxido de hidrogênio à água, formação de lignina, suberização, catabolismo de auxinas e cicatrização de ferimentos; e o ácido salicílico, importante sinalizador envolvido na defesa de plantas a patógenos (Mauch et al., 2001; Hiraga et al., 2001).

2.4 SILÍCIO E SUA AÇÃO NAS PLANTAS

O silício (Si) é o segundo elemento mais abundante na litosfera (27,7%), podendo ser encontrado em mono e dicotiledôneas em quantidades equivalentes ao fósforo e ao magnésio (Fauteux et al., 2005). Este mineral vem despertando interesse das pesquisas no meio científico, devido aos inúmeros benefícios que este elemento traz às plantas, incluindo aumentos na produtividade, através da disponibilização de nutrientes e do crescimento e aumento da biomassa de plantas (Carvalho-Pupatto et al., 2003), e na resistência a estresses bióticos e abióticos, tais como, doenças e pragas, excesso de metais potencialmente tóxicos, estresse salino, deficiência hídrica, dentre outros (Mauad et al., 2003). Todos estes benefícios fizeram com que no Brasil, o silício fosse incluído na lista de micronutrientes benéficos, embora as pesquisas ainda não tenham demonstrado a essencialidade deste elemento (Korndörfer & Oliveira, 2010). Epstein & Bloom (2005) ressaltam que plantas crescendo em ambiente rico em silício devem diferir daquelas presentes em ambientes deficientes deste elemento, propiciando efeitos positivos para mais de 30 espécies.

O silício é absorvido pelas raízes das plantas como ácido monossilícico (H_4SiO_4), na forma passiva ou ativa, por transportadores de membrana específicos para este fim (Ma et al., 2006). O transporte do ácido monossilícico é feito via xilema, a favor de um fluxo de transpiração, sendo movido, em maior parte, até a parte aérea da planta, onde é depositado em forma de sílica amorfa (SiO_2), acumulando-se e aumentando a espessura, em diferentes tecidos vegetais, principalmente da parede de células foliares (Oliveira et al., 2010). O transporte e acúmulo de silício podem ser regulados também por um processo ativo, que é

desencadeado pelo estímulo à proteção contra doenças, pragas e outras condições de estresse (Bélanger et al., 2003).

Estudos com o objetivo de caracterizar os transportadores de silício e os genes responsáveis pela sua sinalização em arroz tiveram início com o mapeamento do gene *Lsi1*, o primeiro transportador de ácido monossilícico identificado em arroz. Esse gene concentra sua ação principalmente na exoderme e endoderme das raízes e é responsável pelo influxo de silício. Juntamente com o *Lsi1*, foi encontrado o *Lsi2*, que é responsável pela sinalização de um transportador de efluxo de ácido de monossilícico (Ma et al., 2006).

Em contraste ao *Lsi1*, localizado na posição distal das células, o *Lsi2* é localizado no lado proximal e responsável pelo transporte de ácido monossilícico para fora das células, guiado pelo gradiente de concentração. A distribuição de silício nas folhas é determinada por um transportador semelhante ao sinalizado pelo *Lsi1*, sendo o *Lsi6*. Porém, o *Lsi6* está localizado nas folhas e é responsável pelo transporte do silício do xilema para as células das folhas e conseqüentemente pela deposição de silício (Ma et al., 2006).

A forma como o silício é absorvido e depositado varia de acordo com cada espécie de planta, classificando-as em Acumuladoras de silício (gramíneas em geral), Intermediárias e Não Acumuladoras (leguminosas) (Takahashi et al., 1990). Um número grande de materiais tem sido utilizado como fonte de silício para as plantas: escórias de siderurgia, subprodutos da produção de fósforo elementar, cimento, termofosfato, e os mais utilizados como silicatos de cálcio (vollastonita), de magnésio (serpentinó), de potássio, e de sódio (Korndörfer & Oliveira, 2010). Segundo Korndörfer & Datnoff (1995), a aplicação de silicatos é prática comercial no Havá e em outras partes do mundo por causa dos aumentos de produtividade. O efeito positivo dos silicatos são normalmente associados ao aumento na disponibilidade do Si-solúvel, ao efeito do pH e também dos micronutrientes que estes produtos podem conter.

A adubação com silício tem demonstrado eficiência no controle ou redução da incidência de várias doenças em diversas culturas, como algodão (Oliveira, 2010), café (Pereira et al., 2009), soja (Cruz et al., 2013), e principalmente na cultura do arroz (Datnoff et al., 1991, 1992, 1997; Osuma-Canizales et al., 1991; Winslow, 1992; Korndörfer et al., 1999; Prabhu et al., 2001; Rodrigues et al., 2005). Esta eficiência se deve pelos diferentes mecanismos que o silício exerce na presença e ausência do patógeno. Muitos estudos comprovam que o silício impede e/ou retarda a penetração do patógeno através da formação de uma barreira mecânica, composta de sílica, presente entre a cutícula e a epiderme em células foliares (Santos, et al., 2003, 2009; Rodrigues & Datnoff, 2005;). Outros estudos mostram a possibilidade do uso do silício na resistência das plantas através do aumento da

atividade de compostos fenólicos, como β -1,3 Glucanase, peroxidase, Proteínas-PR, e de fitoalexinas, resultando na limitação da colonização patogênica (Fawe et al., 1998, Rodrigues et al., 2004).

Estudos pioneiros no Japão demonstraram que a aplicação de diversas fontes de Si em solos deficientes neste elemento reduziram a incidência e a severidade da brusone (Suzuki, 1965). O efeito residual da fertilização silicatada no controle da brusone também foi demonstrado em experimentos realizados no campo, na Flórida e na Colômbia (Datnoff et al., 1997; Correa-Victoria et al., 2001). No Brasil, a aplicação de 800 kg ha⁻¹ de SiO₂ reduziu a severidade da brusone nas panículas em 12 genótipos de arroz em experimento realizado em solo de cerrado (Prabhu et al., 2001).

2.5 RIZOBACTÉRIAS E SUA AÇÃO NAS PLANTAS

Com o avanço da agricultura moderna, os danos ao meio ambiente estão cada vez mais crescentes devido ao uso frequente de agrotóxicos para controlar doenças de plantas. Práticas como essas motivam ainda mais a busca de métodos alternativos de controle. Agentes de controle biológico e indutores de resistência são uma alternativas ao uso de produtos químicos (Perazzolli et al., 2008).

Desde o início, o objetivo de se estudar rizobactérias foi o de promover o aumento do crescimento e o rendimento de plantas. Ao passar dos anos as pesquisas foram evoluindo e a hipótese de que as rizobactérias estimulam também a bioproteção de plantas foi se comprovando cada vez mais (Luz, 1996). Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (PGPR) são bactérias de solo que colonizam raízes de plantas, promovendo o aumento no seu crescimento, e que utilizam de diversos mecanismos específicos para promover a indução de resistência a patógenos (Kokalis-burelle et al., 2006).

As PGPR atuam diretamente e indiretamente na promoção de crescimento. Diretamente proporcionam benefícios para as plantas, como a fixação de nitrogênio atmosférico, solubilização de minerais como fósforo, produção de sideróforos que solubilizam e sequestram o ferro, ou produção de reguladores de crescimento de plantas (hormônios). Indiretamente atuam em condições limitadas, como na presença de um patógeno que restringe o crescimento da planta, através da produção de substâncias antagônicas ou por indução de resistência a patógenos (Glick et al., 1995).

Como bioprotetoras de plantas, as PGPR, quando presentes nas raízes, atuam como eliciadores através de moléculas constituintes das células bacterianas por elas sintetizadas.

Esses eliciadores agem como sinais mediados pelo ácido jasmônico (AJ) e etileno (ET), onde acionam genes codificadores de compostos de defesa, responsáveis pela produção de antibióticos e substância com ação antifúngica, havendo assim, a indução de resistência sistêmica (Van Loon et al, 1998).

A associação de PGPR vem sendo bastante descrita em diversas culturas, como cana-de-açúcar (Lopes, 2013; Rampazzo, 2013), trigo (Souza et al., 2005; Luz et al., 2001), milho (Dartora et al., 2013), feijão (Martins, 2013) e eucalipto (Moreira et al., 2013), onde as plantas tiveram maior crescimento sem suplementação elevada de adubo nitrogenado e diminuíram a supressão de patógenos. O emprego das PGPR na cultura do arroz vem sendo estudado com sucesso, principalmente em cultivo irrigado.

Na promoção de crescimento, Souza-Júnior et al. (2010) evidenciou que plantas de arroz irrigado tratadas com os isolados de *Pseudomonas synxantha* e *Bacillus sp.* apresentaram aumento médio de 70% da área foliar e supressão média de 37% de queima da bainha. Em experimento realizado no campo, no mesmo patossistema, Nandakumar et al. (2001) observou que plantas tratadas via semente, raiz e folha com *Pseudomonas fluorescens* apresentam resultados similares ao do fungicida Carbendazim. Chatterjee et al. (1996) provou que o isolado PF714 de *Pseudomonas fluorescens* foi mais eficiente do que o fungicida Tricyclazole no controle de brusone em arroz irrigado. Em arroz de terras altas, pouco se conhece sobre os efeitos das PGPR em benefício do crescimento e resistência de plantas. Em estudo realizado em casa de vegetação, foram obtidos aumento em até 65% no acúmulo de biomassa e 90% na redução da severidade da brusone nas folhas, com o uso dos isolados Rizo-55 e Rizo-46 de *Pseudomonas sp.* e *Burkholderia sp.* (Filippi et al., 2011). Em outro estudo, realizado com sementes de arroz microbiolizadas por isolados de *Pseudomonas sp.*, foi obtido um nível de controle de 59% na severidade de queima da bainha em experimento conduzido em casa de vegetação (Ludwig et al., 2006).

2.6 *Trichoderma* E SUA AÇÃO NAS PLANTAS

Fungos também tem um grande potencial em promover crescimento e resistência às plantas (Silva, 2010). O *Trichoderma* é um fungo hemibiotrófico eficaz no controle de inúmeros fitopatógenos. Esse gênero é classificado como deuteromiceto, classe Sordariomycetes, ordem Hypocreales, família Hypocreaceae (ANVISA, 2011). Espécies de *Trichoderma* são encontrados distribuídos na natureza e habitam principalmente o solo, matéria orgânica e árvores em decomposição, podendo ser encontrados em qualquer

ecossistema (Samuels, 2006); por isso é tão utilizado na agricultura, apresentando ser inofensivo a saúde humana, por diminuir o impacto negativo ao meio ambiente e possuir estruturas de reprodução de fácil propagação (Chet et al., 1998).

Como bioindutor de resistência e promotor de crescimento das plantas, o *Trichoderma* já vem sendo estudado há mais de 60 anos, uma vez que a quantidade de isolados comprovados como benéficos é grande (Brotman et al., 2010). Como promotor de crescimento, o *Trichoderma* age como um bioestimulante, promovendo melhor desenvolvimento de raízes através da produção de fitohormônios, permitindo que a planta aumente a sua massa radicular, melhore a assimilação de nutrientes e água e aumenta a absorção de nutrientes (Harman et al., 2004). Em condições de campo, Harman et al. (1991) testaram plantas de milho e algodão tratadas com os isolados T12, T95 e T22 de *Trichoderma harzianum*, e obtiveram o aumento de 31% em milho e 60% em algodão do crescimento das raízes. Silva et al. (2011) identificou o aumento de 61% no crescimento de pepineiro causado pelo isolado IB01/03 de *Trichoderma asperellum*. Em arroz, em um estudo realizado em casa de vegetação, foram testados 5 isolados de *Trichoderma* sp. aplicados via semente, rega e foliar, onde obteve-se o aumento médio de 8% da parte aérea das plantas (Silva, 2010).

Como biocontrole, fungos desse gênero agem por diferentes mecanismos de ação, tais como antibiose, parasitismo, produção de enzimas degradadoras de parede celular, competição por nutrientes e/ou substrato e indução de resistência (Shoresh et al., 2005; Vinale et al., 2008). O parasitismo é o principal modo de ação que se destaca pela objetividade, pois consiste na utilização do fitopatógeno como alimento para o antagonista (Shoresh et al., 2005). Além do mecanismo de parasitismo, espécies de *Trichoderma* também podem ativar mecanismos de defesa latentes nas plantas, induzindo uma resistência sistêmica, evidenciando, dessa forma, mecanismos indiretos no controle de fitopatógenos (Shoresh et al., 2005; Viterbo et al., 2005). O *Trichoderma* cresce em direção ao outro fungo, se envolve nas hifas do fungo alvo e degrada a sua parede pela secreção de enzimas líticas, tais como quitinases, celulasas, glucanases e proteases (Silva & Mello, 2007).

Em um experimento em campo, França (2012) testou quatro isolados de *Trichoderma* sp. isoladamente e em conjunto, e comprovou que a mistura entre eles reduz a taxa de progresso de queima da bainha em 27,9% em plantas de arroz de terras altas tratadas via semente. Em outro estudo, em lavoura de arroz irrigado, foi obtida através do uso de *T. harzianum*, uma redução de 29 a 37% na severidade a queima das bainhas (Rodriguez et al., 1999).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 FONTE E APLICAÇÃO DO SILÍCIO

Utilizou-se o produto Agrosilício®, tendo como fonte o silicato de cálcio e magnésio (SiCaMg), contendo 10,5% de silício, 27% de cálcio e 6% de magnésio. O solo utilizado classifica-se como latossolo vermelho, coletado de área de cerrado não cultivada, corrigido com calcário dolomítico conforme a análise de macro e micronutrientes (pH H₂O: 5,4; argila: 589,0 g.Kg⁻¹; silte: 66,0 g.Kg⁻¹; areia: 144,0 g.Kg⁻¹; K⁺: 63,0 mg.dm⁻³; P: 4,0 mg.dm⁻³; Ca⁺²: 0,4 mg.dm⁻³; Mg⁺²: 0,2 Cmolc.dm⁻³; Al⁺³: 0,1 Cmolc.dm⁻³; Si: 3,0 mg.Kg⁻¹). O solo de cerrado corrigido e adubado com SiCaMg foi distribuído em bandejas plásticas, que repousaram por 30 dias antes do plantio. Para a fertilização, utilizou-se a formulação NPK (5-30-15) + Zn e FTE na semeadura, e uma cobertura nitrogenada ((NH₄)₂SO₄ + Fe e Bo) aos 19 dias. A cultivar utilizada foi a BRS Primavera.

3.2 BIOAGENTES

Foram utilizados três bioagentes, sendo duas PGPR (*Pseudomonas fluorescens* e *Burkholderia pyrrocinia*) e um conjunto (pool) composto de 4 isolados de *Trichoderma asperellum* (T06, T09, T12, T56). As bactérias *P. fluorescens* e *B. pyrrocinia* pertencem a coleção de microrganismos da Embrapa Arroz e Feijão (R-46 e R-55), que são isolados coletados do rizoplano e filoplano de plantas de arroz, respectivamente (Filippi et al., 2011). O conjunto composto de 4 isolados de *T. asperellum* pertence à Coleção de Fungos do Laboratório de Proteção de Plantas da Universidade Federal Rural da Amazônia, isolados de solos rizosféricos de espécies florestais, em áreas reflorestadas e matas nativas, da Base de

Urucu da PETROBRÁS, Coari - AM, preservados em folhas estéreis de arroz triturado e conservado em freezer -80°C (Silva, 2010).

3.3 FORMA DE APLICAÇÃO DOS BIOAGENTES NAS PLANTAS

Foram realizadas três tipos de aplicações dos bioagentes nas plantas de arroz, sendo elas: via semente (microbiolização), rega e foliar. Para as aplicações via semente e rega, foram utilizados os bioagentes *B. pyrrocinia* e o pool de *T. asperellum*, e para a aplicação via foliar, utilizou-se *P. fluorescens*, conforme Fillipi et al. (2011) e França (2013).

Para a microbiolização das sementes com *B. pyrrocinia*, o isolado foi multiplicado em placa de Petri contendo o meio 523 (Kado & Heskett, 1970), e em seguida, as placas foram incubadas em uma câmara de crescimento por 48 h, a aproximadamente 28° C. Após este período, as placas foram lavadas utilizando água destilada com o auxílio de uma alça de Drigalski, preparando-se uma suspensão bacteriana. A suspensão então foi ajustada, através de um espectrofotômetro, a uma absorbância de 0,5, em comprimento de onda de 540 nm, correspondendo a 1×10^8 UFC por mL. Em seguida, as sementes de arroz foram imersas na suspensão bacteriana e colocadas em uma mesa giratória por 24 horas, a uma velocidade de 110 rpm. Após este período, as sementes foram retiradas da suspensão e colocadas para secar ao ar, eliminando o excesso de umidade (Fillipi et al., 2011). Para a microbiolização das sementes com o pool de *T. asperellum*, foram pesados 0,5 g de cada isolado, e preparada 6,7 mL de solução de cola branca (1%) para cada 200 g de sementes de arroz, que através de um saco plástico, foram agitadas com os isolados, induzindo todas as sementes (França, 2013).

Aos 19 dias após o plantio, as mesmas bandejas que receberam as sementes microbiolizadas foram submetidas a uma rega com suspensões dos mesmos bioagentes. Para o preparo da suspensão bacteriana de *B. pyrrocinia* foi utilizada a mesma metodologia da microbiolização, com os mesmos ajustes de absorbância e comprimento de onda. No preparo da suspensão de *T. asperellum* foram adicionados e misturados 2 g de cada isolado para 2 L de água destilada. Ambas as soluções foram aplicadas com um volume de 100 mL/bandeja (França, 2013).

A aplicação via foliar de *P. fluorescens* foi realizada via pulverização aos 19 dias após o plantio, onde primeiramente, o isolado foi multiplicado em placa de Petri com meio 523 (Kado & Heskett, 1970) e, em seguida, incubado em câmara de crescimento por 48 horas, a aproximadamente 28° C. Após este período, preparou-se uma suspensão bacteriana com água destilada e o auxílio de uma alça de Drigalski. A suspensão foi ajustada a 0,5 de

absorbância, com comprimento de onda de 540 nm, correspondendo a 1×10^8 UFC por mL. A pulverização ocorreu através de uma bomba costal, com um volume de 100 mL/bandeja, abordando todas as folhas do tratamento (Fillipi et al., 2011).

3.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Foram realizados dois ensaios (E1 e E2), ambos em condições controladas de casa de vegetação. E1: Em delineamento fatorial, este ensaio foi composto de 5 tratamentos e 5 subtratamentos, em 8 repetições, totalizando 200 bandejas. Os tratamentos consistiram em: (1) controle, solo corrigido apenas com calcário dolomítico; (2) solo corrigido com calcário dolomítico mais 1 ton SiCaMg.ha⁻¹; (3) solo corrigido com calcário dolomítico mais 2 ton SiCaMg.ha⁻¹; (4) solo com 4 ton SiCaMg.ha⁻¹; e (5) solo com 8 ton SiCaMg.ha⁻¹. Os subtratamentos consistiram em: (1) controle, ausência de bioagentes; (2) presença de *B. pyrocinia*; (3) presença *P. fluorescens*; (4) presença do pool de *T. asperellum*; e (5) mistura dos três bioagentes. O objetivo deste ensaio foi de selecionar os melhores tratamentos, através da avaliação da severidade de brusone nas folhas.

E2: Delineamento fatorial composto por 2 tratamentos e 3 subtratamentos, em 4 repetições. Os tratamentos consistiram em: (1) controle, solo corrigido apenas com calcário dolomítico; (2) solo corrigido com calcário dolomítico mais 2 ton SiCaMg.ha⁻¹. Os subtratamentos em: (1) controle, ausência de bioagentes; (2) composto de *T. asperellum*; e (3) mistura dos três bioagentes. O objetivo deste ensaio foi de comprovar o efeito dos melhores tratamentos na promoção de crescimento das plantas e na supressão da brusone foliar através de análise enzimática e hormonal.

3.5 INOCULAÇÃO COM *M. oryzae*

O isolado de *M. oryzae*, Py-461, proveniente da Coleção de Fungos e Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Arroz e Feijão, foi multiplicado em placa de Petri contendo meio de cultura ágar-aveia. Em seguida, as placas foram incubadas em câmara de crescimento, com temperatura de 25°C e umidade de 80%, onde foram mantidas por sete dias. Após este período, as estruturas fúngicas foram raspadas nas placas com um bastão de vidro esterilizado, com o objetivo de retirar o micélio e induzir a produção de conídios. Em seguida, as placas abertas foram levadas de volta para a câmara de crescimento, onde permaneceram por mais 48 horas. Após isso, as placas foram lavadas com água destilada autoclavada, com o auxílio de

um pincel esterilizado, e a suspensão formada foi filtrada com tecido de malha fina esterilizado. Em seguida, foi realizada a contagem de conídios com auxílio da câmara de Neubauer e a suspensão ajustada para 3×10^5 conídios.mL⁻¹, conforme Filippi et al. (2007).

Aos 21 dias de cultivo, as plantas foram transferidas para a sala de inoculação, onde ficaram mantidas em gaiolas vedadas com plástico transparente, com condições ambientais controladas, com temperatura entre 27 e 28°C e umidade relativa acima de 80%. Por meio de uma bomba de pressão e uma pistola de aspersão, com pressão de 0,001 kg/cm², as folhas foram pulverizadas com 20 mL/gaiola da suspensão de conídios (Filippi et al., 2007). Em E1, a avaliação da severidade de brusone foliar foi realizada aos 8 dias após a inoculação; em E2, foram realizadas 4 avaliações (1, 2, 4 e 8 dias após inoculação), com o objetivo de calcular a Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD). As avaliações foram realizadas com o auxílio de uma escala de severidade (0%, 0,5%, 1%, 2%, 4%, 8%, 16%, 32%, 64%, 82%) de acordo com Nottoghem (1981), determinando a porcentagem da área foliar afetada pela doença.

3.6 ATIVIDADES BIOQUÍMICAS

3.6.1 Coletas de amostras

Durante o desenvolvimento da doença foram realizadas 5 coletas de folhas da cv. BRS Primavera: coleta 0: uma hora após a inoculação desafiadora; coleta 1: 24 horas após a inoculação; coleta 2: 36 horas após a inoculação e; coleta 3: 48 horas após a inoculação. Para cada coleta, todos os tratamentos foram amostrados (20 folhas por cada tratamento) incluindo tratamento não desafiado com *M. oryzae* (controle), com o objetivo de analisar a atividade de enzimas e de ácido salicílico. As amostras foram coletadas e imediatamente conservadas em gelo.

3.6.2 Extração de proteínas totais

As amostras coletadas e armazenadas em freezer -80 °C foram descongeladas e maceradas com nitrogênio líquido, formando um pó, ocupando ¼ de microtubo (2,0 mL), sempre mantidos em banho de gelo. Em cada microtubo foi adicionado uma solução tampão de extração de proteínas (Tris-HCl 10 mM; NaCl 150 mM; EDTA 2 mM; DTT 2 mM; PMSF 1 mM; Leptina 10 mg.mL⁻¹ e Apotina 10 mg.mL⁻¹). Em seguida, as amostras foram

mantidas em agitador por um minuto e, posteriormente, centrifugadas a 10.000 g, a 4°C por 5 minutos. O sobrenadante foi utilizado para a quantificação de proteínas totais e para o preparo dos ensaios enzimáticos. A quantificação das proteínas totais foi realizada em placas de Elisa. 50 µL de cada amostra, foram transferidas para microtubos, e acrescentou-se 1 mL do reagente “coomassie brilliant blue” (CBB), então homogeneizou-se e deixou-se em repouso por 15 minutos. Em seguida, transferiu-se 100 µL de cada amostra para placas de Elisa e procedeu-se a leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 597 nm utilizando o software Gen5. Determinou-se também uma curva padrão de proteína com albumina de soro bovino (BSA), para conversão em concentração de proteína solúvel (Bradford, 1976).

3.6.3 β -1,3 glucanase (GLU)

Utilizou-se 50 µl do extrato de cada amostra, colocadas em microtubos, em triplicata, acrescentou-se 250 µl de laminarina (1%) em tampão acetato de sódio 1,0 M pH 4,5. As amostras permaneceram em repouso por 24 horas. Em seguida, acrescentou-se em cada amostra 250 µl do reagente DNS (ácido dinitrossalicílico) 1%, seguidos de banho-maria a 100°C, por 20 minutos. A atividade da enzima foi quantificada com o auxílio do espectrofotômetro com comprimento de onda de 500 nm e do software Gen5 (Côrtes et al., 2008 - adaptada).

3.6.4 Quitinase (QUI)

Foi utilizado 50 µl dos extratos de cada amostra em triplicata, acrescentando 250 µl da solução de quitina tampão pH 4,5. A solução foi homogeneizada e após 24 horas a reação foi interrompida pela adição de 1 ml de DNS. Os tubos microtubos foram levados a banho-maria por 20 minutos e, após o resfriamento, foi realizada a leitura em placa de Elisa, em espectrofotômetro com comprimento de onda de 540 nm utilizando o software Gen5 (Côrtes et al., 2008 - adaptada).

3.6.5 Peroxidase (POX)

A atividade de peroxidase foi determinada em meio reacional composto de 1 ml de solução de ABTS 0,4 mg.mL⁻¹ em tampão acetato de sódio 0,1 molar com pH 4,5. Para cada leitura, foram adicionados na cubeta 2 mL do reagente ABTS, 0,5 µl das amostras, em

triplicata, e 20 μl de peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Este componentes foram homogeneizados e submetidos a quantificação da atividade da peroxidase, em espectrofotômetro, com comprimento de onda a 405 nm. A atividade enzimática específica foi definida como variação de unidade de absorbância produzida em meio reacional por tempo em segundos e por miligrama de proteína (Keeseey, 1987).

3.6.6 Fenilalanina Amônia-liase (FAL)

A atividade de fenilalanina amônia liase foi determinada, utilizando 2 ml de solução de fenilalanina 10 mM, em solução tampão borato 0,1 M, pH 9,0 e 50 μl de cada amostra, em triplicata. A mistura foi homogeneizada e submetida à quantificação do produto em espectrofotômetro, em comprimento de onda 290 nm (ultravioleta) (Côrtes et al., 2008 - adaptada).

3.6.7 Lipoxigenase (LOX)

A atividade de lipoxigenase foi determinada, utilizando como substrato linoleato de sódio 10 mmol L^{-1} , pH 9,0, em mistura de reação constituída de 1.000 μL de fosfato de sódio 50 mmol L^{-1} , pH 6,0, 20 μL do substrato e 10 μL de cada amostra, em triplicata. O coeficiente de extinção molar (ϵ) dos hidroperóxidos para o ácido linoleico foi 25.000 $\text{mol L}^{-1} \text{cm}^{-1}$ e pH 6,0. A atividade específica da lipoxigenase foi determinada em espectrofotômetro, em comprimento de onda de 234 nm, expressa em μmol de hidroperóxido do ácido linoléico, por minuto, por μg de proteína (Axelrod et al., 1981).

3.6.8 Ácido Salicílico (AS)

Duzentos mg de cada amostra foram maceradas e transferidas para microtubos (2 mL). Em cada microtubo foi adicionado 1 mL de metanol (90%), seguido de agitação em agitador, por 1 minuto. As amostras foram centrifugadas, a 5000 g por 10 minutos, e transferidas para um tubo falcon, de 15 mL. Adicionou-se, em cada tubo 1 mL de metanol PA, 2 mL de ácido tricloroacético (5%), e 2 mL de acetato de etila, ciclopentano e isopropanol na proporção de 50:50:1. As amostras foram agitadas em agitador por 1 minuto, e o sobrenadante foi transferido para outro tubo, onde posteriormente foram liofilizadas. Adicionou-se em cada tubo 200 μL de metanol (23%), em tampão acetato (20 μmol pH 5,0), que foram filtradas em

minifiltro milipore (0,45 μm). A quantificação de ácido salicílico foi realizada com o auxílio do aparelho de cromatografia líquida HPLC (High Performance Liquid Chromatography), baseada em dados padrões do software Chromera®, apresentando tempo de retenção de 4,8 minutos (Meher et al., 2012; Saikia et al., 2006).

3.7 ANÁLISE DOS DADOS

As análises estatísticas dos dados dos ensaios E1 e E2 foram realizadas em fatorial, com o auxílio do programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 19.0. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Duncan a 5% de significância e, realizada análise de regressão polinomial.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 SEVERIDADE DA BRUSONE FOLIAR EM E1

Observou-se diferença estatística entre as diferentes doses de SiCaMg e os diferentes bioagentes testados, para a supressão de brusone foliar. O solo contendo 2 ton SiCaMg.ha⁻¹ combinado com sementes microbiolizadas por *B. pyrrocinia* e o pool de *T. asperellum*, seguidos da rega dos mesmos bioagentes e da pulverização de plantas com *P. fluorescens* destacaram-se significativamente, reduzindo a área afetada a 96% (Tabela 1). Entre as doses de SiCaMg, destacou-se 8 ton.ha⁻¹ e, entre os bioagentes a bactéria *P. Fluorescens*, quando pulverizada nas folhas, 48 horas antes da inoculação desafiadora com *M. oryzae* (Tabela 1), com a área foliar com brusone de 1,30 e 4,16, respectivamente. A análise de regressão mostrou que a relação entre doses de silício e severidade de brusone foliar foi quadrática, tanto para os tratamentos contendo somente as doses de silício, como para os tratamentos contendo os bioagentes. De acordo com a regressão, a dose de SiCaMg para a eficiência máxima na redução da brusone sem a aplicação de bioagentes foi de 5,66 ton.ha⁻¹ (Figura 1), enquanto que o tratamento contendo a mistura dos bioagentes foi de 5,20 ton.ha⁻¹, obtendo 8% na redução do consumo de SiCaMg.

Tabela 1. Severidade da brusone foliar em plantas de arroz, em E1. Letras maiúsculas definem o efeito dos bioagentes dentro das doses. Letras minúsculas definem o efeito das doses dentro dos bioagentes. Teste de Duncan (p < 0,05).

Doses SiCaMg (t.ha ⁻¹)	Bioagentes				
	Controle	<i>B. pyrrocinia</i>	<i>P. fluorescens</i>	Pool <i>T. asperellum</i>	Mistura
0	14,02 Dd	8,06 Bd	4,16 Ab	9,60 BCc	9,63 Cd
1	3,61 Bc	3,87 Bc	1,14 Aa	2,46 Bb	3,63 Bc
2	1,95 Cab	1,01 Ba	1,41 Ba	1,24 Ba	0,56 Aa
4	3,05 Cbc	1,82 Bb	1,27 Ba	0,87 Aa	1,94 Bb
8	1,30 Aa	2,31 Bb	4,12 Cb	1,60 Bb	1,25 Aab

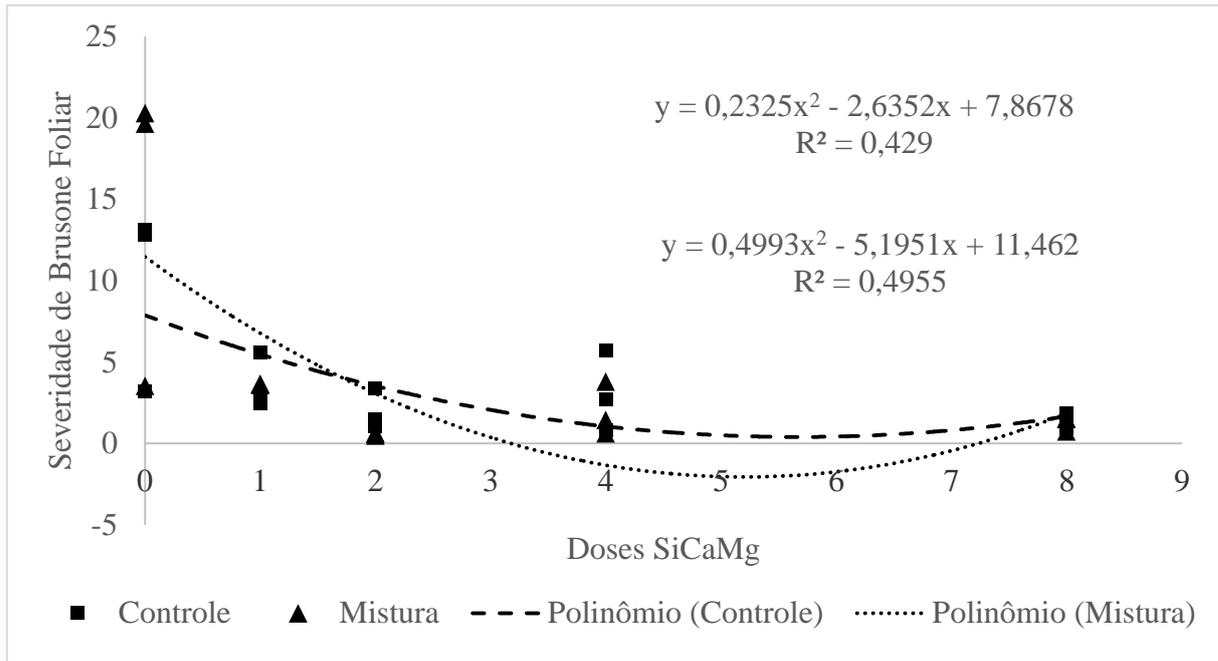


Figura 1. Efeito da adubação de SiCaMg em plantas de arroz tratadas com a Mistura dos três bioagentes (via semente e rega com os bioagentes *B. pyrocinia* e *T. asperellum* e, via pulverização foliar com *P. fluorescens*) e no controle (sem a aplicação de bioagentes) na severidade da brusone foliar, em análise de regressão polinomial.

No tratamento controle, as lesões formadas apresentaram formato elíptico, com borda marrom e centro acinzentado, com aspecto esporulativo e coalescente, diminuindo a área foliar sadia (Figura 2a). No tratamento contendo a combinação entre o pool de *T. asperellum* e com a adubação de 2 ton SiCaMg.ha⁻¹, observou-se a formação de lesões esporulativas, em pequena quantidade e distante umas das outras. Observou-se também a presença de lesões do tipo “cabeça de alfinete” (Figura 2b). No tratamento contendo a combinação dos três bioagentes com a adubação de 2 ton SiCaMg.ha⁻¹, não observou-se a presença de lesões esporulativas, apenas lesões fechadas (Figura 2c).

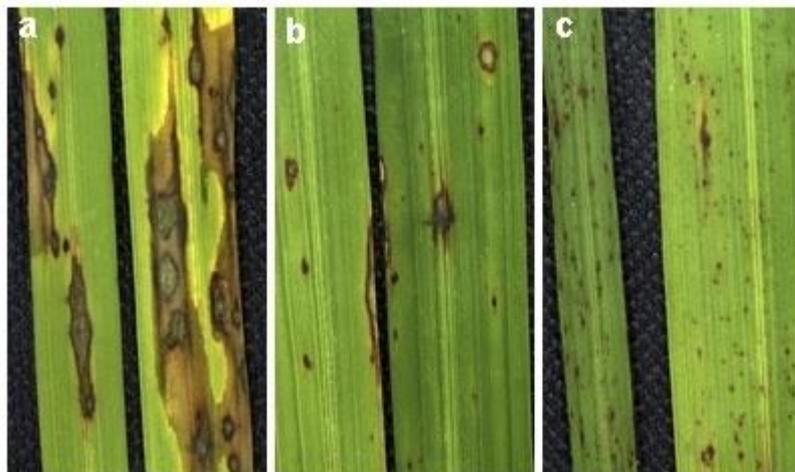


Figura 2. Severidade da brusone foliar, em plantas de arroz adubadas com 2 ton SiCaMg.ha⁻¹ inoculadas com suspensão de conídios de *M. oryzae* (3×10^5 con. mL⁻¹). Tratamento controle (a). Combinação com pool de *T. asperellum* (b). Combinação com a mistura dos três bioagentes (c).

4.2 SEVERIDADE E AACPD DA BRUSONE FOLIAR EM E2

A severidade da brusone foliar foi estatisticamente diferente, destacando-se o tratamento constituído por sementes de arroz microbiolizadas com *B. pyrocinia* e o pool de *T. asperellum*, seguidos da rega dos mesmos bioagentes e da pulverização de plantas com *P. Fluorescens*, semeadas em solo adubado com 2 ton SiCaMg.ha⁻¹, o qual apresentou 3,96 de área foliar afetada pela doença e 13,17 de área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) (Tabela 2 e Figura 3).

Tabela 2. Severidade da brusone foliar em plantas de arroz, em E2. Letras maiúsculas definem o efeito das doses dentro dos bioagentes. Letras minúsculas definem o efeito dos bioagentes dentro das doses. Teste de Duncan ($p < 0,05$).

Doses SiCaMg (ton.ha ⁻¹)	Bioagentes		
	Controle	Pool <i>T. asperellum</i>	Mistura
0	14,25 Bb	7,71 Ab	8,17 Ab
2	11,92 Ba	5,71 Aa	3,96 Aa

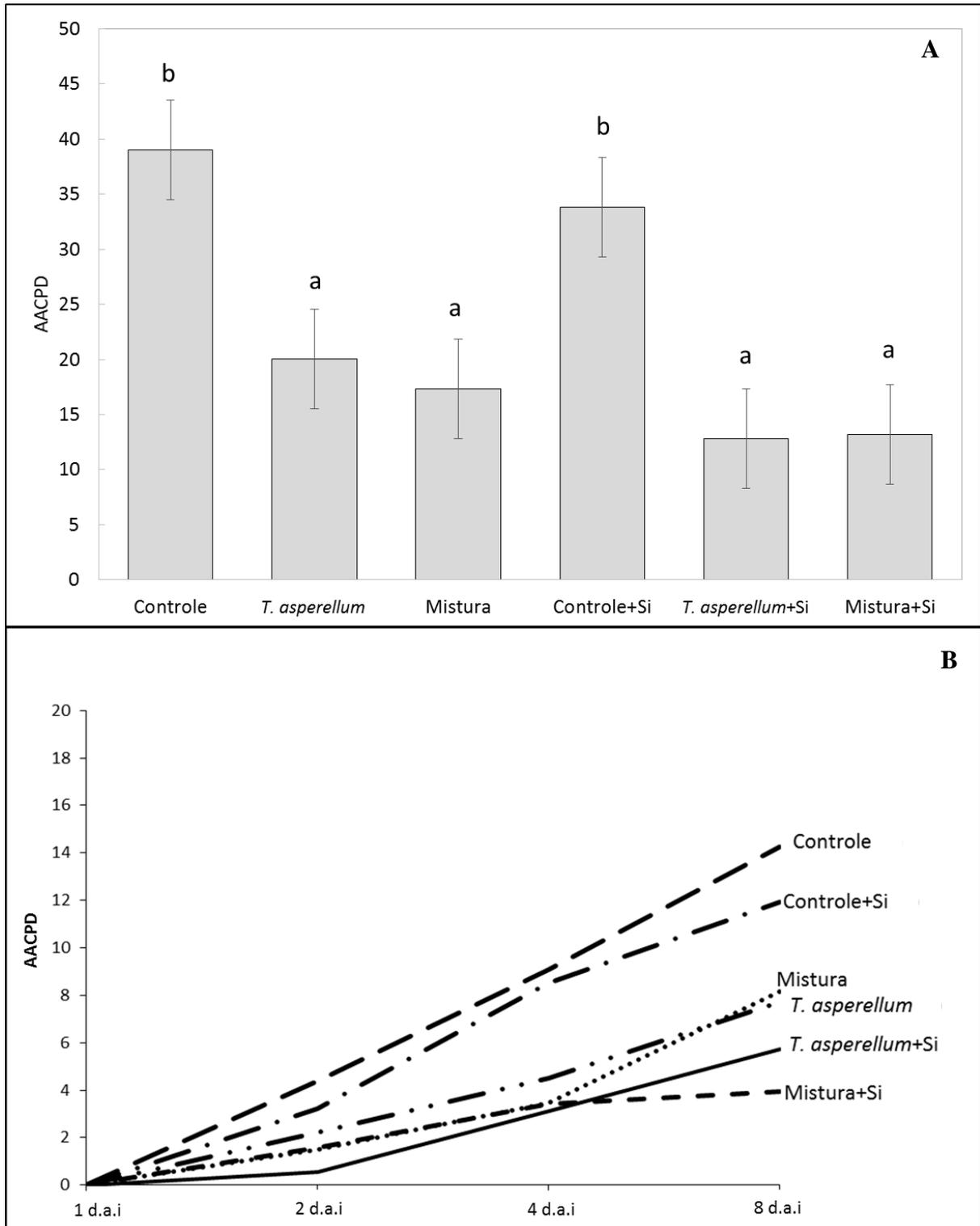


Figura 3. Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) da brusone foliar em plantas de arroz. **A:** Média dos valores de AACPD de cada tratamento, em que as letras indicam a diferença estatística entre os tratamentos pelo teste de Duncan ($p \geq 0,05$). **B:** Progresso da doença referente às quatro avaliações realizadas após a inoculação com *M. oryzae*.

4.3 ATIVIDADES BIOQUÍMICAS

Entre as 4 coletas realizadas, optou-se por apresentar os dados das coletas 1 e 3 por serem mais informativas e coincidirem com as datas de início da avaliação da severidade da brusone foliar. Em ambas as coletas, 1 (24 horas após o desafio com *M. oryzae*) e 3 (48 horas após o desafio com *M. oryzae*), observou-se diferença estatística entre os tratamentos, tanto na ausência (plantas saudas) quanto na presença (plantas doentes) de *M. oryzae*, para a atividade das enzimas QUI, GLU, POX e para o hormônio AS. Porém, para a atividade enzimática de FAL e LOX, apenas na coleta 3, observou-se diferença estatística entre os tratamentos.

4.3.1 Na ausência de *M. oryzae*

Na coleta 1, tanto para a atividade de QUI, quanto para GLU e POX, destacou-se o tratamento MISTURA (constituído por sementes microbiolizadas e plantas regadas pela combinação dos três bioagentes) com 1,673, 2,087 e 0,593 U.mg⁻¹, respectivamente, versus 0,59, 1,367 e 0,314 U.mg⁻¹ do tratamento CTR (controle), respectivamente (Tabelas 3, 4 e 7). Na coleta 3, o tratamento *T. asperellum* + Si (plantas tratadas com pool de *T. asperellum* e adubadas com 2 ton SiCaMg.ha⁻¹) foi superior para a atividade de QUI, GLU e POX, com 1,493, 3,085 e 0,980 U.mg⁻¹, respectivamente (Tabelas 3, 4 e 7), versus 0,447, 1,233 e 0,361 U.mg⁻¹ do tratamento CTR, respectivamente.

Quanto a atividade de FAL, na coleta 1, destacou-se apenas o tratamento MISTURA + Si (constituído por sementes microbiolizadas e plantas regadas pela combinação dos três bioagentes nutridas com 2 ton SiCaMg.ha⁻¹) com 0,0044 U.mg⁻¹, e na coleta 3, o tratamento *T. asperellum* (plantas tratadas com pool de *T. asperellum*) (Tabela 5) com 0,0000476 U.mg⁻¹ versus 0,0000310 U.mg⁻¹ do tratamento CTR. Para a atividade de LOX, não observou-se atividade na coleta 1, e na coleta 3, apenas no tratamento CTR, com 0,004074 U.mg⁻¹ (Tabela 6). Quanto a quantificação de AS, na coleta 1, destacaram-se o CTR, *T. asperellum* (plantas tratadas apenas com pool de *T. asperellum*), e MISTURA + Si (plantas tratadas com a combinação dos três bioagentes nutridas com 2 ton SiCaMg.ha⁻¹) com 911,33, 877,07 e 881,17 ng.g⁻¹, respectivamente. Na coleta 3, todos os tratamentos se destacaram para os teores de AS (Tabela 8), em relação ao controle.

4.3.2 Na presença de *M. oryzae*

Quitinase (QUI): na coleta 1, destacaram-se os tratamentos CTR (plantas apenas desafiadas com MO) e *T. asperellum*, com 1,335 e 1,181 U.mg⁻¹, respectivamente. Na coleta 3, destacou-se o tratamento *T. asperellum* + Si (plantas tratadas com pool de *T. asperellum* e adubadas com 2 ton SiCaMg.ha⁻¹) com 1,446 U.mg⁻¹ (Tabela 3).

B-1,3 Glucanase (GLU): na coleta 1, destacou-se apenas o CTR, com 2,811 U.mg⁻¹. Na coleta 3, destacou-se o tratamento MISTURA + Si (plantas tratadas com a MISTURA dos três bioagentes e adubadas com 2 ton SiCaMg.ha⁻¹) com 2,394 U.mg⁻¹ (Tabela 4), versus o CTR (plantas apenas inoculadas com *M. oryzae*).

Fenilalanina Amônia Liase (FAL): não observou-se diferença estatística entre os tratamentos na coleta 1. Na coleta 3, destacou-se o tratamento *T. asperellum* (plantas tratadas com pool de *T. asperellum*) com 0,0001263 U.mg⁻¹ (Tabela 5), em relação ao controle.

Lipoxigenase (LOX): observou-se o destaque do tratamento *T. asperellum* + Si e com 0,002169 U.mg⁻¹, na coleta 1. Na coleta 3, destacou-se os tratamentos *T. asperellum* (plantas tratadas com pool de *T. asperellum*), e CTR + Si (plantas nutridas apenas 2 ton SiCaMg.ha⁻¹) com 0,002384 e 0,001550 U.mg⁻¹, respectivamente. (Tabela 6).

Peroxidase (POX): na coleta 1, destacou-se o CTR + Si (plantas nutridas apenas 2 ton SiCaMg.ha⁻¹) com 0,7590 U.mg⁻¹. Na coleta 3, destacou-se também o tratamento CTR + Si, juntamente com o tratamento MISTURA, com 0,6790 e 0,5897 U.mg⁻¹, respectivamente (Tabela 7).

Ácido Salicílico (AS): na coleta 1, destacou-se o tratamento MISTURA (plantas tratadas com a combinação dos três bioagentes) com 1096,07 ng.g⁻¹. Na coleta 3, destacou-se o tratamento CTR + Si com 1007,00 ng.g⁻¹ (Tabela 8).

Tabela 3. Atividade de QUI (U.mg⁻¹) em folhas de arroz coletadas em 24 horas após o desafio com *M. oryzae* e; 48 horas após o desafio com *M. oryzae*. Durante cada coleta foram amostradas folhas de plantas não desafiadas e desafiadas com *M. oryzae*, contendo 0 ton SiCaMg e 2 ton SiCaMg (+Si). Letras maiúsculas definem efeito das coletas nos tratamentos (vertical) e, letras minúsculas definem efeito dos tratamentos nas coletas (horizontal). **NI:** Não inoculado; **I:** Inoculado com *M. oryzae*.

Tratamentos	24 horas		48 horas	
	NI	I	NI	I
CTR	0,590 BCc	1,335 Aa	0,447 EFd	0,567 DEFb
<i>T. asperellum</i>	0,327 Cb	1,181 ABa	0,588 CDEFab	0,408 Fb
MISTURA	1,673 Aa	0,695 BCbc	0,770 Cabc	1,147 Bab
CTR+Si	0,653 BCb	0,537 Cc	0,720 CDa	0,617 CDEb
<i>T. asperellum</i> +Si	0,674 BCc	0,659 BCb	1,493 Aa	1,446 Aa
MISTURA+Si	1,352 Aa	0,674 BCbc	0,687 CDb	1,275 Ba

Tabela 4. Atividade de GLU (U.mg⁻¹) em folhas de arroz coletadas em 24 horas após o desafio com *M. oryzae* e; 48 horas após o desafio com *M. oryzae*. Durante cada coleta foram amostradas folhas de plantas não desafiadas e desafiadas com *M. oryzae*, contendo 0 ton SiCaMg e 2 ton SiCaMg (+Si). Letras maiúsculas definem efeito das coletas nos tratamentos (vertical) e, letras minúsculas definem efeito dos tratamentos nas coletas (horizontal). **NI:** Não inoculado; **I:** Inoculado com *M. oryzae*.

Tratamentos	24 horas		48 horas	
	NI	I	NI	I
CTR	1,367 CDEbc	2,811 Aa	1,233 FGc	1,472 EFb
<i>T. asperellum</i>	0,979 Efc	1,561 CDb	1,375 Fa	1,082 Hc
MISTURA	2,087 Ba	1,662 BCb	2,109 Ca	1,792 Db
CTR+Si	1,155 DEFb	1,287 CDEc	1,834 CDa	1,999 CDa
<i>T. asperellum</i> +Si	0,778 Fd	1,165 DEFc	3,085 Aa	1,941 CDa
MISTURA+Si	1,503 CDb	1,528 CDc	1,711 DEa	2,394 Ba

Tabela 5. Atividade de FAL (U.mg⁻¹) em folhas de arroz coletadas em 24 horas após o desafio com *M. oryzae* e; 48 horas após o desafio com *M. oryzae*. Durante cada coleta foram amostradas folhas de plantas não desafiadas e desafiadas com *M. oryzae*, contendo 0 ton SiCaMg e 2 ton SiCaMg (+Si). Letras maiúsculas definem efeito das coletas nos tratamentos (vertical) e, letras minúsculas definem efeito dos tratamentos nas coletas (horizontal). **NI:** Não inoculado; **I:** Inoculado com *M. oryzae*. (*) Não significativo.

Tratamentos	24 horas		48 horas	
	NI	I	NI	I
CTR	0,0000190 Bd	0,0000333 Bd	0,0000310 Fc	0,0000593 Bb
<i>T. asperellum</i>	0,0000560 Bc	0,0000223 Bc	0,0000476 Ce	0,0001263 Aa
MISTURA	6,6666666 Be	0,0000220 Bc	0,0000346 DEd	0,0000326 EFb
CTR+Si	0,0000236 Bd	0,0000293 Bb	0,0000336 DEb	0,0000353 Da
<i>T. asperellum</i> +Si	0,0000160 Bd	0,0000260 Ba	0,0000080 He	0,0000200 Gb
MISTURA+Si	0,0044223 A*	0,0000103 Bd	0,0000186 G*	0,0000203 Gb

Tabela 6. Atividade de LOX ($\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$) em folhas de arroz coletadas em 24 horas após o desafio com *M. oryzae* e; 48 horas após o desafio com *M. oryzae*. Durante cada coleta foram amostradas folhas de plantas não desafiadas e desafiadas com *M. oryzae*, contendo 0 ton SiCaMg e 2 ton SiCaMg (+Si). Letras maiúsculas definem efeito das coletas nos tratamentos (vertical) e, letras minúsculas definem efeito dos tratamentos nas coletas (horizontal). **NI:** Não inoculado; **I:** Inoculado com *M. oryzae*.

Tratamentos	24 horas		48 horas	
	NI	I	NI	I
CTR	0,000000 Cc	0,000000 Cc	0,004074 Aa	0,001197 EFGb
<i>T. asperellum</i>	0,000000 Cc	0,000000 Cc	0,002918 Bb	0,002384 Ca
MISTURA	0,000000 Cc	0,000000 Cc	0,001809 Db	0,001218 EFGb
CTR+Si	0,000000 Cc	0,000000 Cb	0,001102 FGb	0,001550 DEFa
<i>T. asperellum</i> +Si	0,000000 Cc	0,002169 Ab	0,001207 EFGb	0,000918 Gc
MISTURA+Si	0,000000 Cc	0,001552 Bab	0,001709 DEb	0,000673 Gbc

Tabela 7. Atividade de POX ($\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$) em folhas de arroz coletadas em 24 horas após o desafio com *M. oryzae* e; 48 horas após o desafio com *M. oryzae*. Durante cada coleta foram amostradas folhas de plantas não desafiadas e desafiadas com *M. oryzae*, contendo 0 ton SiCaMg e 2 ton SiCaMg (+Si). Letras maiúsculas definem efeito das coletas nos tratamentos (vertical) e, letras minúsculas definem efeito dos tratamentos nas coletas (horizontal). **NI:** Não inoculado; **I:** Inoculado com *M. oryzae*. (*) Não significativo.

Tratamentos	24 horas		48 horas	
	NI	I	NI	I
CTR	0,3140 CDEb	0,3845 CD*	0,3615 ABb	0,4688 AB*
<i>T. asperellum</i>	0,2034 DEb	0,3803 CD*	0,4956 ABa	0,9141 A*
MISTURA	0,5937 ABa	0,3745 CDb	0,4074 ABb	0,5897 ABa
CTR+Si	0,2501 DEb	0,7590 Aa	0,4098 ABab	0,6790 ABa
<i>T. asperellum</i> +Si	0,4463 BCc	0,2616 CDEb	0,9803 Aa	0,3739 ABb
MISTURA+Si	0,2332 DEb	0,1519 Ea	0,1804 Bb	0,1331 Bab

Tabela 8. Concentração de AS (ng.g^{-1}) em folhas de arroz coletadas em 24 horas após o desafio com *M. oryzae* e; 48 horas após o desafio com *M. oryzae*. Durante cada coleta foram amostradas folhas de plantas não desafiadas e desafiadas com *M. oryzae*, contendo 0 ton SiCaMg e 2 ton SiCaMg (+Si). Letras maiúsculas definem efeito das coletas nos tratamentos (vertical) e, letras minúsculas definem efeito dos tratamentos nas coletas (horizontal). **NI:** Não inoculado; **I:** Inoculado com *M. oryzae*.

Tratamentos	24 horas		48 horas	
	NI	I	NI	I
CTR	911,33 Bc	451,53 Ed	477,87 Gd	810,13 Eb
<i>T. asperellum</i>	877,07 Bb	917,93 Ba	895,97 CDEb	822,70 DEb
MISTURA	203,33 Fe	1096,07 Aa	1036,57 ABb	603,90 Fb
CTR+Si	493,43 DEc	883,57 Bb	902,07 BCDEa	1007,00 ABCa
<i>T. asperellum</i> +Si	625,60 Cd	585,57 CDb	1045,30 Aa	949,70 ABCDa
MISTURA+Si	881,17 Bb	499,62 DEb	963,70 ABCb	919,75 ABCDEa

Este é o primeiro relato da associação dos efeitos do silício e de bioagentes, para suprimir brusone foliar. Os tratamentos testados foram eficientes para a supressão da doença. Constatou-se no presente trabalho que o programa adotado de aplicação dos três bioagentes e da concentração selecionada de silicato de cálcio: sementes microbiolizadas com os três bioagentes semeadas em solo adubado com 2 ton SiCaMg.ha⁻¹, posteriormente regado com suspensão contendo a concentração de 1×10^8 de *B. pyrocinia* e 2 g de cada isolado para 2 L de água destilada do pool de *T. asperellum*, e plantas, com 19 dias, pulverizadas com suspensão na concentração de 1×10^8 de *P. fluorescens* suprimiram em 96% e 67% de brusone foliar em E1, e E2, respectivamente (Tabelas 1 e 2) seguido do tratamento contendo sementes microbiolizadas, e plantas regadas e pulverizadas com *T. asperellum* em combinação com adubação de 2 ton SiCaMg.ha⁻¹, que suprimiu 93% em E1, e 59% em E2. Os tratamentos compostos, em E1, por plantas tratadas apenas com 8 ton SiCaMg.ha⁻¹; plantas tratadas com *P. fluorescens* combinadas com adubação de 1 ton SiCaMg.ha⁻¹ e; plantas tratadas com pool de *T. asperellum* combinadas com adubação de 4 ton SiCaMg.ha⁻¹, apresentaram resultados significantes para a supressão de brusone foliar. Porém, o tratamento composto por plantas tratadas com os três bioagentes e adubadas com 2 ton SiCaMg.ha⁻¹, mostrou-se mais eficiente por, além de atingir a maior supressão de brusone foliar, também apresentar maior comprimento de plantas, utilizando, ao mesmo tempo, baixa concentração de adubação silicatada e bioagentes promotores de crescimento. Em E2, apesar de serem estatisticamente iguais, a mistura do três bioagentes mostrou-se mais eficiente que o uso apenas de *T. asperellum*, em combinação com a adubação silicatada, observado na curva de progresso da doença e no tipo de lesões desenvolvidas na superfície foliar. As lesões desenvolvidas no

tratamento contendo a combinação do três bioagente com a adubação silicatada caracterizam-se como não-esporulativas, ao contrário do tratamento em que utilizou-se apenas o pool de *T. asperellum*, que apresentou pequenas lesões esporulativas dispersas pela superfície foliar (Figuras 2b e 2c).

No biocontrole de doenças, os bioagentes e o silício atuam em diferentes mecanismos de resistência a patógenos. As PGPR e o *Trichoderma* ativam mecanismos responsáveis pela competição por nutrientes e antibiose de organismos fitopatogênicos, através da produção de substâncias antimicrobianas, como fitoalexinas e proteínas relacionadas a patogênese (PRP's) (Ramamoorthy et al., 2001; Brotman, Gupta, Viterbo, 2010), resultando na indução de resistência sistêmica (ISR) (Van Loon e Pieterse, 2006; Van Loon, 2007).

O silício é estudado como um elemento eficiente para a proteção de plantas contra pragas e doenças em muitas espécies, inclusive no arroz (Prabhu et al., 2001). Até então, os resultados indicam que seu efeito protetor advém da absorção radicular de ácido monossilícico e deposição na forma de sílica amorfa na parede celular (entre a cutícula e a epiderme) em plantas de arroz (Yoshida, 1965). Alguns autores demonstram que o silício, além de fortalecer a parede celular, também ativa o sistema de defesa do hospedeiro (Bélanger et al., 1995; Rodrigues et al., 2004; Cruz et al., 2013). No presente trabalho, os tratamentos *T. asperellum* + Si (plantas tratadas com pool de *T. asperellum* e nutridas com 2 ton SiCaMg.ha⁻¹) e MISTURA + Si (plantas tratadas com os três bioagentes e nutridas com 2 ton SiCaMg.ha⁻¹) apresentaram aumento na atividade de QUI, GLU, POX, FAL e no teor de AS, mesmo na ausência de MO, nas coletas 1 e 3 (Tabelas 3, 4, 7, 5 e 8), corroborando com os resultados de Cruz et al. (2013), que observaram o aumento da atividade de FAL, QUI, GLU e Polifenoloxidase em plantas de soja nutridas com silicato de cálcio, na ausência de *Phakopsora pachyrhizi*.

Após o desafio com *M. oryzae*, observou-se o efeito positivo do silício, quando combinado com os três bioagentes. Às 48 horas após o desafio com *M. oryzae*, observou-se o efeito do silício, quando combinado com os três bioagentes no aumento da atividade de QUI e GLU. Não foi observado o efeito positivo do silício na atividade de FAL, enzima precursora do AS. Porém os tratamentos que receberam silício isoladamente e em combinação com os três bioagentes proporcionaram aumento significativo nos teores de AS, às 24 e 48 horas após a agressão do patógeno. GLU e a QUI são proteínas relacionadas a patogênese pertencente à família PR-2 e PR-3, as quais possuem função hidrolítica, quebrando polímeros estruturais, como β -1,3-glucanos e quitinas, presentes nas paredes dos patógenos (Labanca, 2002). A FAL é a enzima do metabolismo secundário, pertencente a rota dos fenilpropanóides, a qual

catalisa a formação do ácido *trans*-cinâmico, precursor de vários compostos de defesas de plantas, como fitoalexinas e o ácido salicílico (Wen et al., 2005). O AS é um importante sinalizador envolvido na defesa de plantas a patógenos, induzindo a expressão de proteínas relacionadas a indução de resistência adquirida (SAR) (Mauch et al., 2001).

Observou-se o efeito isolado do silício no aumento da atividade de POX e LOX na coleta 1 e 3 após o desafio com MO (Tabelas 7 e 6). A enzima POX é responsável por reforçar a parede celular de plantas hospedeiras através da oxidação de fenóis, suberização e lignificação durante as reações de defesa ao ataque de patógenos (Syros et al., 2004). A LOX atua no impedimento do crescimento de patógenos induzindo a produção de fitoalexinas, aldeídos e ácido jasmônico, participando também da transdução de sinais (Namai et al., 1990).

Na literatura existem alguns relatos sobre a atuação do silício e de bioagentes no sistema bioquímico de defesa de plantas de arroz (Silva et al., 2011; Rodrigues et al., 2005; Datnoff, 2012). Rodrigues et al. (2005) observaram que plantas nutridas com silicato de cálcio, susceptíveis a *M. oryzae*, apresentaram alta expressão das enzimas: GLU; às 36 horas após inoculação; POX, acumulando de 12 a 96 horas após inoculação e; PR-1, acumulando de 60 a 96 horas após a inoculação. Datnoff (2012), no mesmo patossistema, encontrou um aumento na expressão de QUI em plantas nutridas com silício, às 24 horas após inoculação de *M. oryzae*. Filippi et al. (2011), testando o uso de *B. pyrocinia* (regada no solo 15 dias antes do desafio com *M. oryzae*) e *P. fluorescens* (pulverizada 2 dias antes do desafio com *M. oryzae*) em plantas de arroz, encontraram o aumento de QUI, GLU e POX, às 72 horas após inoculação com *M. oryzae*. Em outros patossistemas, alguns autores conseguiram obter resultados similares. Cruz et al. (2013), demonstraram que plântulas de soja nutridas com silicato de cálcio, não desafiadas e desafiadas com *Phakopsora pachyrhizi*, potencializaram a atividade de QUI e FAL em 141 horas após a inoculação, e GLU às 72 horas após inoculação. Chérif et al. (1993), relataram que plantas de pepino, nutridas com silicato de potássio, e desafiadas com *Pythium aphanidermatum*, obtiveram uma alta expressão de GLU aos 6 dias após a inoculação. Oliveira et al. (2010) testaram plantas de algodoeiro, cultivadas em solo contendo silicato de cálcio, desafiadas por *Xanthomonas citri* subsp. *malvacearum*, e mostrou que, mesmo em plantas não acumuladoras, o silício aumentou a atividade de POX, FAL e GLU, 24 horas após a inoculação, reduzindo também a severidade da infecção em 55%. Silva et al. (2011) observaram que isolados de *Trichoderma* spp. aumentaram a atividade de POX em plantas de pepineiro, quando desafiadas com *Colletotrichum lagenarium*, suprimindo a doença em 88%. Saikia et al. (2006), em condições de casa de vegetação, testaram isolados de *Pseudomonas aeruginosa* na indução de resistência a *R. solani* em plantas de arroz e,

contataram que as bactérias aumentaram o teor de AS às 24 horas após a inoculação, suprimindo a doença em 33%. Os resultados apresentados no presente trabalho indicam que as enzimas QUI, GLU, POX, LOX e o hormônio AS, observados no tratamento contendo a combinação dos três bioagentes em plantas adubadas com 2 ton.ha⁻¹ SiCaMg, tiveram participação ativa na supressão de brusone foliar durante os períodos de 24 e 48 horas, após o desafio com *M. oryzae*, reduzindo a severidade, correlacionando-se com as reações observadas na superfície foliar.

5 CONCLUSÕES

- A interação entre bioagentes e silício mostrou-se promissora, proporcionando às plantas de arroz eficiência na resistência a brusone foliar.
- As combinações entre *T. asperellum* e plantas adubadas com 2 ton SiCaMg.ha⁻¹ e, a mistura dos bioagentes em plantas adubadas com 2 ton SiCaMg.ha⁻¹ aumentaram significativamente a expressão das enzimas QUI, GLU, POX, FAL, e o teor de AS na ausência de MO;
- A mistura dos três bioagentes em plantas adubadas com 2 ton SiCaMg.ha⁻¹ proporcionou o aumento expressivo das enzimas QUI, GLU e o teor de AS na presença de MO;
- O melhor tratamento para a redução de brusone foliar foi a combinação entre os três bioagentes e plantas adubadas com 2 ton SiCaMg.ha⁻¹, suprimindo a doença em 96% e 67% em E1 e E2, respectivamente.

Consideramos nossos resultados importantes para o manejo sustentável da brusone, por possibilitar a diminuição da utilização de fertilizantes e agrotóxicos para a produção de arroz utilizando baixa dose de adubação silicatada.

6 REFERÊNCIAS

AGRIOS, G. N. **Plant pathology**, 5. ed., Flórida: Elsevier Academic Press, 2005. 922 p.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Índice Monográfico – Trichoderma**. Classificação Taxonômica, 2011. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/9af5bc804ec4575d920d928a610f4177/T60+%E2%80%93+Trichoderma>>. Acesso em: 10 setembro de 2013.

AXELROD, B; CHEESBROUGH, T.M.; LAAKSO, S. Lipoxygenase from soybean. **Method in Enzymology**, v.71, p. 447-451, 1981.

BARATA, T. S. Caracterização do consumo de arroz no Brasil: um estudo na região metropolitana de Porto Alegre. **Dissertação** (Mestrado em Agronegócios) – CEPAN, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

BEDENDO, I.P. Doenças do arroz. In: KIMATI, H. et al. (Ed.). **Manual de Fitopatologia**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres. p. 85-99, 1997.

BÉLANGER, R. R.; BOWEN, P. A.; EHRET, D. L.; MENZIES, J. G. Soluble silicon – its role in crop and disease management of greenhouse crops. **Plant Disease**, St. Paul, v. 79, n. 4, 1995.

BONALDO, S.M., PASCHOLATI, S.F., ROMEIRO, R.S. Indução de resistência: noções básicas e perspectivas. In: CAVALCANTE, L.S.; DI PIERO, R.M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, p. 11-28. 2005.

BRADFORD, M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal. Biochem.** 72, 248–254.

BROTMAN, Y.; GUPTA, J.K.; VITERBO, A. *Trichoderma*. **Current Biology**, v.20, p.390-391, 2010.

CARVALHO-PUPATTO, J. G.; BULL, L. T. CRUSCIOL, C. A. C.; MAUAD, M.; SILVA, R. H. Efeito de escória de alto forno no crescimento radicular e na produtividade de arroz. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 38, n. 11, p. 1323-1328, nov. 2003.

CHATTERJEE A.; VALASUBRAMANIAN, R.; MA, W-L.; VACHHANI, A.K.; GNANAMANICKAM, S.S.; CHATTERJEE, A.K. Isolation of ant mutants of *Pseudomonas fluorescens* strain Pf7-14 altered in antibiotic production, cloning of ant+ DNA and evaluation of the role of antibiotic production in the control of blast and sheath blight of rice. **Biological Control** 7, 185–195. 1996.

CHÉRIF, M.; ASSELIN, A.; BÉLANGER, R.R. Defense responses induced by soluble silicon in cucumber roots infected by *Pythium* spp. **Phytopathology**, v. 84, n. 3, 1993.

CHET, I.; BENHAMOU, N.; HARAN, S. Mycoparasitism and lytic enzymes. In: Harman, G.E. & Kubicek, C.P. (Eds.) *Trichoderma and Gliocladium*. Vol 2. **Enzymes, biological control, and commercial applications**. Taylor & Francis, London. 153–172. 1998.

CHET, I. Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. **Plant Soil**, 235: p.235-242, 2005.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos 2012/13 – maio**. Análises das culturas - Arroz, p.12, 2013.

CÔRTEZ, M.V.C.B.; VIANA, H.F.; SILVA, F.R.; LOBO, V. L.; SILVA, G.B.; PRABHU, A. S.; FILIPPI, M. C. C. Quantificação da atividade enzimática de proteínas relacionadas a patogênese no patossistema *Oryza sativa/Magnaporthe oryzae*. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento: Embrapa Arroz e Feijão**, Santo Antônio de Goiás, n.34, 2008.

CORREA-VICTORIA, F. J.; DATNOFF, L. E.; OKADA, K.; FRIESEN, D. K.; SANZ, J. I.; SNYDER, G. H. Effects of silicon fertilization on disease development and yields of rice in Colombia. In: DATNOFF, L. E.; SNYDER, G. H.; KORNDÖRFER, G. H. (Ed.). **Silicon in agriculture**. Amsterdam: Elsevier, p. 313-322. 2001.

CRUSCIOL, C.A.C.; MAUAD, M.; ALVAREZ, R.C.F.; LIMA, E.V. & TIRITAN, C.S. Doses de fósforo e crescimento radicular de cultivares de arroz de terras altas, **Bragantia**, 64:643-649, 2005.

CRUZ, M.F.A.; RODRIGUES, F.A.; POLANCO, L.R.; CURVÊLO, C.R.S.; NASCIMENTO, K.J.T.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Inducers of resistance and silicone on the activity of defense enzymes in the soybean-*Phakopsora pachyrhizi* interaction. **Bragantia**, Campinas, v. 72, n. 2, p.162-172, 2013.

DANTAS, S.A.F.; OLIVEIRA, S.M.A.; BEZERRA NETO, E. COELHO, R.S.B.; SILVA, R.L.X. Indutores de resistência na proteção do mamão contra podridões pós-colheita. **Summa Pytopathologica**, v.30: 314-319, 2004.

DARTORA, J.; GUIMARÃES, V.F.; MARINI, D.; SANDER, G. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, n. 10, p.1023-1029, 2013.

DATNOFF, L.E.; Differential gene expression of rice in response to silicon and infection by *Magnaporthe oryzae*. In: RODRIGUES, F. de A.; FORTUNATO, A. A.; RESENDE, R. S. (Ed.). Indução de resistência a patógenos: **VI Reunião Brasileira Sobre Indução de Resistência em Plantas a Patógenos na Universidade Federal de Viçosa**. Viçosa: Suprema Gráfica e Editora Ltda, 2012. P. 227-238.

DATNOFF, L.E.; DEREN, C.W.; SNYDER, G.H. Silicon fertilization for disease management of rice in Florida. **Crop Protection**, London, v. 16, n. 6, p. 525-531, 1997.

DATNOFF, L.E.; RAID, R.N.; SNYDER, G.H.; JONES, D.B. Effect of calcium silicate on blast and brown spot intensities and yields of rice. **Plant Disease**, St. Paul, v. 75, n. 7, p. 729-732, 1991.

DATNOFF, L.E.; SNYDER, G.H.; DEREN, C.W. Influence of silicon fertilizer grades on blast and brown spot development and on rice yields. **Plant Disease**, St. Paul, v. 76, n. 10, p. 1011-1013, 1992.

DARIO, G.J.A.; MANFRON, P.A.; BONNECARRERE, R.A.G.; DOURADO NETO, D.; MARTIN, T.N.; CRESPO, P.E.N. Controle químico de brusone em arroz irrigado. **Revista da FZVA**. Uruguaiana, v.12, n.1, p. 25-33. 2005

DEPEC, Departamento de Pesquisas e Estudos Econômicos. **Arroz e produtos**. 2013. Bradesco. Disponível em: <www.economiaemdia.com.br>. Acesso em: 15 mai 2013.

EMBRAPA – Arroz e Feijão. **Importância Econômica**, 2012. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Arroz/ArrozTerrasAltasMatoGrosso/index.htm>>. Acesso em: 05/09/2012.

EMBRAPA-Embrapa Clima Temperado. **Cultivo do arroz irrigado no Brasil**, 2005. Sistemas de Produção, 3 ISSN 1806-9207.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. **Mineral Nutrition of Plants: Principles and Perspectives**. 2^a ed. Sinauer Associates, Sunderland, Maryland. 2005.

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Statistical databases 2006**. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 13 de maio de 2013.

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Rice market monitor**. Volume XV. Issue 3, 2012. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/016/ap288e/ap288e.pdf>>. Acesso em: 21 de dezembro de 2013.

FAUTEUX, F.; RÉMUS-BOREL; W., MENZIES, J.G.; BÉLANGER, R.R. Silicon and plant disease resistance against pathogenic fungi. **Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 249, n. 1, p. 1-6, 2005.

FAWE, A.; ABOUT-ZAID, M.M.; ENZIES, J.G.; BELÁNGER R.R.; Silicon-mediated accumulation of flavonoid phytoalexins in cucumber. **Phytopathology**, v.88, p.396-401. 1998.

FILIPPI, M.C.C.; SILVA, G.B.; PRABHU, A.S. Indução de resistência à brusone em folhas de arroz por isolados avirulentos de *Magnaporthe oryzae*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 5, p. 387-392, 2007.

FILIPPI, M.C.C.; SILVA, G.B.; CORTES, M.V.B.; SILVA-LOBO, V.L.; PRABHU, A.S. Indução de resistência e promoção de crescimento em arroz por agentes biológicos. In: RODRIGUES, F. de A.; FORTUNATO, A.A.; RESENDE, R.S. (Ed.). Indução de resistência a patógenos: **VI Reunião Brasileira Sobre Indução de Resistência em Plantas a Patógenos na Universidade Federal de Viçosa**. Viçosa: Suprema Gráfica e Editora Ltda, p. 51-78. 2012.

FILIPPI, M.C.C.; SILVA, G.B.; SILVA-LOBO, V.L.; CORTES, M.M.C.B.; MORAES, A.J. G.; PRABHU, A.S. Leaf blast (*Magnaporthe oryzae*) suppression and growth promotion by rhizobacteria on aerobic rice in Brazil. **Biological Control**, v. 58, p. 160-166, 2011.

FONTENELLE, A.D.B.; GUZZO, S.D.; LUCON, C.M.M.; HARAKAVA, R. Growth promotion and induction of resistance in tomato plant against *Xanthomonas euvesicatoria* and *Alternaria solani* by *Trichoderma* spp. **Crop Protection**, v.30, p.1492-1500, 2011.

FRANÇA, S.K.S. *Trichoderma*: estratégias de aplicação no biocontrole de queima das bainhas do arroz em várzea tropical. **Dissertação**, Belém-PA, 2012.

GLICK, B. R.; PATTEN, C. L.; HOLGUIN, G.; PENROSE, D. M. **Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth-promoting bacteria**. London: Imperial College Press, 1995.

GONÇALVES, F.J. Estrutura populacional de isolados de *Magnaporthe oryzae* Couch & Kohn de regiões produtoras de arroz. **Tese de doutorado**, Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO, 2013.

HARMAN, G.E.; JIN, X.; STASZ, T.E.; PERUZZOTTI, A.; LEOPOLD, A.C.; TAYLOR, A.G. Production of conidial biomass of *Trichoderma harzianum* for biological control. **Biological Control**, 1: 23-28, 1991.

HARMAN, G.E.; HOWELL, C.R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species- opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviewer**, 2: p.43-56, 2004.

HIRAGA, S.; SASAKI, K.; ITO, H.; OHASHI, Y.; MATSUI, H. A large family of class III plant peroxidases. **Plant Cell Physiol**. 42:462-468, 2001.

IGARASHI, S.; UTIAMADA, C.M. IGARASHI, L.C., KAZUMA, A.H. & LOPES, R.S. *Magnaporthe* em trigo. Ocorrência de *Magnaporthe* sp. no Estado do Paraná. **Fitopatologia Brasileira**, v. 11, p. 351-352, 1986.

IRRI, International Rice Research Institute. **The rice**. Disponível em: <<http://irri.org/about-rice/rice-facts>>. Acesso em: 15 de outubro de 2013.

KADO, C.I; HESKETT, M.G. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. **Phytopathology**, 60: 24-30. 1970.

KESSEY, J. Biochemica information. Indianapolis IN, USA. **Boehringer Manheim Biochemicals**, 1987.

KHUSH G.S.; JENA K.K. Current status and future prospects for research on blast resistance in rice (*Oryza sativa* L.). In Wang GL and Valent B (eds.) Advances in genetics, genomics and control of rice blast. **Springer Science**, Netherlands, p. 1-10. 2009.

KOKALIS-BURELLE, N.; KLOPPER, J.W.; REDDY, M. S. Plant growth-promoting rhizobacteria as transplant amendments and their effects on indigenous rhizosphere microorganisms. **Applied Soil Ecology**, v.31, p.91–100, 2006.

KORNDÖRFER, G. K.; DATNOFF, L. E.; CORRÊA, G. F. Influence of silicon on grain discoloration and upland rice grown on four savanna soils of Brazil. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 22, n. 1, p. 93-102, 1999.

KORNDÖRFER, G.H.; DATNOFF, L.E. Adubação com silício: uma alternativa no controle de doenças da cana-de-açúcar e do arroz. **Informações Agronômicas**. Piracicaba. 70:1-5.1995.

KORNDÖRFER, G. H.; OLIVEIRA, L. A. Uso de silício em culturas comerciais. In: **simpósio brasileiro sobre silício na agricultura**, 5ª ed., Anais, Viçosa-MG: UFV, DFP, p. 3-25. 2010.

LABANCA, E.R.G. Purificação parcial de elicitores presentes em *Saccharomyces cerevisiae*: atividade como indutores de resistência em pepino (*Cucumis sativus*) contra *Colletotrichum lagenarium* e da síntese de gliceolinas em soja (*Glycine max*). **Dissertação**, Universidade de São Paulo, Piracicaba, Brasil. 2002.

LOPES, V.R. Melhoramento genético de cana-de-açúcar em associação com bactérias promotoras do crescimento vegetal. **Dissertação**. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

LUDWIG, J.; MOURA, A.B.; CORREA, B.O.; TORCHELSEN, G.M. Biocaracterização de isolados biocontroladores de doenças do arroz. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p.285-286, 2006.

LUZ, W. C. Evaluation of plant growth-promoting and bioprotecting rhizobacteria on wheat crop. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p. 597-600, 2001.

LUZ, W.C. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e de bioproteção. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Passo Fundo, v.4, p.1-50, 1996.

MA, J.F.; TAMAI, K.; YAMAJI, N.; MITANI, N.; KONISHI, S.; KATSUHARA, M.; ISHIGURO, M.; MURATA, Y.; YANO, M. A silicon transporter in rice. **Nature**, v.440, p.688-691, 2006.

MARTINS, S.A. Desenvolvimento do feijão-comum tratado com *Bacillus subtilis*. **Dissertação**. Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, 2013.

MAUCH, F.; MAUCH-MANI, B.; GAILLE, C.; KULL, B.; HAAS, D.; REIMMANN, C. Manipulation of salicylate content in *Arabidopsis thaliana* by the expression of an engineered bacterial salicylate synthase. **The Plant Journal**, v.25: 67–77. 2001.

MAUAD, M.; GRASSI FILHO, H.; CRUSCIOL, C. A. C.; CORRÊA, J. C. Teores de silício no solo e na planta de arroz de terras altas com diferentes doses de adubação silicatada e nitrogenada. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, n. 5, p. 867-873, 2003.

MEHER, H. C.; GAJBHITE, V. T.; SINGH, G. A liquid chromatography method for determination of selected amino acids, coenzymes, growth regulators, and vitamins from *Cicer arietinum* (L.) and *Solanum lycopersicum* (L.). **Journal of AOAC International**, v.95, p. 1142-1152, 2012.

MÉTRAUX, J.P. Systemic acquired resistance and salicylic acid: current state of knowledge. **European Journal of Plant Pathology**, v.107: 13–18. 2001.

MOREIRA, A.L.L.; ARAÚJO, F.F. Bioprospecção de isolados de *Bacillus* spp. como potenciais promotores de crescimento de *Eucalyptus urograndis*. **Revista Árvore**, v. 37, n. 5, p.933-943, 2013.

NAMAI, T.; KATO, T.; YAMAGUQUI, Y.; TOGASHI, J. Time-course alteration of lipoxigenase activity in blast-infected rice leaves. **Annals of the phytopathological society of Japan**, v. 56, p.26-32, 1990.

NANDAKAMUR, R.; BABU, S.; VISWANATHAN, R.; RAGUCHANDER, T.; SAMIYAPPAN, R. Induction of systemic resistance in rice against sheath blight disease by *Pseudomonas fluorescens*. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 33, p. 603-612. 2001.

NOTTEGHEM, J.L. Cooperative experiment on horizontal resistance to rice blast. In: **Blast and upland rice: report and recommendation from the meeting for international collaboration in upland rice improvement**. Los Baños, IRRI, p.43-51. 1981.

NUNES, C. D.M.; CARVALHO, F. I. F.; PIEROBOM, C. R. & OLIVEIRA, A. Genética da Resistência de Cultivares de Arroz à Raça IA-1 de *Magnaporthe grisea*. **Fitopatol. Bras.**, v. 32. 2007.

ODJAKOVA, M.E.; HADJÜVANOVA, C. The complexity of pathogens defense in plants. **Bulg. Journal of Plant Physiology**. v. 27, n.1-2:p. 101-109, 2001.

OLIVEIRA, J.C. Caracterização de isolados de *Xanthomonas citri* subsp. *malvacearum* e redução da mancha-angular do algodoeiro mediada pelo silício. **Dissertação**, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Brasil, 2010.

OSUMA-CANIZALES, F. J.; DEDATTA, S. K.; BONMAN, J. M. Nitrogen form and silicon nutrition effects on resistance to blast disease of rice. **Plant and Soil, The Hague**, v. 135, p. 223-231, 1991.

OU, S. H. Fungus diseases – Foliage Diseases. In: **Rice diseases**. England. 1 ed., p. 97-184, 1972.

OU, S.H. Blast. in: OU, S.H. **Rice diseases**. CAB International, Wallingford, UK. v. 2, p.109-201, 1985.

PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B. Hospedeiros: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3.ed. São Paulo: Ceres, v.1, p.417-453. 1995.

PEREIRA, S.C.; RODRIGUES, F.A.; CARRÉ-MISSIO, V.; OLIVEIRA, M.G.A.; ZAMBOLIM, L. Efeito da aplicação foliar de silício na resistência à ferrugem e na potencialização da atividade de enzimas de defesa em cafeeiro. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, 4, p.223-230, 2009.

PERAZZOLLI, M.; DAGOSTIN, S.; FERRARI, A.; ELAD, Y.; PERTOT, I. Induction of systemic resistance against *Plasmopara viticola* in grapevine by *Trichoderma harzianum* T39 and benzothiadizole. **Biological Control**, v.47, p.228-234, 2008.

POTAFOS. **Doenças do arroz: Sintomatologia e controle**. Arquivo do agrônomo N° 10, 2005.

PRABHU, A. S.; BARBOSA FILHO, M. P.; FILIPPI, M. C.; DATNOFF, L. E.; SNYDER, G. H. Silicon from disease control perspective in Brazil. In: DATNOFF, L. E.; SNYDER, G. H.; KORNDÖRFER, G. H. Silicon in agriculture. Amsterdam. **Elsevier**, p. 293-311. 2001.

PRABHU, A. S.; ARAÚJO, L. G.; FAUSTINA, C.; BERNI, R. F. Estimativa de danos causados pela brusone na produtividade de arroz de terras altas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, p. 1045-1051, 2003.

PRABHU, A.S.; FILIPPI, M.C.C. **Brusone em arroz: controle genético, progresso e perspectivas**. Santo Antonio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 388 p. 2006.

RAMPAZZO, P.E. Interação entre rizobactérias e cana-de-açúcar sob diferentes condições de umidade do substrato: crescimento, fotossíntese e relações hídricas. **Dissertação**. Instituto Agronômico, Campinas-SP, 2013.

RODRIGUEZ, H.A. KELLEY, W.D. CURL, E.A. Alternativas para controlar el añublo de la vaina causado por *Rhizoctonia solani* em arroz. **Fitopatologia Venezolana**, v. 12, n. 1, p.18-21, 1999.

RODRIGUES, F.A.; McNALLY, D.J.; DATNOFF, L.E.; JONES, J.B.; LABBÉ, C.; BENHAMOU, N.; MENZIES, J.G.; BÉLANGER, R.R. Silicon enhances the accumulation of diterpenoid phytoalexins in rice: a potential mechanism for blast resistance. **Phytopathology**, v.94, p.177-183, 2004.

RODRIGUES, F.A.; JURICK, W.M.; DATNOFF, L.E.; JONES, J.B.; ROLLINS, J.A. Silicon influences cytological and molecular events in compatible and incompatible rice-Magnaporthe grisea interactions. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.66, p.144-159, 2005.

RODRIGUES, F. A.; DATNOFF, L. E. Silicon and rice disease management. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, p. 457-470, 2005.

RAMAMOORTHY, V.; VISWANATHAN, R.; RAGUCHANDER, T.; PRACKASAM, V.; SAMIYAPPAN, R. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. **Crop Protection**, v. 20, n. 1, p. 1-20, 2001.

SAIKIA, R.; KUMAR, R.; ARORA, D.K.; GOGOI, D.K.; AZAD, P. *Pseudomonas aeruginosa* inducing rice resistance against *Rhizoctonia solani*: production of salicylic acid and peroxidases. **Folia Microbiol.**, v. 51, p.375-380, 2006.

SAMUELS, G.J. *Trichoderma*: A review of biology and systematics of the genus. **Mycol. Res.**, 100: 923-935. 1996.

SANTOS, G.R.; KORNDORFER, G.H.; PELÚZIO, J.M; DIDONET, J.; REIS FILHO, J.C.D.; CÉSAR, N.S. Influência de fontes de silício sobre a incidência e severidade de doenças e produtividade do arroz irrigado. **Biosci. J.** Uberlândia, v.19, n.2, p. 65-72, 2003.

SANTOS, L.V.; PRABHU, A.S.; FERREIRA, E.; FAGERIA, N.K. Fertilização silicatada na severidade de brusone e na incidência de insetos-praga em arroz irrigado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 13, n. 5, p.537-543, 2009.

SILVA, J.B.T.; MELLO, S.C.M. **Utilização de Trichoderma no controle de fungos fitopatogênicos**. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. 2007.

SILVA, J.C. Seleção de isolados de *Trichoderma* spp. no controle biológico da queima-da-bainha (*Rhizoctonia solani* Kuhn) em arroz (*Oryza sativa* L.). **Dissertação**. Belém-PA, 2010.

SILVA, V.N.; GUZZO, S.D.; LUCON, C.M.M.; HARAKAVA, R. Promoção de crescimento e indução de resistência à antracnose por *Trichoderma* spp. em pepineiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 12. P.1609-1618, 2011.

SOUZA, R; LOPES, I.J. Efeito do Soil-borne wheat mosaic vírus sobre o metabolismo de cinco genótipos de trigo com diferentes níveis de resistência à doença. **Fitopatologia Brasileira**, v.30, n. 4, p. 400-403, 2005.

SOUZA JÚNIOR, I.T.; MOURA, A.B.; SCHAFFER, J.T.; CORRÊA, B.O.; GOMES, C.B. Biocontrole da queima-das-bainhas e do nematoide-das-galhas e promoção de crescimento de plantas de arroz por rizobactérias. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n. 11, p.1259-1267, 2010.

STADNIK, M. Indução de resistência a oídios. **Summa Pytopathologica**, Botucatu, v.26, p.175-177, 2000.

SHORESH, M.; YEDIDIA, I.; CHET, I. Involvement of Jasmonic Acid/Ethylene Signaling Pathway in the Systemic Resistance Induced in Cucumber by *Trichoderma asperellum* T203. **Biological Control**, v.95, n. 1, 2005.

SILVA, J. C.; TORRES, D. B.; LUSTOSA, D. C.; FILIPPI, M. C. C.; SILVA, G. B. Rice sheath blight biocontrol and growth promotion by *Trichoderma* isolates from the Amazon. **Revista de Ciências Agrárias Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v. 55, n. 4, p. 243-250, 2012.

SUN, S. Y.; JIN, M. Z.; ZHANG, Z. M.; TAO, X. L.; TAO, R. X.; FANG, D. F. Rice blast disease and its control. **Shangai Scientific and Technology**, Shangai, 182 p. 1999.

SUZUKI, N. **Nature of resistance to blast**. In: GOTO, K. The rice blast disease. Baltimore: Johns Hopkins Press, p. 277-302. 1965.

SYROS, T.; YUPSANIS, T.; ZAFIRIADIS, H.; ECONOMOU, A. Activity and isoforms of peroxidases, lignin and anatomy, during adventitious rooting in cuttings of *Ebenus cretica* L. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 161, n. 1, p. 69-77. 2004.

TAKAHASHI E.; MA, J.F.; MIYAK, Y. The possibility of silicon as an essential element for higher plants. **Agriculture and Food Chemistry**, 2:357–360, 1990.

TOLEDO, M.V. Fungitoxicidade contra *Alternaria solani*, controle da pinta preta e efeito sobre o crescimento do tomateiro (*Lycopersicum esculentum* Mill) por medicamentos homeopáticos. **Dissertação**. (Universidade Estadual do Oeste do Paraná). 2009.

VAN LOON, L.C.; BAKKER, P.A.H.M.; PIETERSE, C.M.J. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. **Annual review of Phytopathology**, v. 36, p. 453-483, 1998.

VAN LOON, L.C., PIETERSE, C.M.J. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. **Annu. Rev. Phytopathol.** 44, 35–62. 2006

VAN LOON, L.C. Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. **Eur. J. Plant Pathol.** 119, 243–254. 2007.

VAUGHAN D.A, KADOWAKI K, KAGA A, TOMOOKA N. On the phylogeny and biogeography of the genus *Oryza*. **Breeding Science**. 55:113-122, 2005.

VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E.L.; MARRA, R.; WOO, S.L.; LORITO, M. *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. **Soil Biology and Biochemistry**, v.40, p.1-10, 2008.

VITERBO, A.; HAREL, M.; HORWITZ, B.A.; CHET, I.; MUKHERJEE, P.K. *Trichoderma* mitogen-activated protein kinase signaling is involved in induction of plant systemic resistance. **Applied and Environmental Microbiology**, v.71, p.6241-6246, 2005.

WINSLOW, M. D. Silicon disease resistance and yield of rice genotypes under upland cultural conditions. **Crop Science**, Madison, v. 32, p. 1208-1213, 1992.

WEN, P-F.; CHEN, J-Y.; KONG, W. F.; PAN, Q-H.; WAN, S-B.; HUANG, W-D. Salicylic acid induced the expression of phenylalanine ammonia-lyase gene in grape berry. **Plant Science**, Limerick, v. 169, n. 5, p. 928-934, 2005.

YOSHIDA, S. Chemical aspects of the role of silicone in physiology of the rice plant. **Bulletin of the National Institute of Agricultural Science**, v. 15, p. 1-58, 1965.