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

RIZOBACTÉRIAS MULTIFUNCIONAIS NA MITIGAÇÃO DO DÉFICIT HÍDRICO E DA BRUSONE FOLIAR EM ARROZ DE TERRAS ALTAS

SILLAS MARTINS MENDONÇA

Orientadora:

Profa. Dra. Marta Cristina Corsi de Filippi

Fevereiro – 2021

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE AGRONOMIA

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES

E DISSERTAÇÕES 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), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei 9.610/98, 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.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do material bibliográfico

[x] Dissertação [ ] Tese

2. Nome completo do autor

Sillas Martins Mendonça

3. Título do trabalho

Rizobactérias multifuncionais na mitigação do déficit hídrico e da brusone foliar em arroz de terras altas

4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento [x] SIM [ ] NÃO[1]

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:
a) consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a);
b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação.
O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.
Casos de embargo:
- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.

Documento assinado eletronicamente por **Marta Cristina Corsi de Filippi**, **Usuário Externo**, em 01/03/2021, às 12:49, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.

Documento assinado eletronicamente por **SILLAS MARTINS MENDONÇA**, **Discente**, em 05/03/2021, às 09:20, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.

A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1864077** e o código CRC **C805AAF4**.

SILLAS MARTINS MENDONÇA

RIZOBACTÉRIAS MULTIFUNCIONAIS NA MITIGAÇÃO DO DÉFICIT HÍDRICO E DA BRUSONE FOLIAR EM ARROZ DE TERRAS ALTAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Federal de Goiás, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Área de concentração: Fitossanidade

Orientadora:

Profa. Dra. Marta Cristina Corsi de Filippi

Coorientador:

Dra. Anna Cristina Lanna

Goiânia, GO – Brasil
2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do
Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Mendonça, Sillas Martins
Rizobactérias multifuncionais na mitigação do déficit hídrico e da brusone foliar em arroz de terras altas [manuscrito] / Sillas Martins Mendonça. - 2021.
LXXXIX, 89 f.: il.

Orientador: Profa. Dra. Marta Cristina Corsi de Filippi; co orientadora Dra. Anna Cristina Lanna.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Escola de Agronomia (EA), Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Goiânia, 2021.

1. Rizobactérias. 2. Estresse hídrico. 3. Arroz de terras alta. I. Filippi, Marta Cristina Corsi de, orient. II. Título.

CDU 631/635

UFG

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

ESCOLA DE AGRONOMIA

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Ata Nº 30/2021 da sessão de Defesa de Dissertação de **Sillas Martins Mendonça** que confere o título de Mestre em Agronomia, na área de concentração em Fitossanidade.

Aos 26/02/2021, vinte e seis dias do mês de fevereiro do ano de dois mil e vinte e um, a partir das 13:30, treze horas e trinta minutos, por videoconferência, realizou-se a sessão pública de Defesa de Dissertação intitulada "Micorganismos multifuncionais na mitigação do déficit hídrico e da brusone foliar em arroz de terras altas". Os trabalhos foram instalados pela Orientadora e Presidente da Banca Examinadora, **Dra. Marta Cristina Corsi de Filippi (Embrapa Arroz e Feijão)** com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: **Profa. Moemy Gomes de Moraes (ICB/UFG)**, membro titular interno; **Profa. Gisele Barata da Silva (UFRA)**, membro titular externo. Durante a arguição, os membros da banca fizeram sugestão de alteração do título do trabalho, conforme explicitado abaixo. Após a arguição, a Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Dissertação tendo sido o candidato **APROVADO** pelos seus membros. Proclamados os resultados pelo Presidente da Banca Examinadora, **Dra. Marta Cristina Corsi de Filippi**, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora, aos 26/02/2021, vinte e seis dias do mês de fevereiro do ano de dois mil e vinte e um.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA

"Rizobactérias multifuncionais na mitigação do déficit hídrico e da brusone foliar em arroz de terras altas"

---

sei! assinatura eletrônica

Documento assinado eletronicamente por **Marta Cristina Corsi de Filippi**, **Usuário Externo**, em 26/02/2021, às 20:07, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.

---

sei! assinatura eletrônica

Documento assinado eletronicamente por **Gisele Barata da Silva**, **Usuário Externo**, em 28/02/2021, às 15:53, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.

---

sei! assinatura eletrônica

Documento assinado eletronicamente por **Moemy Gomes De Moraes**, **Professora do Magistério Superior**, em 01/03/2021, às 12:12, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.

A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1863967** e o código CRC **5F7C6FE0**.

Referência: Processo nº 23070.007369/2021-58 SEI nº 1863967

A todos que participaram de forma direta ou indireta desta nova etapa da minha vida,

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me dar forças, saúde, e a oportunidade de poder buscar mais conhecimento;

À minha esposa Quétsia Guedes dos Santos Silva, por estar sempre ao meu lado, dando forças e apoiando minhas decisões, sendo meu pilar psicológico;

Aos meus pais Valdete Martins Barbosa Mendonça e Antônio Santana Mendonça da Paixão, que me mostraram que para ter sucesso na vida deve-se ter ética, dedicação e esforço. Que mesmo sem condições sempre me fizeram acreditar que eu poderia chegar onde quisesse;

As minhas irmãs Sara Raquel Mendonça e Sanny Priscilla Mendonça que sempre estão comigo em tudo que passei na vida, que estão dispostas a me estender a mão sempre que precisar;

Aos parentes que me apoiaram em especial, Valdirene, Vibrail, Varsonil, Daniel, Debora, pois sei que sempre estão torcendo para o meu bem, saibam que é recíprocro;

À minha orientadora Dr. Marta Cristina Corsi de Filippi pela confiança, ensinamentos, dedicação e companheirismo. A senhora contribuiu grandemente para minha formação profissional;

À minha coorientadora Dr. Anna Cristina Lanna, pessoa com uma predisposição incrível e vontade de ajudar sempre que necessário;

Aos meus amigos e colegas, que adquiri ao longo do mestrando, em especial, Elder, Denner, João Pedro, Marilia, Mariana, Mylla e Matysulene, que são pessoas especiais que conheci nestes últimos dois anos, que com certeza levarei para o resto da vida;

À equipe do Laboratório de Microbiologia Agrícola da Embrapa Arroz e Feijão, sempre dispostos a lhe ajudar, onde consegui adquirir uma grande quantidade de conhecimento prático e teórico;

À Capes pela concessão da bolsa de estudo;

À toda a equipe de discentes, docentes e Funcionários da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás, pelo apoio que me foi dado.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas graças a Deus, não sou o que era antes”.

(Martin Luther King)

SÚMARIO

LISTA DE TABELAS 13
LISTA DE FIGURAS 14
RESUMO 16
ABSTRAT 18
1 INTRODUÇÃO 20
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 23
2.1 A CULTURA DO ARROZ (*Oryza sativa* L.) 23
2.1.1 Importância econômica e nutricional 23
2.1.2 Aspectos botânicos e morfológicos 24
2.2 BRUSONE NO ARROZ 24
2.3 RIZOBACTÉRIAS COM MÚLTIPLAS BIOATIVIDADES 25
2.3.1 Características bioquímicas 27
2.3.1.1 Produção de ácido indolacético (AIA) 27
2.3.1.2 Solubilização de Fosfato 27
2.3.1.3 Síntese de sideróforos 28
2.3.1.4 Enzima ACC deaminase 28
2.3.1.5 Formação de biofilme 29
2.4 RESPOSTA DA PLANTA AO DÉFICIT HÍDRICO 29
2.5 INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA 31
3 OBJETIVO GERAL 33
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 33
4 HIPÓTESE 34
5 MATERIAL E MÉTODOS 35
5.1 CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DOS ISOLADOS 35
5.1.1 Solubilização de Fosfato 35
5.1.2 Atividades de enzimas hidrolíticas 36
5.1.2.1 Atividade Amilolítica 36
5.1.2.2 Atividade de Celulolítica 36
5.1.2.3 Atividade de Lipolítica 36

5.1.2.4 Atividade Proteolítica 36
5.1.2.5 Atividade de Quitinase 37
5.1.3 Produção de Sideróforo 37
5.1.4. Produção de Biofilme 38
5.1.5 Ensaio Produção de AIA 38
5.1.6 Produção de enzima ACC desaminase 39
5.2 SELEÇÃO DE ISOLADOS DE RIZOBACTÉRIAS RESISTENTES A PRESSÃO OSMÓTICA SIMULADO PELO POLIETILENOGLICOL (PEG 6000) 39
5.3 DETERMINAÇÃO DE CÉLULAS VIÁVEIS 40
5.4 DESENVOLVIMENTO INICIAL DE PLÂNTULAS DE ARROZ *IN* VITRO SOB CONDIÇÕES DE DÉFICIT HÍDRICO INDUZIDO POR POLIETILENOGLICOL 6000..... 40
5.5 ANTAGONISMOS BACTERIANO DESAFIADO COM *MAGNAPORTHE ORYZAE* 41
5.6 SUPRESSÃO DE BRUSONE FOLIAR EM ARROZ POR RIZOBACTÉRIA EM CONDIÇÕES DE DÉFICIT HÍDRICO 41
5.6.1 Inoculação com M. oryzae 43
5.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA 43
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO 45
6.1 SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO 45
6.2 ATIVIDADES DE ENZIMAS HIDROLÍTICAS 46
6.3 PRODUÇÃO DE SIDERÓFOROS 48
6.4 PRODUÇÃO DE BIOFILME 49
6.5 PRODUÇÃO DE AIA 50
6.6 PRODUÇÃO ENZIMA ACC DEAMINASE 52
6.7 SELEÇÃO DE ISOLADOS DE RIZOBACTÉRIAS RESISTENTES A PRESSÃO OSMÓTICA SIMULADO PELO POLIETILENOGLICOL (PEG 6000) 53
6.8 DETERMINAÇÃO DE CÉLULAS VIÁVEIS 60
6.9 GERMINAÇÃO *IN* VITRO DE PLANTAS EM CONDIÇÕES DE DÉFICIT HÍDRICO INDUZIDO POR POLIETILENOGLICOL 6000 62
6.10 ANTAGONISMOS BACTERIANO DESAFIADO COM MAGNAPORTHE ORYZAE 65

6.11 SUPRESSÃO DE BRUSONE FOLIAR EM ARROZ POR RIZOBACTÉRIA EM CONDIÇÕES DE DÉFICIT HÍDRICO 66
7 CONCLUSÕES 70
9 REFERÊNCIAS 71

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 Atividade de solubilização de fosfato por rizobactérias em meio NBRIP suplementado com fontes externas de fosforo 45

TABELA 2 Índice de solubilização das enzimas extracelulares quitinase, celulase, lipase, amilase e protease de 9 isolados de rizobactérias 47

TABELA 3 Produção de biofilme por rizobactérias promotoras de crescimento vegetal, utilizando o método CAS..... 50

TABELA 4 Taxa de crescimento bacteriano em meio suplementado com diferentes concentrações de PEG-6000, durante 48 hrs de monitoramento. 58

TABELA 5 Comprimento superfície total de raiz (CTR), comprimento de raiz muito fina (CRMF), comprimento de raiz fina (CRF), comprimento de raiz grossa (CRG), área de superfície total de raiz (AST), área de superfície de raiz muito fina (ASRMF), área de superfície de raiz fina (ASRF) e área de superfície de raiz grossa (ASRG) de plantas de arroz submetidas a déficit hídrico induzido por diferentes doses de polietilenoglicol 6000..... 64

TABELA 6 Antagonismo das bactérias selecionadas, quanto a supressão de Magnaporthe oryzae em concentrações distintas de PEG 6000..... 65

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 Solubilização de fosfato identificada pela formação de halo pelas rizobactérias (A)*Serratia* sp., (B) *Burkholderia pyrrocinia,* (C) (*Serratia marcescens*) 46

FIGURA 2 Produção de sideróforos por rizobactérias em porcentagem de unidades de sideróforos (SU%), obtido por SU% = [(Absorbância do controle - Absorbância da amostra) / Absorbância do controle] x 100. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05). BRM 32112(*Pseudomonas* sp); BRM 32111 (*Pseudomonas fluorescens*)*;* BRM 63521 (*Serratia marcescens*); BRM 63523 (*Serratia marcescens*); BRM 32110 (*Bacillus thuringiensis*) BRM 63522 (*Serratia* sp.); BRM 32114 (*Serratia* sp.); BRM 32113 (*Burkholderia pyrrocinia*)*; BRM 32109 (Bacillus cereus*) 48

FIGURA 3 Produção qualitativa de biofilme pelas rizobactérias, indicada pela mudança de coloração de vermelho para preto do meio de cultura utilizado 49

FIGURA 4 Curva padrão do Fitohormônio Acido Indolacético (AIA), utilizando diferentes concentrações conhecidas..... 50

FIGURA 5 Produção de (AIA) por rizobactérias. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05). BRM 32111 (*Pseudomonas fluorescens*); BRM 32114 (*Serratia* sp.); BRM 32113 (*Burkholderia pyrrocinia*)*;* BRM 32110 (*Bacillus thuringiensis*); BRM 32109 (*Bacillus cereus*); BRM 32112(*Pseudomonas* sp); BRM 63521 (*Serratia marcescens*); BRM 63523 (*Serratia marcescens*); BRM 63522 (*Serratia* sp.) 51

FIGURA 6 Produção da enzima ACC deaminase por isolados de rizobactérias. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05) BRM 32111 (*Pseudomonas fluorescens*); BRM 63522 (*Serratia* sp.); BRM 63521 (*Serratia marcescens*); BRM 32113 (*Burkholderia pyrrocinia*)*;* BRM 63523 (*Serratia marcescens*); BRM 32114 (*Serratia* sp.); BRM 32110 (*Bacillus thuringiensis*); BRM 32109 (*Bacillus cereus*); BRM 32112 (*Pseudomonas* sp.) 52

FIGURA 7 Densidade optica do isolado BRM 32110 (*Bacillus cereus*), em distintas concentrações de polietilenoglicol 6000. Utilizando como controle o meio mínimo M9 sem a adição de PEG. Os tratamentos são as concentrações de PEG sendo 0 g L-1(M9), 79,8 g L-1 (T1), 121,1 g L-1(T2), 180,2 g L-1 (T3); 264,2 g L-1(T4); 298,1 g L-1 (T5) e 328,9 g L-1 (T6) 54

FIGURA 8 Densidade optica dos isolados BRM 32109 (Bacillus cereus), BRM 32111 (*Pseudomonas fluorescens*), BRM 32112 (*Pseudomonas* sp.) e BRM 32113 (*Burkholderia pyrrocinia*), em distintas concentrações de polietilenoglicol 6000. Utilizando como controle o meio mínimo M9 sem

a adição de PEG 6000. Os tratamentos são as concentrações de PEG sendo 0 g L^{-1}(M9), 79,8 g L^{-1} (T1), 121,1 g L^{-1}(T2), 180,2 g L^{-1} (T3); 264,2 g L^{1}(T4); 298,1 g L^{-1} (T5) e 328,9 g L^{-1} (T6) 55

FIGURA 9 Densidade optica dos isolados BRM 32114 (*Serratia* sp.), BRM 63521 (*Serratia marcescens*), BRM 63522 (*Serratia* sp.) e BRM 63523 (*Serratia marcescens*), em distintas concentrações de polietilenoglicol 6000. Utilizando como controle o meio mínimo M9 sem a adição de PEG 6000. Os tratamentos são as concentrações de PEG sendo 0 g L^{-1}(M9), 79,8 g L^{-1} (T1), 121,1 g L^{-1} (T2), 180,2 g L^{-1} (T3); 264,2 g L^{-1}(T4); 298,1 g L^{-1} (T5) e 328,9 g L^{-1} (T6) 56

FIGURA 10 Densidade optica dos isolados BRM 32110 (Bacillus thuringiensis), BRM 32111 (Pseudomonas fluorescens) e BRM 63523 (Serratia marcescens) cultivados em meio mínimo M9 com diferentes concentrações de PEG-6000, submetidos a analises de regressão 59

FIGURA 11 Densidade optica dos isolados BRM 32109 (*Bacillus cereus*), BRM 32112 (*Pseudomonas* sp.) e BRM 32114 (*Serratia* sp.) cultivados em meio mínimo M9 com diferentes concentrações de PEG-6000, submetidos a analises de regressão 59

FIGURA 12 Curva de crescimento exponencial dos isolados BRM 32113 (Burkholderia pyrrocinia), BRM 63521 (*Serratia marcescens*) e CHI F3 (*Serratia* sp.), cultivados em meio mínimo M9 com diferentes concentrações de PEG-6000 60

FIGURA 13 Contagem de células viáveis, (A) BRM 32111 (*Pseudomonas fluorescens*), (B) BRM 63523 (*Serratia marcescens*), (C) BRM 32110 (*Bacillus thuringiensis*) em distintas concentrações de polietilenoglicol 6000. Os tratamentos são as concentrações de PEG sendo 0 g L^{-1} (M9), 79,8 g L^{-1} (T1), 121,1 g L^{-1}(T2), 180,2 g L^{-1} (T3); 264,2 g L^{-1} (T4); 298,1 g L^{-1} (T5) e 328,9 g L^{-1} (T6) 61

FIGURA 14 Trocas gasosas foliares no quarto dia de déficit hídrico em plantas de arroz de terras altas. (A) taxa fotossintética (a), (E) taxa de transpiração (b), (gs) condutância estomática (c), (Ci) concentração interna de carbono (d), (A/E) eficiência do uso da água (e), (A/Ci) eficiência de carboxililação da rubisco (f). (1) controle e (2) BRM 32111. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$) 66

FIGURA 15 Plantas de arroz de terras altas submentidas a 4 dias de déficit hídrico inoculadas com o isolado *Pseudomonas fluorescens* (BRM 32111) 68

FIGURA 16 Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) de brusone foliar em plantas de arroz de terras altas. Tratamento (1) controle, (2) BRM 32111. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$) 69

RESUMO

MENDONÇA, S. M. **Rizobactérias multifuncionais na mitigação do déficit hídrico e da brusone foliar em arroz de terras altas.** 2021. 89 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Fitossanidade) - Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2021.[1]

O arroz é alimento básico para mais da metade da população mundial sendo a principal fonte de carboidrato. Seu cultivo é constantemente desafiado por estresses bióticos e abióticos, onde dentre estes se destacam o déficit hídrico e a brusone (*Magnaporthe oryzae*). A utilização de Rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCP), se mostra uma alternativa mais sustentável visando um controle ecolocologicamente saudável. O objetivo da pesquisa foi realizar a caracterização de 9 isolados de rizobactérias, selecioná-las quanto sua resistência a altos potenciais osmóticos, testar seus efeitos na germinação e desenvolvimento inicial das raízes de plântulas de arroz *in vitro* e avalia-las quanto mitigação de brusone foliar e déficit hídrico. Foram divididos em cinco ensaios. 1. Os nove isolados de rizobactérias divididos em *Burkholderia pyrrocinia* (BRM 32113) dois isolados de *Serratia* sp. (BRM 32114 e BRM 63522) e dois de *Serratia marcescens* (BRM 63521 e BRM 63523); *Bacillus thuringiensis* (BRM 32110), *Bacillus cereus* (BRM 32109), *Pseudomonas fluorescens* (BRM 32111) e *Pseudomonas* sp. (BRM 32112) foram caracterizados quanto a produção de enzimas extracelulares, sideróforos, biofilme, enzima ACC deaminase, ácido indolacético (AIA) e fosfatase, em delineamento inteiramente casualizado, e três repetições. 2. Os isolados de rizobactérias foram crescidos em meio de cultura líquido suplementado com sete diferentes concentrações de PEG-6000 em delineamento inteiramente casualizado, e doze repetições. Determinou-se a taxa de crescimento e quantificou-se as células viáveis. 3. Três isolados foram selecionados e utilizados no tratamento das sementes da cultivar BRS Esmeralda de arroz de terras altas. As sementes foram semeadas em meio de cultura sólido contendo as sete concentrações de PEG-6000 em delineamento inteiramente casualizado, com seis repetições. Avaliou-se o desenvolvimento inicial de raízes das plântulas com o auxílio de um scanner e o programa WinRhizo Pro 2012b. 4. Os mesmos três isolados selecionados anteriormente foram testados quanto a capacidade antagônica a *M. oryzae*, em placas de Petri contendo meio de cultura enriquecido com as sete diferentes concentrações de PEG-6000 em delineamento inteiramente casualizado, em três repetições. Determinou-se o efeito das bactérias através do diâmetro da colônia de cada tratamento. 5. Em condições de casa de vegetação, sementes da cultivar BRS Esmeralda, tratadas com o isolado BRM 32111, foram semeadas em bandejas plásticas contendo 3 kg de solo com adubação necessária. Aos 15 dias após o plantio, as folhas foram pulverizadas com o mesmo isolado e aos 21 dias foram submetidos a quatro dias de déficit hídrico. Avaliou-se as trocas gasosas ao final deste período. Aos 26 dias, as plantas foram inoculadas com uma suspensão de conídios de *M. oryzae* e foi possível avaliar a Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD). Os isolados BRM 32110, BRM 32111 e BRM 63523 demonstraram maior resistência a altas pressões osmóticas e apresentaram produção de enzimas extracelulares, sideróforos, biofilme, AIA, enzima ACC deaminase e solubilização de fosfato. As três rizobactérias testadas continuaram a demonstrar efeitos antagônicos a *M. oryzae*. Para desenvolvimento inicial de plântulas *in vitro* os três isolados mostraram-se promissores a altas pressões osmóticas. A utilização das rizobactérias estimularam o aumento no comprimento e área de raiz, e ainda estimularam o maior desenvolvimento de raízes laterais mitigando os efeitos do déficit hídrico expandindo ainda

mais a área de contato. Para comprimento e área superficial total de raiz (CTR e AST) ouve aumento de, 107 e 157% (BRM 32111), 58 e 55% (BRM 32110) e 68 e 70% para (BRM 63523). Em comprimento e área de raízes muito finas (CRMF e ASRMF) demonstraram maior incremento quando condicionadas ao estresse por PEG sendo no T3 o maior aumento em relação ao controle, 150 e 302% (BRM 32111), 65 e 112% (BRM 32110) e 99 e 116% (BRM 63523). Em casa de vegetação a utilização da BRM 32111 demonstrou aumento em relação a fotossíntese (A), transpiração (E), condutância estomática (gs) e concentração interna de (Ci) carbono para ambas condições hídricas (irrigado e estressado), para eficiência no uso da água (A/E) e taxa de carboxilação da rubisco (A/Ci) a bactéria demonstrou maior efeito em arroz não estressado. O mesmo isolado ainda suprimiu a severidade da brusone foliar. Os 9 isolados utilizados demonstraram potencial na mitigação do déficit hídrico e supressão de brusone foliar, destacando a BRM 32111 como alternativa no controle biológico visando uma agricultura mais sustentável.

Palavras-chave: Rizobactérias, Estresse hídrico, Arroz de terras alta

---

[1]Orientadora: Profa. Dra. Marta Cristina Corsi de Filippi
Coorientadora: Profa. Dra. Anna Cristina Lanna

ABSTRACT

MENDONÇA, S. M. **Multifunctional rhizobacteria to mitigate water deficit and leaf blast in upland rice.** 2021. 89 f. Dissertation (Master in Agronomy: Plant Health) - School of Agronomy, Federal University of Goiás, Goiânia, 2021.1

Rice is a staple food for more than half of the world population and is the main source of carbohydrate. Its cultivation is constantly challenged by biotic and abiotic stresses, among which the water deficit and the blast (*Magnaporthe oryzae*) stand out. The use of plant growth promoting rhizobacteria (RPCP), proves to be a more sustainable alternative aiming at an ecologically healthy control. The objective of the research was to characterize 9 rhizobacteria isolates, select them for their resistance to high osmotic potentials, test their effects on germination and initial development of rice seedling roots *in vitro* and evaluate them for mitigation of leaf blast and water deficit. They were divided into five trials. 1. The nine rhizobacteria isolates divided into *Burkholderia pyrrocinia* (BRM 32113) two isolates from *Serratia* sp. (BRM 32114 and BRM 63522) and two from *Serratia marcescens* (BRM 63521 and BRM 63523); *Bacillus thuringiensis* (BRM 32110), *Bacillus cereus* (BRM 32109), *Pseudomonas fluorescens* (BRM 32111) and *Pseudomonas* sp. (BRM 32112) were characterized for the production of extracellular enzymes, siderophores, biofilm, ACC deaminase enzyme, indolacetic acid (AIA) and phosphatase, in a completely randomized design, and three replications. 2. The rhizobacteria isolates were grown in liquid culture medium supplemented with seven different concentrations of PEG-6000 in a completely randomized design, and twelve replications. The growth rate was determined and viable cells were quantified. 3. Three isolates were selected and used to treat the seeds of the cultivar BRS Esmeralda of upland rice. The seeds were sown in a solid culture medium containing the seven concentrations of PEG-6000 in a completely randomized design, with six replications. Initial seedling root development was evaluated with the aid of a scanner and the WinRhizo Pro 2012b program. 4. The same three isolates previously selected were tested for antagonistic ability to *M. oryzae*, in Petri dishes containing culture medium enriched with seven different concentrations of PEG-6000 in a completely randomized design, in three replications. The effect of the bacteria was determined through the colony diameter of each treatment. 5. In greenhouse conditions, seeds of the cultivar BRS Esmeralda, treated with the isolate BRM 32111, were sown in plastic trays containing 3 kg of soil with necessary fertilization. At 15 days after planting, the leaves were sprayed with the same isolate and at 21 days they were subjected to four days of water deficit. Gas exchanges were evaluated at the end of this period. At 26 days, the plants were inoculated with a conidia suspension of *M. oryzae* and it was possible to evaluate the Area Below the Disease Progress Curve (AACPD). The isolates BRM 32110, BRM 32111 and BRM 63523 demonstrated greater resistance to high osmotic pressures and showed production of extracellular enzymes, siderophores, biofilm, AIA, ACC deaminase enzyme and phosphate solubilization. The three rhizobacteria tested continued to demonstrate antagonistic effects to *M. oryzae*. For initial seedling development in vitro, the three isolates were promising at high osmotic pressures. The use of rhizobacteria stimulated the increase in length and root area, and also stimulated the greater development of lateral roots, mitigating the effects of water deficit, expanding the contact area even further. For length and total root surface area (CTR and AST) there is an increase of, 107 and 157% (BRM 32111), 58 and 55% (BRM 32110) and 68 and 70% for (BRM 63523). In length and area of very thin roots (CRMF and ASRMF) showed greater increase when

conditioned to stress by PEG, with T3 being the biggest increase in relation to the control, 150 and 302% (BRM 32111), 65 and 112% (BRM 32110) and 99 and 116% (BRM 63523). In the greenhouse, the use of BRM 32111 showed an increase in relation to photosynthesis (A), transpiration (E), stomatal conductance (gs) and internal concentration of (Ci) carbon for both water conditions (irrigated and stressed), for efficiency in water use (A / E) and rubisco carboxylation rate (A / Ci) the bacteria showed a greater effect on unstressed rice. The same isolate still suppressed leaf blast severity. The 9 isolates used showed potential in mitigating water deficit and suppression of leaf blast, highlighting BRM 32111 as an alternative in biological control aiming at a more sustainable agriculture.

Keywords: Rhizobacteria, Water stress, upland rice.

[1]Orientadora: Profa. Dra. Marta Cristina Corsi de Filippi
Coorientadora: Profa. Dra. Anna Cristina Lanna

1. INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa*) é essencial para a segurança nutricional e alimentar para mais da metade da população mundial, em torno de 4 bilhões de pessoas (IRRI, 2019), fornecendo proteínas, lipídeos, vitaminas, minerais e energia (Bandumula et al., 2019). Apesar de consumido principalmente em grãos (Walter et al., 2008), a cultura de cada povo define as diferentes formas de consumo. Além de nutricional, o arroz é um cereal que desempenha importante papel cultural, social e econômico (Souza et al., 2020).

A China é o maior produtor mundial (193 milhões de toneladas), seguida por Índia e Indonésia. O continente asiático é responsável por 90,7% da produção mundial (FAOSTAT, 2020). Foram produzidos no Brasil mais de 11 milhões de toneladas em 2020, classificando-se como o 9° maior produtor mundial (IBGE, 2021). Estima-se que o consumo per capita global de arroz seja de 57 kg/ano (Nascente et al., 2019), porém o consumo per capita nacional é de 35 kg/ano (Embrapa, 2020).

O arroz é uma monocotiledônea, pertencente à família Poaceae e subfamília Oryzoideae (Karin et al., 2019). Apesar de ser conhecida como planta de habitats alagados, também se adaptou a terra firme (Terra et al., 2013) e sistemas de produção. No Brasil, a cultura do arroz é produzida em dois sistemas de cultivo: irrigado, principalmente por inundação, responsável por 82% da produção nacional com produtividade de até 8,3 ton/ha^{-1}; e sem irrigação, em terras altas irrigado pela chuva (também denominado arroz de sequeiro), produzindo 2,3 ton/ha^{-1} (Wander & Silva, 2014; CONAB, 2020).

O arroz é cultivado em todas as regiões brasileiras, tendo sua maior produção no Rio Grande do Sul, que foi responsável por quase 80% da oferta nacional em 2020. A região sul do país obteve uma produção de mais de 9 milhões de toneladas (IBGE, 2021). Apesar de altas produtividades, as práticas de cultivo não são consideradas sustentáveis, tendo em vista principalmente o consumo da água (Momesso et al., 2020). Estima-se que o cultivo irrigado corresponda a mais de 60% da produção do planeta, e que seja responsável por mais de 78% do total de emissão de CH_4 de todo o cultivo mundial de arroz (Carlson et al. 2016), além de possuir um alto custo de implantação.

Por outro lado, apesar da diferença em produtividade, o cultivo de arroz de terras altas traz algumas vantagens, como o menor consumo de água, redução na emissão de gases de efeito estufa (Carlson et al. 2016), menor custo de produção, pode ser cultivado para recuperação de terras degradadas (Fageria et al., 2014) e não exige maquinário específico.

Nos últimos anos o aumento de perdas em safras de arroz de terras altas explica-se pela ocorrência de estresses biótico e abióticos (Dixit et al., 2020). Entre os estresses bióticos que acometem a cultura do arroz, destaca-se a brusone (*Magnaporthe oryzae*), doença causada por um fungo hemibiotrófico que afeta diversas gramíneas (Azizi et al., 2014). A brusone é considerada uma das doenças mais graves do arroz nas áreas tropicais e temperadas do mundo (Jiang et al., 2020). Dentre os métodos mais prejudiciais utilizados para controle de brusone está a utilização de controle químico, medida que impacta negativamente o ambiente, por deixar resíduos, prejudicando o meio ambiente, e a saúde humana (Wiraswati et al., 2019). Uma medida inovadora e mais amigável ao meio ambiente é o controle de doenças de plantas causadas por patógenos utilizando rizobactérias benéficas. As bactérias benéficas possuem capacidade de sintetizar compostos antimicrobianos (Bhattacharya & Jha, 2012), e já tem sido relatado como uma opção de controle da principal doença do arroz, a brusone (Filippi et al., 2011, Martins et al., 2020).

Além de controlar doenças causadas por patógenos, microrganismos possuem impacto positivo importante na forma em que a planta comporta em condições de estresses abióticos (Meena et al. 2017). Entre os estresses abióticos destaca-se a deficiência hídrica, considerada a maior limitação da produção mundial de arroz de terras altas (Swupna & Shilaraj, 2017). A falta de água afeta a planta em todos os seus estádios de desenvolvimento, a gravidade dos danos depende do estádio fisiológico que a planta se encontra, o tempo de duração e intensidade da falta de água (Hu & Xiong, 2014). O déficit hídrico causa efeitos negativos nas plantas como diminuição no conteúdo da clorofila, altura de planta, raiz e biomassa, trocas gasosas e rendimento de grãos (Chhaya et al., 2021).

Como resposta à falta de água a planta altera seu potencial osmótico intercelular para facilitar fluxo de água para dentro das células vegetais (Kamanga, 2020). O ajuste osmótico ocorre pelo acúmulo de grande quantidade de carboidratos solúveis (Ahmadipor et al., 2018; Chakhchar et al., 2019). Este processo resulta em uma diminuição

no potencial osmótico celular e, portanto, melhora a absorção de água e a pressão de turgor celular, o que pode ajudar a sustentar processos fisiológicos, como abertura estomática, fotossíntese e crescimento de expansão sob condições de seca (Blum, 1996).

Estudos realizados por Porter et al. (2019) demonstraram que microrganismos benéficos, como as rizobactérias, quando adaptados a ambientes estressantes contribuem positivamente na manutenção e mitigação da saúde das plantas. Como a utilização de Rizobactérias Promotoras do Crescimento de Plantas (PGPR) é uma ferramenta inovadora e complexa, ainda há necessidade de estudos voltados para caracterizar a múltipla bioatividade desses microrganismos e o seu comportamento e efeito nas as plantas de arroz de terras altas submetidas ao déficit hídrico (Karmakar et al., 2021) e à brusone foliar.

2. REVISÃO BIBLIOGRAFICA

2.1 A CULTURA DO ARROZ (*Oryza sativa* L.)

2.1.1 Importância econômica e nutricional

A produção mundial anual de arroz é em torno de 654 milhões de toneladas, sendo os países do continente asiático os maiores produtores de arroz, com destaque para China e Índia, com produções em torno de 193 e 142 milhões de toneladas respectivamente (FAO, 2021). O arroz (*Oryza sativa* L.) é fonte de calorias para boa parte da população, tendo sua produção relatada em mais de 95 países no mundo (Coats, 2003). O arroz sustenta a vida humana em todo planeta principalmente na Ásia e países em desenvolvimento como o Brasil (Bautista & Counce, 2020).

No Brasil o arroz foi introduzido pelos portugueses no século XVI, inicialmente era utilizado como alimento para os escravos e colonos, mas ao passar do tempo a cultura começou a ser desenvolvida e comercializada, começando a fazer parte da alimentação básica da população (Azambuja et al., 2002). No país a cultura do arroz é implantada principalmente em dois sistemas de cultivo, o cultivo de arroz inundado é mais ocorrente no sul do país, utilizando áreas de solos encharcados e o de arroz de sequeiro, onde se realiza o plantio após o início das chuvas, chamado também de arroz de terras altas (CONAB, 2015).

Na safra 2019/20 o Mercosul obteve uma produção de mais de 14 milhões de toneladas. O Brasil se mostrou o maior produtor dentro do Mercosul, com produção estimada de 11 milhões de toneladas, e área plantada de 1.678 ha (IBGE, 2021), sendo responsável por mais de 70% da produção total (CONAB, 2020). Aproximadamente 95% da população do país consome arroz, sendo que metade dessa porcentagem o ingere pelo menos uma vez por dia (CONAB, 2015).

O consumo do arroz ocorre principalmente após o cozimento hidrotérmico, mas seu estado *in* natura também é utilizado em diversos alimentos processados em vários lugares do mundo (Saikrishna, et al., 2018). O arroz é uma ótima fonte de energia, por fornecer grandes quantidades de amido, proteína, vitaminas e minerais, além de possuir uma quantidade reduzida de lipídios (Walter et al., 2008). O arroz vem tendo um aumento de produtividade nas últimas décadas sendo uma das culturas mais importantes no ponto de vista socioeconômico nacional (Conceição et al., 2017).

2.1.2 Aspectos botânicos e morfológicos.

O arroz e uma gramínea semiaquática que possui aproximadamente 22 espécies do gênero *Oryza*, destas, 20 são espécies silvestres, tem seu cultivo mais amplo na Ásia, América do norte e do sul, União europeia, Oriente médio e África. (Muthayya, et al., 2014). A temperatura é um dos elementos cruciais para a produtividade e o desenvolvimento da cultura, sua temperatura ótima depende principalmente na fase fenológica que se encontra, na germinação a temperatura ideal varia de 20 a 35°C, na floração de 30 a 33°C e na maturação de 20 a 25°C (Sosbai, 2018).

A cultura do arroz tem o seu ciclo dividido em três fases sendo a fase vegetativa, que vai da emergência até a emissão da panícula, a fase reprodutiva onde ocorre a diferenciação da panícula até a antese e a fase de enchimento dos grãos indo da antese até a maturação (Infeld et al., 1988).

2.2 BRUSONE NO ARROZ

Brusone é uma doença severa causada pelo fungo *Magnaporthe oryzae*, que ocorre em quase todos os países produtores de arroz, todos os anos causam perdas significativas, diminuindo o rendimento na produtividade da cultura (Yamaguchi, 2004). A perda na produção causada por essa doença pode chegar até 100%, caso as condições ambientais sejam favoráveis ao patógeno, como altas umidades e temperaturas (Prabhu et al., 2009). O fungo *M. oryzae* é um dos mais importantes economicamente, pois causa a principal doença do arroz, cultura que alimenta metade da população mundial (Dean et al., 2012). Essa doença tem impactos maiores no arroz de terras altas do que em arroz de cultivo irrigado, em relação a área plantada nacional (Sperandio et al., 2020).

O ciclo da doença consiste em algumas etapas como, fixação dos conídios na superfície da planta, germinação dos esporos, formação do tubo germinativo, formação do

apressório, surgimento do peg de penetração e crescimento de forma agressiva na planta hospedeira (Galhano & Talbot, 2011). Os sintomas da doença podem ocorrer principalmente nas folhas com pequenas lesões necróticas de coloração marrom que crescem e se tornam elípticas com o centro esbranquiçado, podendo causar a morte da folha ou até da planta. A infecção que ocorre na parte de baixo da panícula no primeiro nó é denominada como brusone do pescoço, esta infecção pode levar a morte da panícula (Prabhu et at., 2002).

Atualmente o controle da brusone se dá através da utilização de variedades resistentes e controle químico, porém novas variedades resistentes ainda é um fator limitante devido à alta variabilidade do patógeno. Já em relação ao controle químico ocorre resistência ao fungicida e deixa resíduos ameaçando a segurança alimentar (Sha et al., 2020). Uma forma de controlar a doença sem modificar o ecossistema, é a utilização de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (PGPRs).

As PGPRs são conhecidas por controlar doenças fúngicas, e promover o crescimento das plantas. Quando adicionadas ao solo, promovem benefícios diretos e indiretos para produção agrícola, e auxiliam na diminuição do uso de agrotóxicos (Lavie & Stotzky, 1986). Pesquisa realizada por Filippi et al. (2011) mostraram que isolados de PGPR, promoveram o crescimento vegetal das plantas, e reduziram os danos causados pelo fungo *M. oryzae*, demonstrando que estas bactérias podem ser uma alternativa de um cultivo mais sustentável ao arroz de terras altas.

2.3 RIZOBACTÉRIAS COM MÚLTIPLAS BIOATIVIDADES

Bactérias são organismos unicelulares, procariotos, constituídas por apenas um cromossomo, tendo seu material genético composto de ácido desoxirribonucleico (DNA), algumas bactérias também possuem plasmídeo. As fases de crescimento bacteriano são divididas em fase lag ou latente consiste na fase em que o microrganismo irá se adaptar ao meio, não ocorrendo um crescimento celular alto. Log quando as bactérias iniciam sua fase de crescimento e multiplicação celular obtendo crescimento logarítmico. A fase estacionária consiste no nivelamento entre a quantidade de células vivas e mortas, permanecendo estável. A fase de declínio ou morte e a fase em que o número de células mortas é maior que as células vivas (Araújo et al., 2012).

As bactérias possuem a capacidade de comunicação umas com as outras utilizando moléculas de sinalização química como palavras, essa comunicação e

denominado de quorun sensing vários comportamentos bacterianos são regulados por quorun como simbiose, virulência, produção de antibiótico e produção de biofilme (Schauder & Bassler, 2001).

As PGPRs são bactérias rizosféricas e endofíticas que possuem a capacidade de aumentar a produção potencializando o crescimento da planta (Ouyabe et al., 2020). Essas bactérias se associam à raiz afetando positivamente atuando de várias formas: sintetizam compostos específicos para as plantas, disponibilizam nutrientes e mitigam ou previnem doenças (Hayat et al., 2010). Essas bactérias devem ter as seguintes características: (I) devem ser capazes de colonizar as raízes da planta, (II) sobreviver multiplicar e competir com a microbiota existente no solo e (III) possuir capacidade de promoção de crescimento de plantas (Ahemad & Kibret, 2013).

Algumas destas bactérias podem induzir a planta quanto ao seu crescimento e desenvolvimento de forma indireta, atuando na mitigação danos causados por vários estresses, e de forma direta causando mudanças hormonais como aumento de citocininas, auxinas e etileno, auxiliando também na obtenção de nutrientes para a planta como N, Fe, P e K (Glick, 2012; Rashid et al., 2012; Kumar et al., 2012; Berg, 2009). Nas últimas décadas estudos estão sendo realizados quanto aos efeitos de aumento de tolerância de plantas com diversos gêneros como *Rhizobium, Bacillus, Pseudomonas, Pantoea, Paenibacillus, Burkholderia, Achromobacter, Azospirillum, Microbacterium, Methylobacterium, variovorax, Enterobacter* (Grover et al., 2010). Dentre estes destacam-se três gêneros: *Bacillus*, (bactéria gram-positiva, formadora de esporos, possuem forma de bastonetes), *Pseudomonas* (bactéria gram-negativa possuem forma de bastonetes, mas não formam esporos), e *Serratia* (bactéria gram-negativa pertencente à família das Enterobacteriaceae) (Santoyo et al., 2012; Barman et al., 2020). As PGPR são bastante utilizadas como inoculantes na biorremediação, biofertilização e também para controle biológico de patógenos, reduz em grande escala a utilização de produtos químicos e pesticidas que muitas vezes são usados de forma indiscriminada contaminando o meio ambiente (Singh et al., 2019).

2.3.1 Características bioquímicas

2.3.1.1 Produção de ácido indolacético (AIA)

Os hormônios vegetais possuem baixo peso molecular, atuam em concentrações extremamente baixas, regulando quase todos os processos fisiológicos e de desenvolvimento em todo o ciclo de vida da planta, dentre esses a auxina foi o primeiro hormônio descoberto (Bajguz & Piotrowska, 2009). Acredita-se que esse hormônio possua a capacidade de regular ou influenciar respostas em toda a planta como tropismo, dominância apical e crescimento da raiz, também possuem efeitos em nível celular, como divisão e diferenciação celular, e aumento das células (Hagen e Guilfoyle, 2002).

Dentro das auxinas o hormônio mais comum encontrado e o ácido indol-3-acético (AIA), sendo descoberto na década de 1930 (Smith et al., 2017). Possui papel importante dentro das plantas pois estimula a divisão celular, o alongamento das células, diferenciação celular, interfere também na queda das folhas e amadurecimento dos frutos (Trotsenko et al., 2001; Teale et al., 2006).

2.3.1.2 Solubilização de Fosfato

O fósforo é um nutriente indispensável para planta, mas o P contido no solo não está na forma assimilável, dificultando a absorção pela planta afetando seu crescimento (Ahmed et al., 2020). Os microrganismos solubilizadores de fosfato possuem um papel muito importante, pois conseguem disponibilizar a quantidade necessária de nutriente para a planta, por meio da conversão de fosfato insolúvel para íons solúveis (Sauka et al., 2021).

Todos os anos milhões de toneladas de adubos fosfáticos são adicionados no solo para potencializar a produção agrícola, porem esse fosfato logo se torna indisponível para planta (Zhang et al., 2020). A solubilização do fosfato por rizobactérias ocorre pela produção de ácidos orgânicos ocorrendo a acidificação do meio. Os ácidos orgânicos fazem a conversão do fosfato tricálcico em di e monobásicos disponibilizando o nutriente para as plantas (Awais et al., 2017).

2.3.1.3 Síntese de sideróforos

O ferro (Fe) e um micronutriente indispensável para a maioria dos organismos vivos, para a planta é essencial para a fotossíntese e na biossíntese de clorofila (Jeong & Connolly, 2009), mais sua disponibilidade é bastante reduzida (Ferreira et al., 2019a). Em solos neutros ou alcalinos, o nutriente não se encontra na forma assimilável mesmo estando em abundância o que resulta na deficiência de ferro (Rout & Sahoo, 2015). Uma forma de disponibilizar esse ferro é a utilização de bactérias produtoras de sideróforos.

Sideróforo são denominados de compostos orgânicos de baixo peso molecular que possuem a capacidade de induzir ação quelante sobre o ferro férrico (Fe^{3+}), podem ser sintetizados por bactérias, fungos e plantas em condições de escassez de Fe (Ghosh et al., 2020; Ferreira et al., 2019b). Os sideróforos se ligam ao Fe^{3+} e formam um complexo de Sideróforo+(Fe^{3+}), sendo transportadas até as células, usando receptores de sideróforos específicos, já dentro das células esse Fe^{3+} e reduzido para Fe^{2+} ficando disponível para absorção tanto do microrganismo como para as plantas (Saha et al., 2015).

2.3.1.4 Enzima ACC deaminase

O hormônio etileno é uma molécula que participa de vários processos da planta, entre elas germinação de sementes, alongamento da raiz, senescência da flor, abscisão foliar e o amadurecimento do fruto (Zafar-ul-Hye et al., 2020). Plantas em estresses tendem a aumentar sua concentração de etileno. Ele é sintetizado através da conversão enzimática de s-adenosil- metionina (SAM) em ácido – 1 amino ciclopropano-1-carboxílico (ACC), onde se utiliza o composto ACC oxidase como catalizador para formação do ACC em etileno (Arshad & Frankenberger, 2002).

O acúmulo de etileno impede o desenvolvimento da raiz, limitando a busca por água e nutrientes, assim modificações que ocorram na concentração de etileno podem regular o crescimento das plantas (Saghafi et al., 2020). Algumas bactérias possuem a capacidade de reduzir a quantidade de etileno das plantas, isso ocorre através da da enzima 1-aminociclopropano -1- carboxilato (ACC) deaminase (Glick, 2014). A enzima ACC deaminase atua degradando o precursor do etileno o ACC, gerando o α-cetobutirato e amônia, reduzindo os níveis do inibidor do crescimento vegetal (Orozco-Mosqueda, 2020).

2.3.1.5 Formação de biofilme

Biofilme é uma forma das bactérias adquirirem maior resistência e sobreviverem em ambiente naturais ou sob estresses (Kour et al., 2020). As bactérias constroem o biofilme em três estágios diferentes, (I) primeiro ocorre a adesão irreversível a superfície, (II) as bactérias se dividem e produz uma matriz extracelular, (III) a matriz e desmontada dispersando as bactérias (O'Toole et al., 2000). O biofilme quando está associado às plantas fornecem uma proteção maior contra estresses externo, reduz a competição da microbiota dando maior proteção para a planta, apoiando no crescimento, no rendimento e na qualidade da colheita (Ghiasian, 2020).

2.4 RESPOSTA DA PLANTA AO DÉFICIT HÍDRICO

A água é o elemento mais importante para todos os organismos vivos, mas sua distribuição ocorre de forma irregular em todas as regiões do planeta, mesmo o Brasil sendo o país mais rico em relação a recursos hídricos, existem casos graves escassez hídrica em diversas regiões (Gomes et al., 2008). Plantas são organismos que não possuem a capacidade de se locomover, dessa forma vivem em ambientes com constante variação edafoclimática, sendo induzidas a constantes estresses, podendo ser abiótico como seca, temperaturas, excesso de sais, metais pesados, e bióticos como ataques de vários patógenos (Jamshidi et al., 2019).

O estresse em plantas é definido como fatores ambientais que estão abaixo ou além dos pontos ótimos, de modo a prejudicar o seu crescimento e desenvolvimento (Ansari et al., 2019a). Boyer (1982) indicou que fatores ambientais podem limitar a produção agrícola em até 70% e Cramer et al. (2011) complementa que mais de 90% da área rural global são afetadas por fatores de estresse abiótico em algum ponto durante a estação de crescimento das plantas. Várias regiões do mundo são prejudicadas por mudanças climáticas, afetando a produção de alimentos, o que atrapalha a alimentação de boa parte do mundo (Arun et al., 2020). A seca é o principal fator dentre o estresse abiótico que limita a produção mundial de arroz (Swapna & Shylaraj, 2017). Plantas C3, como a cultura do arroz, possuem menor tolerância ao déficit hídrico e outros tipos de estresses do que plantas C4, por possuir menor eficiência no uso da água (Bai et al., 2020; Hossain & Li, 2021).

Em alguns lugares do país principalmente na região do cerrado, ocorre a estiagem das chuvas em meio a períodos de alta pluviosidade para esse fenômeno se dá o

nome de veranicos, mesmo a planta estando em época de chuvas pode ocorrer o déficit hídrico (Terra et al., 2015). Quando condicionadas à seca, a primeira ação realizada pela planta é a redução do seu potencial osmótico e hídrico da raiz, tentando formar um gradiente onde possibilite a absorção de água através dos solos ou diminuindo sua taxa transpiratória para manter sua necessidade interna (Guimarães et al. 2011).

Muitos processos fisiológicos são ativados para reduzir a perda de água das plantas. O primeiro deles é o acúmulo de ácido abscísico (ABA), que promove o fechamento estomático, processo importante na regulação da transpiração e captação de CO_2 (Taiz et al., 2017; Nemeskéri & Heleys, 2019; Koentjoro et al., 2020). O fechamento estomático das plantas devido ao déficit hídrico causa uma restrição nas trocas gasosas entre a planta e ambiente, mas é considerado um mecanismo eficaz para prevenir a perda de água e sobrevivência da planta (Ansari et al., 2019b).

Sob condições de estresse a concentração de ABA aumenta de forma rápida para facilitar a aclimatação e sobrevivência da planta. O hormônio possui um papel importante na regulação no teor de água da planta, quando a raiz da planta começa a sentir a escassez da água, o ABA e produzido nas raízes e transportado pelo xilema para as folhas, onde regula a abertura e fechamento estomático reduzindo a perda de água pela folha (Zhang, et al., 2006). O ABA induz a produção de Hidróxido de Hidrogênio (H_2O_2) nas células guardas, que ativa os canais de Ca^{2+} bobeando Ca^{2+} para dentro da membrana plasmática, aumentando a concentração de $Ca2^{+}$ citosólico, fazendo com que ocorra o fechamento dos estômatos (Kim, et al., 2010; Olds et al., 2018)

Em escassez de água algumas espécies conseguem ajustar a concentração de água nas células, aumentando a quantidade de substâncias osmoticamente ativas, como o aminoácido prolina, que conseguem reduzir o potencial osmótico das células levando a maior retenção ou absorção de água, conseguindo manter a turgência. O aumento de prolina em seu interior, pode chegar até 100 vezes maior que a quantidade normal (Verbruggen & Hermans, 2008). A prolina pode estabilizar membranas e proteínas atuando como eliminador de radicais livres ou disponibilizador de carbono, nitrogênio e energia, após a planta passar pelo estresse.

No arroz o estresse por falta de água pode causar vários danos, na fase vegetativa ocorrendo a redução do perfilhamento e alargamento das folhas, na fase reprodutiva pode emitir panículas irregulares ou mesmo não emitir, também gera uma alta esterilidade das espiguetas (Embrapa, 2013). A aplicação de rizobactérias benéficas reduz

os efeitos negativos do estresse hídrico por um processo chamado de resistência induzida, ocorre através de vários processos fisiológicos e bioquímicos (Pereira et al., 2020). Segundo Rêgo et al. (2018), as rizobactérias promotoras de crescimento de plantas, auxiliam a planta mitigando os danos causados sob estresses de seca, preservando suas proteínas e enzimas da parede celular, além do aumento de osmorreguladores, melhorando seu potencial osmótico.

2.5 INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA

A planta possui um sistema imunológico que a protege contra vários tipos de estresses, esse sistema funciona através de complexas redes de sinalização, que ao receber estímulos ambientais específicos ocorre uma intensificação na capacidade defensiva (Jain et al., 2014). São resistentes a boa parte de microrganismos que tentam penetrar seus tecidos, essas defesas possuem mecanismos físicos como, cutícula e parede celular e bioquímicos, como fitoalexinas e fitoantecipinas (Dallagnol & Araujo filho 2018).

Em relação a defesa da planta a nível molecular ocorre através de receptores, que reconhecem padrões microbianos sendo definidos: PAMPs (Padrões Moleculares Associados a Patógenos), MAMPs (Padrões Moleculares Associados a Microrganismos) e DAMPs (Padrões Moleculares Associados a Danos) que são reconhecidos através de proteínas denominadas de receptores de reconhecimento padrão (PRRs). O reconhecimento através de PAMPs constitui a primeira camada de defesa das plantas, pois os receptores conseguem identificar a molécula secretada pelo patógeno antes da invasão celular (Faulkner & Robatzek, 2012; Zipfel, et al., 2004). Os DAMPs são pequenas moléculas reconhecidas através de substâncias liberadas na degradação da parede celular pelo patógeno. Esse reconhecimento dos padrões moleculares pelo (PRRs) ativam respostas imunes denominadas de PTI (PAMPs /Pathogen triggered immunity) que protegem a planta de ataques de patógenos não adaptados ao hospedeiro, patógenos adaptados conseguem secretar efetores enganando as defesas da planta, esses efetores são reconhecidos pela Proteinas R, levando a outra forma de imunidade o ETI (effector triggered immunity), agindo de maneira especifica na raça do patógeno (Boller & Felix, 2009; Couto & Zipfel, 2016; Yu et al., 2017).

A resposta das plantas a patógenos podem ser aumentadas utilizando métodos de indução de resistência, podendo ocorrer por dois mecanismos, sendo diferenciados quanto ao elicitor, e as vias regulatórias evolvidas sendo: Resistência Sistêmica Adquirida

(SAR), pode ser ativado por diversos agentes dentre eles patógenos, necrotizantes e alguns produtos químicos, resistência essa de longo prazo protege a planta em ataques de patógenos futuros. Está relacionada com ativação de proteínas PR, e ocorre através da rota do Ácido Salicílico (SA) (Durrant & Dong, 2004; Spoel & Dong, 2012; Walters, et al., 2013). E Resistência Sistêmica Induzida (ISR) é uma resistência induzida por uma infecção aumentando as barreiras de proteção das plantas em vez de matar o patógeno diretamente, protegendo a planta contra ataques de novos patógenos e insetos. Muitas espécies de plantas podem apresentar (ISR), por estímulos de patógenos, insetos herbívoros, colonização de raízes por microrganismos benéficos e alguns produtos químicos. O ISR pode manifestar no local da infecção ou em outras partes distantes do contato inicial. É regulado pelas rotas do ácido jasmônico e etileno (Kloepper & Ryu, 2007; Pieterse et al., 2014; Jacob et al., 2020)

Nas últimas duas décadas mecanismos como o (ISR) vêm sendo estudados através da inoculação de microrganismos para ativação da defesa das plantas, utilizando rizóbios, rizobactérias promotoras de crescimento vegetal (PGPR), fungos promotores de crescimento vegetal e vírus de plantas (Gopal et al., 2020). Plantas possuem maior capacidade no aumento de resistência quando são estimuladas com microrganismos benéficos como as PGPR, deixando a planta em estado de alerta, obtendo ISR elicitado por microrganismos (Jain et al., 2013).

3. OBJETIVO GERAL

Selecionar rizobacterias mitigadora dos danos do déficit hídrico e da severidade da brusone foliar em arroz de terras altas.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Caracterizar bioquimicamente as rizobactéria quanto a:

I. Solubilização de fosfato insolúvel.
II. Atividade de enzimas líticas: quitinase, protease, amilase, celulase e lipase.
III. Produção de biofilme.
IV. Produção de sideróforos.
V. Produção do fitohormôno ácido indolacético (AIA).
VI. Produção de 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) desaminase.

Selecionar isolados resistentes capazes de crescer em diferentes pressões osmóticas simulado pelo polietilenoglicol 6000 (PEG 6000).

Analisar e quantificar o desenvolvimento radicular de plantulas de arroz crescidas *in vitro*, em diferentes potenciais osmóticos, na presença de bactérias;

Determinar os antagonismos entre *Magnaporthe oryzae* e as bactérias selecionadas, crescidas sob diferentes pressões osmóticas.

Determinar em casa de vegetação o efeito do tratamento com as rizobactérias nas plantas de arroz submetidas ao déficit hídrico e inoculadas com M. oryzae

4. HIPÓTESE

Os isolados de bactérias são produtores de compostos bioquímicos como fitohormônios e enzimas líticas.

Polietilenoglicol 6000 (PEG 60000) é capaz de simular a pressão osmótica e selecionar bactérias resistentes;

As bactérias resistentes ao PEG 6000 protegem as raízes de plantulas de arroz de diferentes gradientes de pressão osmótica.

As bactérias resistentes são antagonistas à *Magnaporthe oryzae*, mesmo submetida a alta pressão osmótica.

Os isolados são capazes de auxiliar as plantas em casa de vegetão sob déficit hídrico.

As bactérias induzem a resistência em plantas de arroz de terras altas a *Magnaporthe oryzae*.

5. MATERIAIS E MÉTODO

Foram utilizados nove isolados de bactérias da coleção da Embrapa Arroz e Feijão classificadas como BRM 32109 (*Bacillus cereus*) BRM 32110 (*Bacillus thuringiensis*), BRM 32111 (*Pseudomonas fluorenscens*), BRM 32112 (*Pseudomonas* sp.) BRM 32113 (*Bhurkoderia pyrrocinia*), BRM 32114 (*Serratia* sp.), BRM 63521 (*Serratia marcescens*), BRM 63522 (*Serratia* sp.) e BRM 63523 (*Serratia marcescens*).

5.1 CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DOS ISOLADOS

5.1.1 Solubilização de Fosfato

De acordo com Sylvester-Bradley et al. (1982), o meio utilizado para este teste foi o NBRIP – National Botanical Research Institute's Phosphates (10 g de glicose, 0,5 g de $(NH_4)_2SO_4$, 0,2 g de NaCl, 0,1 g de $MgSO_4$, 0,2 g de KCl, 0,5 g de extrato de levedura, 0,002 g de $MnSO_4$, 0,002 g de $FeSO_4$ e 15 g), mais adição de fosfato de cálcio (Nautiyal, 1999).

Para a determinação do fosfato inorgânico, utiliza-se o $CaHPO_4$ (fosfato bicálcico), formado pela adição de 100mL da solução de K_2HPO_4 a 10%, com 50mL da solução de $CaCl_2$ a 10% adicionados a 850mL de meio. As soluções foram autoclavadas separadamente, tendo seu pH ajustado para 7,0, ao misturar as duas suspenções ocorre a formação de um precipitado esbranquiçado decorrente do teor de fosfato insolúvel.

Após o preparo do meio NBRIP suplementado com fontes de fosfato, a solução foi vertida em placas de Petri. Ao centro da placa adicionou-se 5µL de suspenção de cada, seguidas de incubação por 5 dias para a formação de halo. Determinou-se o índice de solubilização pela fórmula, $(IS) = \frac{DH}{DC}$.

5.1.2 Atividades de enzimas hidrolíticas

5.1.2.1 Atividade Amilolítica.

De acordo com Hankin & Anagnostakis (1975), adaptada por Sunitha et al. (2013). Para o cultivo das colônias bactérias utilizou-se o meio Glucose Yeast Extract Peptone Agar (GYP) (glicose - 1g, extrato de levedura - 0,1g, peptona - 0,5g, ágar - 16g, água destilada -1L) com 0,2% de amido solúvel, ajustado pH 6,0. As placas de Petri contendo as colônias de bactérias foram incubadas por sete dias, em seguida foram lavadas.com 1% de iodo em 2% de iodeto de potássio durante uma hora. A formação de um halo de degradação ao redor da colônia indicou a atividade amilolítica.

5.1.2.2 Atividade Celulolítica

De acordo com Hankin & Anagnostakis (1975), adaptada por Sunitha et al. (2013). Para o cultivo das colônias bactérias utilizou-se o meio de cultura de Glucose Yeast Extract Peptone Agar (GYP) (glicose - 1g, extrato de levedura - 0,1g, peptona - 0,5 g, ágar - 16g, água destilada -1L) com 0,5% de carboxy-methylcelulose, ajustado pH 6,0. Após 3-5 dias de crescimento das colônias, as placas foram inundadas com solução aquosa vermelha de Congo 0,2% e lavadas com 1M NaCl por 15 minutos. O aparecimento de halo amarelo ao redor da colônia indicou atividade celulolítica.

5.1.2.3 Atividade Lipolítica

Conforme Hankin & Anagnostakis (1975), adaptada por Sunitha et al. (2013). Para o cultivo das colônias bactérias utilizou-se o meio de cultura Peptona Agar (peptona - 10g, NaCl - 5g, $CaCl_2.2H_2O$ – 0,1g, ágar - 16g, água destilada - 1L; pH 6,0) suplementado com 1% de com Tween 20, esterilizado separadamente. As placas foram incubadas por sete dias e a formação de um precipitado visível ao redor da colônia devido à formação de cristais de cálcio do ácido láurico liberado pela enzima, indicou a atividade lipase positiva.

5.1.2.4 Atividade Proteolítica

De acordo com Hankin & Anagnostakis (1975), adaptada por Sunitha et al. (2013). Para o cultivo das colônias bactérias utilizou-se o meio de Glucose Yeast Extract Peptone Agar (GYP) (glicose - 1g, extrato de levedura - 0,1g, peptona - 0,5g, ágar - 16g, água destilada - 1L) com 0,4% de gelatina, diluida em água foi esterilizada separadamente

ajustando o pH 6,0 e adicionado ao meio GYP na proporção de 5 mL por 100 mL de meio. As placas foram incubadas por sete dias, e a degradação da gelatina forma uma zona livre ao redor das colônias, onde foram então inundadas com sulfato de amônio aquoso saturado. A formação de um precipitado indicou a atividade proteolítica.

5.1.2.5 Atividade de Quitinase

Metodologia de acordo com Hsu & Lockwood (1975), meio especifico contendo como única fonte de carbono a quitina coloidal (Quitina coloidal - 4g, K_2HPO_4 – 0,7g, KH_2PO_4 – 0,3g, $MgSO_4.5H_2O$ – 0,5g, $FeSO_4.7H_2O$ – 0,01g, $ZnSO_4$ – 0,001g, Ágar – 20g, água deionizada – 1L). O pH foi aferido para 8,0 (Hsu & Lockwood, 1975). A Produção de quitinase pode ser observada através da formação de um halo em volta da colônia.

Quitina coloidal: 50g de quitina com 200ml de HCl p.a, com agitação por 2 horas. A suspensão foi filtrada a vácuo para descarte da parte liquida. A quitina retida do filtro foi lavada com 2 litros de água fria destilada, continuamente adicionada, até atingir o pH de 7,0. Em seguida, a quitina foi seca em estufa com circulação de ar a 40° C, tritura e passada em uma peneira tamisada de 60 mesh (Yamaguchi, 2003).

5.1.3 Produção de Sideróforos

Os isolados de bactéria foram transferidos para erlenmeyer de 25ml contendo o meio KB e incubados para crescimento sob agitação constante de 150 rpm, por 48 hrs a 28° C. Em seguida, transferiu-se uma alíquota de 1,0 ml para um microtubo de 1,5 ml, os mesmos foram centrifugados durante 5 min a 10000 rpm. Transferiu-se 100µl do sobrenadante e 100µl da solução cromo azurol S (CAS) para microplacas de 96 poços (Alexander & Zuberer, 1991). O tratamento controle foi constituído somente do meio de cultura KB e da solução indicadora, sem bactéria. Após 30 mim em repouso as placas foram avaliadas de forma qualitativa observando a mudança de coloração e quantitativa realizando a leitura em leitor de placas de ELISA. Para quantificação de sideróforo foi utilizado fórmula proposta por Payne (1988) $SU\% = [(Ab-Aa) / Ab] \times 100$.

5.1.4 Produção de Biofilme

Determinação qualitativa: Utilizou-se o meio Ágar Vermelho Congo (CRA), modificado de Freemann et al. (1989), constituído de (ágar nutriente – 28g, sacarose - 50 g e corante Vermelho Congo - 0,8 g, água deionizada - 1L). Os isolados bacterianos foram transferidos para placas de Petri contendo o meio CRA, incubadas à temperatura de 36ºC por 24 horas, seguida de incubação à temperatura ambiente por 18 horas. A mudança na coloração do meio de vermelho Congo para a cor preta demonstrou a capacidade da produção de biofilme. As placas de Petri contendo as colônias não produtoras de biofilme o meio de cultura continuou com a coloração vermelhas (Freemann et al. 1989).

Determinação quantitativa: metodologia de acordo com Cucarella et al. (2004), modificada, os isolados foram crescidos em meio TSB durante 24 horas. Posteriormente a solução bacteriana foi adicionada em microplacas de 96 poços estereis diluidas de 1:200 em TSB + glicose**,** sendo incubadas por 24 horas a 37°C sob agitação.

Os poços foram lavados 3 vezes com 200µl de solução salina a 0,85% estéril, secas em estufa a 60°C, em seguida adicionou se 200µl de cristal violeta a 1% por cinco minutos. Após, a placa foi lavada com água destilada e seca, sendo adicionado 200µl de ácido acético a 33%. A leitura foi realizada a 570nm em leitor de ELISA. O controle continha somente TSB + glicose. Foram considerados produtores de biofilme absorbância maior que 0,1, a intensidade da produção foi dividida em forte sendo (>0,3), moderada(>0,2 e < 0,3), fraca(>0,1 e <0,2) (Demo, 1996).

5.1.5 Produção de AIA

Utilizou metodologia descrita por Tang & Bonner (1947), as bactérias foram crescidas Erlemeyer contendo 50mL do meio TSB (TrypticaseSoyBrooth) suplementado (Dextrose 10 gL^{-1}, extrato de levedura 5 gL^{-1} e 5 mL triptofano (1000 ug mL^{-1})).Os frascos de Erlemeyer foram submetidos a agitação constante no escuro, a 28°C durante 24 horas, em seguida as amostras foram centrifugadas a 10000 rpm por 10 minutos. A determinação da produção de AIA foi realizada com a adição de 5 mL da solução de Salkowski (Ehmann, 1977), a 1 mL do sobrenadante da solução centrifugada. Após 30 minutos foi realizado a leitura de absorbância a 500 nm. O teor de AIA produzido por cada isolado bacteriano foi estimado baseando-se na comparação com a curva padrão, calculada com concentrações conhecidas do fitoregulador.

5.1.6 Produção da enzima ACC deaminase

A estimativa de produção do ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) deaminase foi feita utilizando o método descrito por Lucon et al. (2008). Os isolados de rizobactérias foram crescidas em meio líquido enriquecido com ACC por 48h a 28 °C, sob agitação constante. Foi utilizado um meio mínimo, com adição de 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) como única fonte de N (Glick et al., 1995), com a seguinte composição (4 g de KH2PO4; 10 mg de H3BO4; 6 g de Na2HPO4; 10 mg de MnSO4.7H2O; 0,2 g de MgSO4.7H2O; 70 mg de ZnSO4; 1 mg de FeSO4.7H2O; 50 mg de CuSO4; 2 g de glicose, 10 mg de MoO3; 2 g de ácido glucônico, 2 g de ácido cítrico, 3 mM de ACC e 1 L de água destilada). Foram feitas três repetições para isolado e um tratamento controle (meio sem bactéria). A avaliação final foi feita pela leitura da absorbância (595 nm) em espectrofotômetro, comparando as leituras com tratamento controle.

5.2 SELEÇÃO DE ISOLADOS DE RIZOBACTÉRIAS RESISTENTES A PRESSÃO OSMÓTICA SIMULADO PELO POLIETILENOGLICOL (PEG 6000).

Todos os isolados foram transferidos para placas de petri contendo o meio ágar nutriente Biolog e incubadas a temperatura ótima de 28°C durante 3 dias. Depois das colônias crescidas, retirou-se uma alíquota de células de cada e transferiu-se para um Erlenmeyer contendo meio liquido caldo nutriente, por 48 horas a 28°C, sob agitação constante a 150 rpm. Posteriormente, a concentração de cada suspenção de células bacterianas foi ajustada para 10^8 UFC^{-1}, em espectrofotômetro da marca Hach no comprimento de onda de 620nm.

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, em fatorial, 9 isolados por 7 tratamentos correspondendo as concentrações distintas de Polietilenoglicol 6000 (PEG 6000) Sigma aldrich, 0 g L^{-1} (0 MPa); 79,8 g L^{-1} (-0,1 MPa); 121,1 g L^{-1} (-0,2 MPa); 180,2 g L^{-1} (-0,4 MPa); 264,2 g L^{-1} (-0,8 MPa); 298,1 g L^{-1} (-1,0 MPa) e 328,9 g L^{-1} (-1,2 MPa), com 12 repetições. Para o controle foi utilizado o meio mínimo M9 (1g - Glicose, 0,5g - NH_4Cl, 0,1 - K_2PO_4, 0,5 - NaCl), sem a adição das bactérias.

O experimento foi instalado em microplacas de 96 poços, com capacidade para 150µL^{-1} de solução, cada poço compôs uma unidade experimental. Em cada poço foi depositado 90µL de meio M9 (com as devidas concentrações de PEG) e 60µL da

suspenção cada bactéria, previamente crescida em caldo nutriente e com concentração ajustada.

Placas de Elisa, contendo os tratamentos e repetições foram inseridas no leitor de microplacas (EpochTM) no comprimento de onda de 620 nm, para determinar a concentração de células e calcular as taxas de crescimento. As leituras foram realizadas com o auxílio do software Gen5 (Biotek), a cada 2 horas, durante 48 horas

5.3 DETERMINAÇÃO DAS CÉLULAS VIÁVEIS.

Três isolados selecionados do ensaio descrito em 5.2 foram crescidos em meio caldo nutriente enriquecido juntamente com as 7 diferentes concentrações de PEG 6000, mantidos sob agitação constante de 150 rpm a 28°C, avaliadas com 24, 48, 72 e 96 horas. Foi utilizado o método de diluição seriada, 100µl de cada diluição foi transferida para placas de Petri contendo o meio ágar nutriente, e incorporadas ao meio com o auxílio de uma alça de Drigalski. As placas foram incubadas por 24hrs para, em seguida determinar-se o número de Unidades formadoras de colônias (U.F.C.) e calcular a taxa de crescimento.

5.4 DESENVOLVIMENTO INICIAL DE PLÂNTULAS DE ARROZ *IN* VITRO SOB CONDIÇÕES DE DÉFICIT HÍDRICO INDUZIDO POR POLIETILENOGLICOL 6000.

Sementes de arroz da cultivar BRS Esmeralda, microbiolizadas com BRM 32110, BRM 32111 e BRM 63523, foram colocadas para germinar em tubos de ensaio. Para a microbiolização das sementes foram feitas suspensões bacterianas de cada um dos isolados, onde foram imersas sementes de arroz por 48 horas a 28 °C e sob agitação constante de 150 rpm. Após este período, as sementes foram retiradas das suspensões, secas a temperatura ambiente e transferidas para os tubos. Foram usados tubos com capacidade de 100 mL e em cada um foi vertido 40 mL de meio de cultura sólido (Phytagel - 9 g, água destilada - 1 L, pH 6,8) e adicionadas as diferentes concentrações de PEG-6000 para simular um gradiente de potencial osmótico: 0 g L^{-1}; 79,8 g L^{-1}; 121,1 g L^{-1}; 180,2 g L^{-1}; 264,2 g L^{-1}; 298,1 g L^{-1} e 328,9 g L^{-1}. Os tubos com as sementes foram mantidos por 15 dias em germinador de sementes, e no final as plântulas foram retiradas e fotografadas as raízes com câmera fotográfica modelo Nikon D7200 usando as lentes Nikon 18-105 mm (zoom) e Nikon macro 60 mm. As fotos das raízes foram processadas no programa WinRhizo Pro 2012b, estimando valores de comprimento e área total das raízes, assim como classificadas em três classes de diâmetro, como descrito a por Bhom (1979): raízes

muito finas (Ø inferior a 0,5 mm), raízes finas (> 0,5 Ø < 2,0 mm) e raízes grossas (Ø > 2,0 mm).

5.5 ANTAGONISMOS BACTERIANO DESAFIADO COM *MAGNAPORTHE ORYZAE*.

O teste de antagonismo foi realizado usando o método de pareamento de culturas de acordo com Dennis & Webster (1971) com modificações. O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente ao acaso com 3 bactérias (BRM 32110, BRM 32111 e BRM 63523) x 7 concentrações de PEG (0 g L^{-1} (0 Mpa); 79,8 g L^{-1} (-0,1 Mpa); 121,1 g L^{-1} (-0,2 Mpa); 180,2 g L^{-1} (-0,4 Mpa); 264,2 g L^{-1} (-0,8 Mpa); 298,1 g L^{-1} (-1,0 Mpa) e 328,9 g L^{-1} (-1,2 Mpa), com 5 repetições, como desafio foi utilizado o fungo *Magnaporthe oryzae*.

A suspensão bacteriana foi preparada com meio caldo nutriente + concentrações de PEG + bactéria, colocadas sob agitação constante a 150rpm por 48 horas a 28°C. O fungo foi previamente crescido em meio de cultura batata dextrose ágar (BDA) por sete dias, de onde foram retirados discos de 5 mm de diâmetro e transferidos para centro de novas placas de Petri e em seguida foram distribuídos 15 µl da suspensão bacteriana, em quatro pontos equidistantes longe do fungo.

As placas foram incubadas a 28°C, sob luz branca contínua. Placas contendo apenas o disco de micélio de *M. oryzae* foram usadas como controle positivo. Após dez dias de incubação, foi feito a avaliação, medindo o diâmetro das colônias.

5.6 SUPRESSÃO DE BRUSONE FOLIAR EM ARROZ POR RIZOBACTÉRIA EM CONDIÇÕES DE DÉFICIT HÍDRICO.

O ensaio em casa de vegetação foi conduzido na Embrapa Arroz e Feijão, em Santo Antônio de Goiás - GO, Brasil, onde as plantas foram mantidas a uma temperatura de 34 ± 2 °C durante o dia e 26 ± 2 °C durante a noite com uma umidade relativa de 75 ± 5 %. O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 2, constituído de duas condições hídricas contrastantes (irrigado e déficit hídrico), duas diferentes inoculações com BRM 32111 (com e sem inoculação) com seis repetições.

Sementes de arroz da cultivar BRS Esmeralda, foram previamente desinfectadas e microbiolizadas com o melhor isolado bacteriano (BRM 32111) selecionado de acordo com resultados dos itens 6.3, 6.5, 6.6, 6.9 e 6.10. A desinfecção foi feita por imersão das sementes em álcool etílico 70 % (v/v) por 1 minuto, seguido de imersão em solução 2 % (v/v) de NaClO por 3 minutos, após, lavadas em água deionizada

e colocadas sobre papel de filtro para secagem. Para a microbiolização, o isolado bacteriano BRM 32111 foi cultivado em caldo nutriente (13 g L-1) a 28 °C por 24 h sob agitação constante de 150 rpm e, após, preparado suspensão bacteriana ajustada em espectrofotômetro a 540 nm para a concentração de 1x108 UFC mL-1. Em seguida, as sementes de arroz desinfectadas foram imersas na suspensão bacteriana e mantidas sob agitação constante de 150 rpm por mais 24 horas, a 28 °C. O controle foi feito pela imersão das sementes desinfectadas em água deionizada, nas mesmas condições. Após este período, as sementes foram retiradas da suspensão e secas em temperatura ambiente (Filippi et al., 2011).

A semeadura foi feita em bandejas plásticas com 3 kg de solo previamente seco ao ar livre, estabelecido sua capacidade de campo (CC) e o teor de água foi monitorado diariamente, através da diferença de massa nas bandejas, mantendo-as a 100 % da CC durante o período que antecedeu a imposição do déficit hídrico, através da reposição diária da água evapotranspirada. Esse processo foi estabelecido registrando a Massa Máxima do Vaso na CC (MVCC) (solo + água), com base na CC que determina a massa máxima de água retida pelo solo, tendo a Massa de Água de Referência (MAR), determinada pela diferença entre a Massa do Vaso na CC (MVCC) e a Massa do Vaso com Solo Seco (MVSS) (MAR = MVCC – MVSS) (Campos et al., 2004).

As sementes foram semeadas em quatro fileiras nas bandejas (20 sementes por fileira) contendo solo coletado da área de cerrado não cultivada, corrigido com 1,5 g de calcário dolomítico e adubado com 1 g de NPK (5-30-15) e 0,5 g de sulfato de amônio, de acordo com análise de macro e micro nutrientes (pH $CaCl_2$: 4,63; argila: 620 g kg^{-1}; silte: 140 g kg^{-1}; areia: 240 g kg^{-1}; K^+: 0,30 cmol dm^{-3}; P: 0,52 mg dm^{-3}; Ca^{+2}: 1,20 cmol dm^{-3}; Mg^{+2}: 0,60 cmol dm^{-3}; Al^{+3}: 0,40 cmol dm^{-3}; Si: 6,30 mg dm^{-3}). Aos 7 e 15 dias após a semeadura (DAS) foram feitas adubações de cobertura com sulfato de amônio na proporção de 1,5 g por bandeja diluídos em 100 mL de água, distribuídos via rega. Aos 15 DAS as mesmas bandejas que receberam as sementes microbiolizadas, foram submetidas a uma pulverização foliar com suspensão bacteriana ($1x10^8$ UFC mL-1) do mesmo bioagente, na dosagem de 100 mL bandeja-1 (Filippi et al., 2011).

O déficit hídrico iniciou ao 22° DAS, onde as bandejas destinadas ao estresse foram submetidas a restrição total de água por quatro dias consecutivos, até o 25° DAS. As trocas gasosas foram avaliadas no último dia de déficit hídrico, no período de 8 e 10 horas. Foram avaliadas taxa fotossintética líquida (A), taxa de transpiração (E), condutância

estomática (gs) e carbono interno (Ci). A partir dos valores e A e Ci foi obtido a eficiência de carboxilação da rubisco (A/Ci), e de A e E a eficiência do uso da água (A/E). Foi utilizado o analisador de gases infravermelhos (IRGA- Infrared Gas Analizer), modelo LCpro + ADC BioScientific. As medições foram realizadas em área de folha de 1,5 cm2 e o fluxo de ar na câmara na concentração de CO2 de 380 mmol mol-1. Foi utilizado uma densidade de fluxo de fótons (PPFD) de 1200 µmol m-2 s-1, com uma fonte de luz LED azul-vermelho e a temperatura da câmara foi de 28 °C.

5.6.1 Inoculação com M. oryzae

Foi usado o isolado BRM 31295 de M. oryzae pertencente a Coleção de Fungos e Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Arroz e Feijão. O isolado foi multiplicado em placa de Petri contendo meio ágar-aveia, incubadas em câmara de crescimento por sete dias a 25 °C e umidade de 80%. Após este período as estruturas fúngicas foram raspadas nas placas com bastão de vidro esterilizado, objetivando a retirada de micélio e indução da produção de conídios. Após, as placas abertas foram devolvidas para a câmara de crescimento, permanecendo por mais 48 horas, onde foram então lavadas com água destilada autoclavada e a suspensão formada foi filtrada com tecido de malha fina esterilizado. Em seguida foi realizada a contagem de conídios com auxílio de câmara de Neubauer e a suspensão ajustada para 3 x 105 conídios mL-1, conforme Filippi et al. (2007).

Aos 26 dias de cultivo as plantas foram transferidas para a sala de inoculação, onde foram mantidas em gaiolas vedadas com plástico transparente, em condições ambientais controladas, com temperatura entre 27 e 30° 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 cm-2, as folhas foram pulverizadas com 30 mL gaiola-1 da suspensão de conídios (Filippi et al., 2007). Para severidade de brusone foram feitas 4 avaliações (1, 3, 5 e 7 dias após a 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 Notteghem (1981), determinando a porcentagem da área foliar afetada pela doença.

5.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados obtidos foram submetidos a análise de variância. Quando observados efeitos dos tratamentos sobre as variáveis (F, $p \leq 0,05$), as médias foram comparadas pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$) para o teste de solubilização de fosfato, Scott knott ($p \leq 0,05$) para a germinação *in* vitro, e teste de Tukey ($p \leq 0,05$) para as demais variáveis. As análises foram realizadas por meio do software estatístico IBM SPSS Statistics 21.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO.

Com exceção do isolado BRM 32109 (*Bacillus cereus*), os demais solubilizaram fósforo (Tabela 1). Os isolados BRM 32113 (*Burkholderia pyrrocinia)*, BRM 32114 (*Serratia* sp.) e BRM 63523 (*Serratia marcescens)*, apresentaram os melhores índices de solubilização de fosfato insolúvel. A maioria do fósforo presente no solo encontra-se em forma não assimilável, por estar ligado a íons metálicos (alumínio, ferro, manganês), tornando-se o principal fator limitante do crescimento das plantas. (Li et al., 2017; Mpanga et al., 2019).

Segundo Zhang et al. (2017) em torno de 75-90% dos fertilizantes, inclusive os fosfatados aplicados ao solo se tornam indisponível por ligar-se a outros elementos. Uma alternativa para disponibilizar o fósforo para as plantas, é a utilização de rizobácterias solubilizadoras de fosfato que agem através da liberação de ácidos orgânicos, buscando modificar a acidez do meio que se encontra (Mise et al., 2020).

Tabela 1. Diâmetro médio do halo (DMH), diâmetro médio da colônia (DMC) e índice de solubilização de fosfato (IS) por rizobactérias em meio NBRIP suplementado com fontes externas de fosforo.

Código	Taxonomia	DMH	DMC	IS
BRM 32109	*Bacillus* sp.	1,32	1,32	1,00 d
BRM 32110	*Bacillus thuringiensis*	8,43	7,69	1,11 cd
BRM 32111	*Pseudomonas fluorescens*	7,47	7,43	1,06 d
BRM 32112	*Pseudomonas* sp.	6,29	5,88	1,07 d
BRM 32113	*Burkholderia pyrrocinia*	10,02	6,35	1,67 a
BRM 32114	*Serratia* sp.	10,07	7,02	1.44 abc
BRM 63523	*Serratia marcescens*	12,26	8,21	1,49 ab
BRM 63521	*Serratia marcescens*	8,94	7,73	1,16 bcd
BRM 63522	*Serratia* sp.	12,13	9,53	1,28 bcd

Médias seguidas por letras iguais não se diferem entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$).

Pode ser observado na figura 1, observa-se as colônias solubilizadoras de fósforo, e os melhores resultados observados em BRM 32113 (*Burkholderia pyrrocinia*), BRM 32114 (*Serratia* sp.) e BRM 63523 (*Serratia marcescens*). Solubilização *In vitro* é determinada através da formação de um halo em torno da colônia, onde se caracteriza a solubilização de fósforo de maneira positiva (Bahadir et al., 2018). Corroborando com nossos resultados, a eficiência na solubilização de fosfato dos gêneros *Serratia* e *Burkholderia* é relatada em estudos anteriores (Costa et al., 2015; Mohamed & Farag, 2020; Paredes Filho et al., 2020; Borgi et al., 2020).

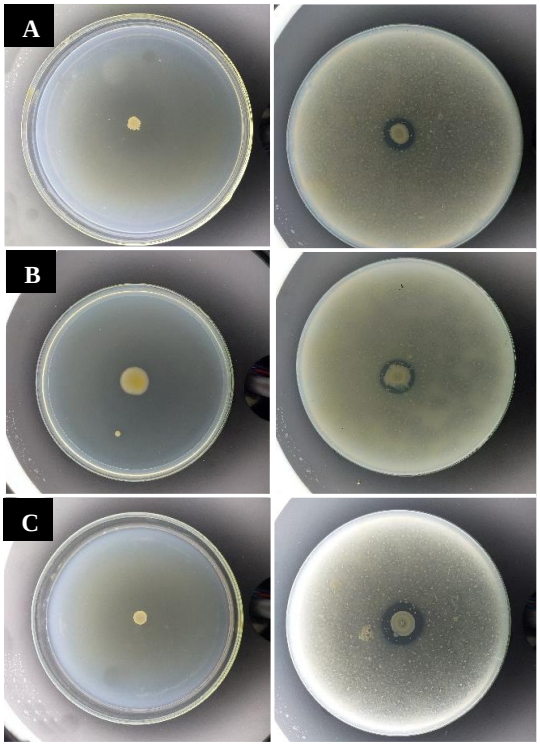

Figura 1. Solubilização de fosfato identificada pela formação de halo pelas rizobacterias, (A) BRM 32114 (*Serratia* sp.), (B) BRM 32113 (*Burkholderia pyrrocinia*), (C) BRM 63523 (*Serratia marcescens*).

6.2 ATIVIDADES DE ENZIMAS HIDROLÍTICAS.

Todas as bactérias produziram quitinase e lipase. Somente BRM 32111 (*Pseudomonas fluorescens*) e BRM 32112 (*Pseudomonas* sp.) não produziram celulase (Tabela 2). Assim como nossos resultados, estudos realizados por Djuric et al. (2011) utilizando vários isolados de *Pseudomonas flurescens*, demonstraram que não são produtoras de celulase.

Quanto à atividade amilolítica, foram produtores os isolados BRM 32109 (*Bacillus cereus*), BRM 32110 (*Bacillus thuringiensis*), BRM 63523 (*Serratia*

marcescens), BRM 63521 (*Serratia marcescens*), BRM 63522 (*Serratia* sp.). Resultados similares foram encontrandos por Whang et al. (2018), onde foram testados diversos isolados de *Bacillus*, no qual mais de 60% foram capazes de produzir as enzimas quitinase, amilase, celulase e lipase.

O isolado BRM 32114 (*Serratia* sp.) foi a única bactéria a demonstrar a produção da enzima protease. Tabli et al. (2018) relataram a capacidade de um isolado do gênero *Serratia* em produzir a enzima protease, mas não amilase, similar ao encontrado neste estudo. Enzimas hidrolíticas como quitinase possuem papel importante no controle biológico de diversas doenças de plantas, pois dispõem da capacidade da degradação das ligações glicosídicas da quitina (Jadhav et al. 2017).

Algumas dessas enzimas têm grande importância no solo. Uma alternativa viável para redução da degração e manutenção das atividades enzimáticas no solo é a utilização de plantio direto (Balota et al., 2004). Atividades enzimáticas no solo pode ser um indicativo de qualidade, estas enzimas participam de algumas reações metabólicas intercelulares, atuam como catalizadores na degradação de resíduos orgânicos, ciclagem de nutrientes, remoção de poluentes, formação e degradação da matéria orgânica e formação da estrutura do solo (Kangabam et al., 2019; Balota et al., 2013).

Tabela 2. Índice de solubilização das enzimas extracelulares quitinase, celulase, lipase, amilase e protease de 9 isolados de rizobactérias.

Rizobactérias	Atividade quantitativa e qualitativa				
	Quitinase	Celulase	Lipase	Amilase	Protease
BRM 32109	1,56 ab (+)	1,36 bc (+)	2,16 cde (+)	2,11 ab (+)	1,00 b (-)
BRM 32110	1,62 ab (+)	1,41 bc (+)	1,93 de (+)	1,51 bc (+)	1,00 b (-)
BRM 32111	1,49 ab (+)	1,00 c (-)	2,91 ab (+)	1,00 c (-)	1,00 b (-)
BRM 32112	1,45 ab (+)	1,00 c (-)	3,21 a (+)	1,00 c (-)	1,00 b (-)
BRM 32113	1,41 ab (+)	1,59 b (+)	2,56 bcd (+)	1,00 c (-)	1,00 b (-)
BRM 32114	1,31 b (+)	4,41 a (+)	2,46 bcd (+)	1,00 c (-)	2,45 a (+)
BRM 63523	1,77 a (+)	1,67 b (+)	1,77 e (+)	2,45 a (+)	1,00 b (-)
BRM 63521	1,66 ab (+)	1,68 b (+)	2,57 bc (+)	1,72 b (+)	1,00 b (-)
BRM 63522	1,61 ab (+)	1,00 c (-)	2,47 bcd (+)	1,98 ab (+)	1,00 b (-)

Médias seguidas por letras iguais não se diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).
(+) demonstra produção das respectivas enzimas, (-) demonstram a não produção.

6.3 PRODUÇÃO DE SIDERÓFOROS.

Todos os isolados foram produtores de sideróforos, tendo destaque as bactérias BRM 32112 (*Pseudomonas* sp) e BRM 32111 (*Pseudomonas fluorescens*) com índice de unidade percentuais de 85,73 e 83,47% respectivamente (Figura 2). Estudos realizados por Subramanium & Sundaram (2020), indicaram que o gênero *Pseudomonas* como um poderoso produtor de sideróforo, onde dentre elas se destaca a *Pseudomonas fluorescens*.

Sideróforos são compostos orgânicos de baixo peso molecular, que possuem ação quelante, podendo ser produzidas por alguns organismos como bactérias, fungos ou plantas devido à deficiência de ferro (Ghosh et al., 2020). As rizobactérias promotoras do crescimento são conhecidas por facilitar e potencializar a eficiência na absorção de Fe pela planta (Sarwar et al., 2020).

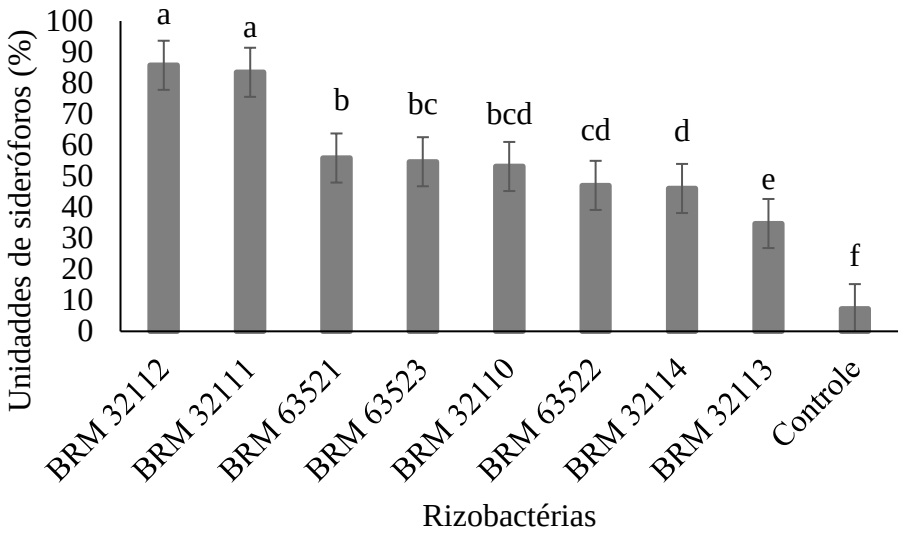

Figura 2. Produção de sideróforos por rizobactérias em porcentagem de unidades de sideróforos (SU%), obtido por SU% = [(Absorbância do controle - Absorbância da amostra) / Absorbância do controle] x 100. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$). BRM 32112(*Pseudomonas* sp); BRM 32111 (*Pseudomonas fluorescens*)*;* BRM 63521 (*Serratia marcescens*); BRM 63523 (*Serratia marcescens*); BRM 32110 (*Bacillus thuringiensis*) BRM 63522 (*Serratia* sp.); BRM 32114 (*Serratia* sp.); BRM 32113 (*Burkholderia pyrrocinia*)*;* BRM 32109(*Bacillus cereus*).

O ferro (Fe) é imprescindível para praticamente todas as formas de vida (Sharma et al., 2019). Embora o Fe seja um dos elementos mais abundantes da crosta terrestre, possui alta fixação no solo e baixa solubilização, afetando diretamente na absorção do Fe pela raiz das plantas (Abadia et al., 2011), portanto bactéria produtoras de

sideróforos são desejáveis tanto para a planta quanto o controle de patógenos, uma vez que o ferro possui ação fungicida.

6.4 PRODUÇÃO DE BIOFILME.

Pode ser observado na figura 3 que todas as bactérias produziram biofilme. Utilizando o método qualitativo pode-se notar a mudança na coloração do meio vermelho de congo para uma coloração escura, isso demostra a produção de biofilme. O biofilme é formado através da agregação de células bacterianas unidas de forma irreversível, e podem aderir-se a superfícies bióticas, como as raízes e folhas das plantas, como também e superfícies abióticas (Alaa, 2018).

Estas células agregadas possuem um revestimento que constituído por polissacarídeos e outras macromoléculas, capaz de conferir um maior nível resistência aos estresses ambientais (Danhorn et al., 2004) A produção de biofilme pelas PGPRs possui vantagens sobre as cepas não formadoras, pois podem colonizar e realizar com maior eficiência seus papeis benéficos sobre as plantas, não havendo problemas com competição (Begum et al., 2018; Ansari & Ahmad, 2019).

Figura 3. Produção qualitativa de biofilme pelas rizobactérias, indicada pela mudança de coloração de vermelho para preto do meio de cultura utilizado.

Observando a (Tabela 3) o isolado BRM 32113 (*Burkholderia pyrrocinia)* demonstrou quantitativamente forte produção de biofilme. Já a BRM 32110 (*Bacillus thuringiensis*), BRM 32112 (*Pseudomonas* sp.), BRM 32114 (*Serratia* sp.), BRM 63523 (*Serratia marcescens*), BRM 63521 (*Serratia marcescens*) e BRM 63522 (*Serratia*

marcescens), demostraram capacidade moderada, enquanto BRM 32109 (*Bacillus cereus*) e BRM 32111 (*Pseudomonas fluorescens)* demosntraram capacidade baixa de formação de biofilme.

Tabela 3. Produção de biofilme por rizobactérias promotoras de crescimento vegetal, utilizando o método CAS.

Bactérias	Taxonomia	Absorbância	Produção
BRM 32109	*Bacillus* sp.	0,140	Fraca
BRM 32110	*Bacillus thuringiensis*	0,256	Moderado
BRM 32111	*Pseudomonas fluorescens*	0,138	Fraca
BRM 32112	*Pseudomonas* sp.	0,258	Moderado
BRM 32113	*Burkholderia pyrrocinia*	0,431	Forte
BRM 32114	*Serratia* sp.	0,234	Moderado
BRM 63523	*Serratia marcescens*	0,244	Moderado
BRM 63521	*Serratia marcescens*	0,291	Moderado
BRM 63522	*Serratia* sp.	0,283	Moderado

Quantificação de biofilme pelo teste em microplaca coradas com corante cristal violeta, escalonada a intensidade da produção de slime de acordo com absorbância (570 nm): forte (> 0,3), moderada (>0,2 e <0,3), fraca (>0,1 e <0,2).

6.5 PRODUÇÃO DE AIA.

A determinação da produção de AIA é obtida pela comparação do resultado de cada bactéria em relação a curva padrão, obtida por concentrações conhecidas de ácido indolacético, que pode se observar na Figura 4.

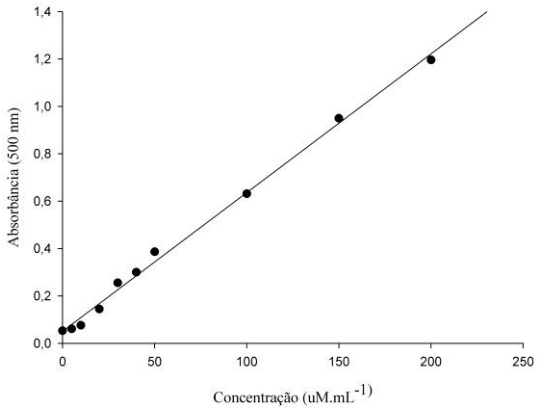

Figura 4. Curva padrão do Fitohormônio Acido Indolacético (AIA), utilizando diferentes concentrações conhecidas.

Observa-se na figura 5 que todas as bactérias testadas produziram do fitohormônio AIA, com concentrações variadas entre 1,4 e 10,7 µg. mL^{-1}. Entre os isolados analisados, a concentração máxima de AIA foi observada na BRM 32111 (*Pseudomonas fluorescens)*. Os isolados BRM 63523 (*Serratia marcescens*), BRM 63521 (*Serratia marcescens*) e BRM 63522 (*Serratia* sp.), demonstram baixa produção do hormônio vegetal. Estudo semelhantes realizado por Goryluk-Salmonowicz et al. (2018) e Astriani et al. (2020) demonstram que o gênero *Pseudomonas* apresenta elevado potencial na sintese de AIA.

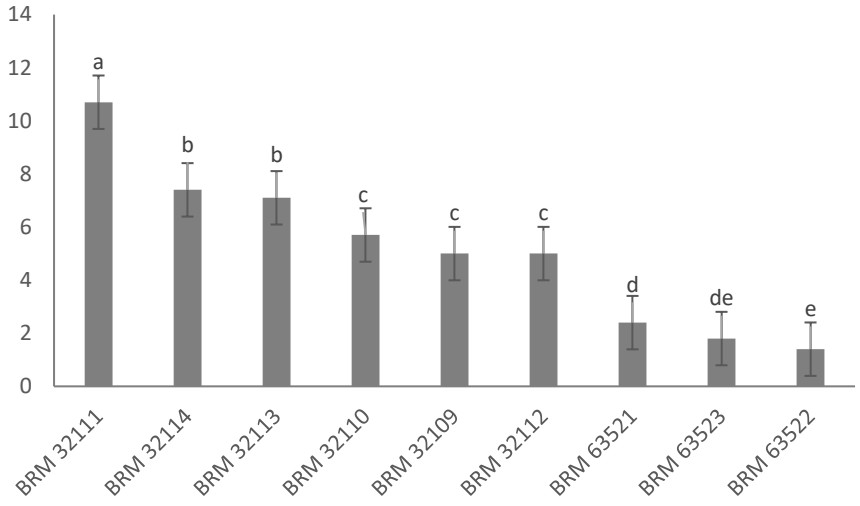

Figura 5. Produção de (AIA) por rizobactérias. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$). BRM 32111 (*Pseudomonas fluorescens*); BRM 32114 (*Serratia* sp.); BRM 32113 (*Burkholderia pyrrocinia*)*;* BRM 32110 (*Bacillus thuringiensis*); BRM 32109 (*Bacillus cereus*); BRM 32112(*Pseudomonas* sp); BRM 63521 (*Serratia marcescens*); BRM 63523 (*Serratia marcescens*); BRM 63522 (*Serratia* sp.).

O AIA é o fitohormônio natural mais importante entre as auxinas, podendo também ser sintetizado por bactérias e fungos além das plantas (Duca et al., 2014). Segundo Etesami & Maheshwari (2018), aproximadamente 80% das bactérias encontradas na rizosfera possuem a capacidade de produzir AIA. Esta síntese ocorre através do metabolismo do L-triptofano, sendo uma das auxinas mais fisiologicamente ativas (Maharana, 2019). Estimula a produção de raízes laterais em vários estágios da planta, pode ser translocadas das raízes para para outras partes podendo promover o crescimento da planta e o aumento de raízes adventícias (Casemiro et al., 2001). Portanto estes resultados elegem estes isolados como potenciais promotores de crescimento.

6.6 PRODUÇÃO ENZIMA ACC DEAMINASE.

Quanto a produção da enzima ACC deaminase pode se observar que todos os isolados demonstraram capacidade na síntese da enzima. A BRM 32111 (*Pseudomonas fluorescens*) demonstrou médias superiores quanto aos demais, tendo a BRM 32110 (*Bacillus thuringiensis)*, BRM 32109 (*Bacillus cereus*) e BRM 32112 (*Pseudomonas* sp), com menores médias (Figura 6). Estudo realizado por Dey et al. (2004) demonstrou que a bactéria *Pseudomonas fluorescens* possuem aptidão na produção da enzima ACC deaminase assim como alta produção de siderófos e AIA.

O fitohôrmonio etileno é liberado em resposta a estímulos bióticos e abióticos, sendo fundamental em diversos processos de desenvolvimento e respostas a plantas induzidas a estresses (Pei et al., 2017; Achard et al.,2006). As plantas condicionadas ao déficit hídrico aumentam a produção de etileno, tendo um efeito negativo em relação ao crescimento (Danish & Zafar-ul-Hye, 2020; Kumar et al., 2020).

Um dos principais mecanismos utilizados pelas rizobactérias para reduzir a concentração de etileno, ocorre através da hidrólise do ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC), através da síntese de ACC deaminase (Gupta & Pandey, 2019). O ACC é degradado dando origem a α-cetobutirato e amônia (Orozco-Mosqueda et al., 2020).

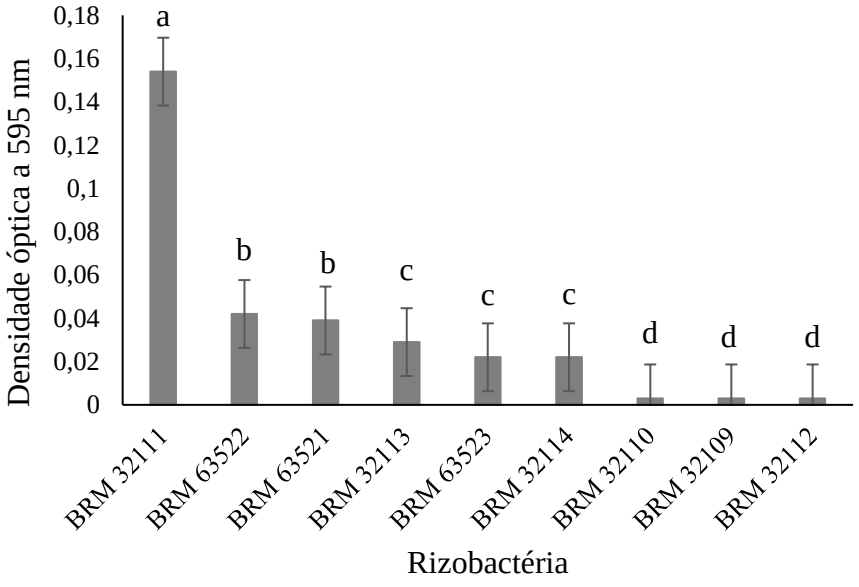

Figura 6. Produção da enzima ACC deaminase por isolados de rizobactérias, Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05) BRM 32111 (*Pseudomonas fluorescens*); BRM 63522 (*Serratia* sp.); BRM 63521 (*Serratia marcescens*); BRM 32113 (*Burkholderia pyrrocinia*)*;* BRM 63523 (*Serratia marcescens*); BRM 32114 (*Serratia* sp.); BRM 32110 (*Bacillus thuringiensis*); BRM 32109 (*Bacillus cereus*); BRM 32112(*Pseudomonas* sp).

As rizobactérias que secretam AIA e sintetizam a ACC deaminase possuem maior capacidade em regular a concentração de etileno com a planta em estresse, em relação as que secretam AIA mais não sintetizam ACC deaminase. (Glick et al., 2014). Observa-se que todos os isolados foram produtores do fitohôrmonio AIA e capazes de sintetizar a ACC deaminase, demonstrando possuir grande potencial para a mitigação dos efeitos do déficit hídrico. O etileno desempenha papel importante afetando a raiz de forma negativa interferindo no seu crescimento e retardando seu alongamento por afetar a síntese e a distribuição das auxinas (Swarup et al., 2012). As bactérias que sintetizam ACC deaminase possuem a capacidade de reduzir a síntese de etileno através da quebra da ACC, tornando o balanço hormonal mais favorável aos hormônios promotores de crescimento.

6.7 SELEÇÃO DE ISOLADOS DE RIZOBACTÉRIAS RESISTENTES A PRESSÃO OSMÓTICA SIMULADO PELO POLIETILENOGLICOL (PEG 6000).

Todos os 9 isolados bacterianos foram capazes de crescer em meio de cultura com diferentes níveis de pressão osmótica, simulado por PEG 6000. Os gradientes osmóticos foram de -0,1 Mpa; -0,2 Mpa; -0,4 Mpa; -0,8 Mpa; -1,0 Mpa e -1,2 Mpa. De acordo com a concentração de células observadas ao longo de todo o período avaliado, foi possível observar que o crescimento exponencial também denominado de fase log ocorreu às 21 horas, logo após, é iniciada a fase estacionária onde a quantidade de células bacterianas mortas e vivas entram em equilíbrio, sendo estendida até as 48 horas (Figuras 7, 8 e 9).

Constantemente as plantas são condicionadas a tipos diferentes de estresses, afetando diretamente no seu crescimento, dentre os estresses abióticos que afeta a cultura do arroz, o estresse osmótico se mostra o mais grave, ocasionado principalmente por falta de água e salinidade dos solos (Zang & Komatsu, 2007). As PGPRs possuem a capacidade de auxiliar no aumento da absorção de água e nutrientes, além da intensificação de tolerância a estresses bióticos e abióticos (Keswani et al., 2020; Yousef, 2018). A utilização dessas rizobactérias como controle biológico vem sendo estudadas nas últimas décadas visando uma agricultura sustentável devido seus efeitos benéficos sobre produtividades e auxílio na proteção a condições adversas (Ramakrishna et al., 2019).

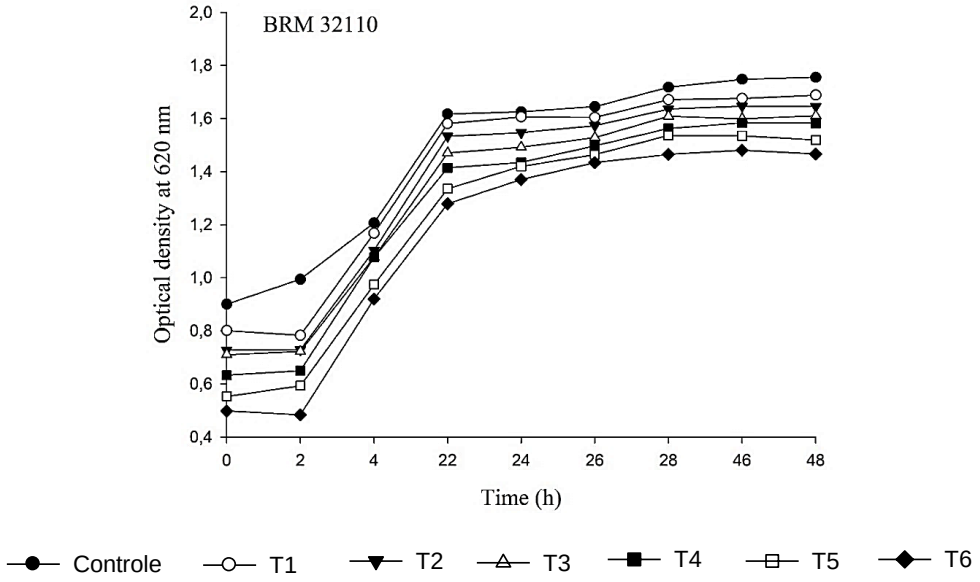

Figura 7 Densidade optica do isolado BRM 32110 (*Bacillus cereus*), em distintas concentrações de polietilenoglicol 6000. Utilizando como controle o meio mínimo M9 sem a adição de PEG. Os tratamentos são as concentrações de PEG sendo 0 g L-1(M9), 79,8 g L-1 (T1), 121,1 g L-1(T2), 180,2 g L-1 (T3); 264,2 g L-1(T4); 298,1 g L-1 (T5) e 328,9 g L-1 (T6).

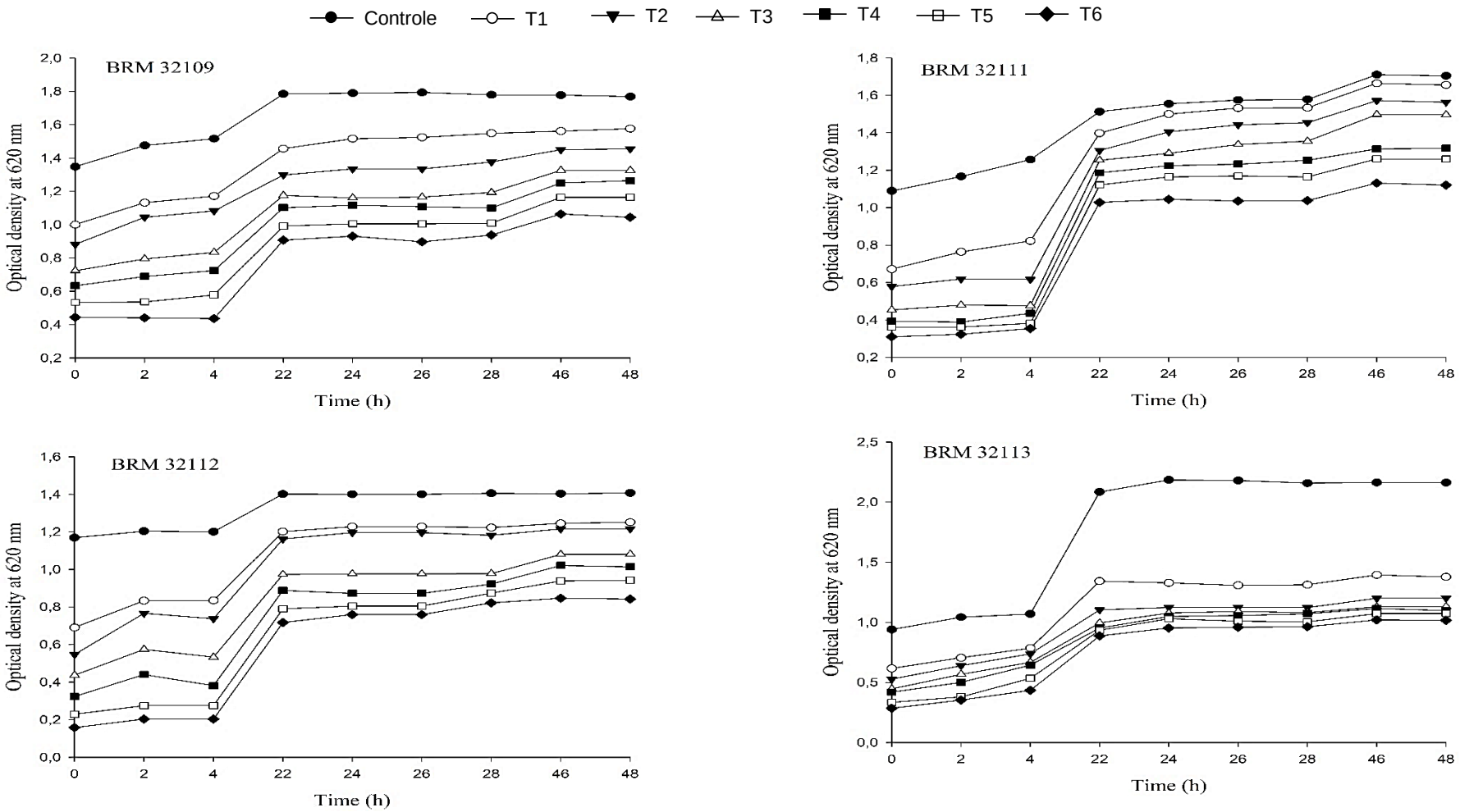

Figura 8. Densidade optica dos isolados BRM 32109 (*Bacillus cereus*), BRM 32111 (*Pseudomonas fluorescens*), BRM 32112 (*Pseudomonas* sp.) e BRM 32113 (*Burkholderia pyrrocinia*), em distintas concentrações de polietilenoglicol 6000. Utilizando como controle o meio mínimo M9 sem a adição de PEG 6000. Os tratamentos são as concentrações de PEG sendo 0 g L^{-1}(M9), 79,8 g L^{-1} (T1), 121,1 g L^{-1}(T2), 180,2 g L^{-1} (T3); 264,2 g L^{-1}(T4); 298,1 g L^{-1} (T5) e 328,9 g L^{-1} (T6).

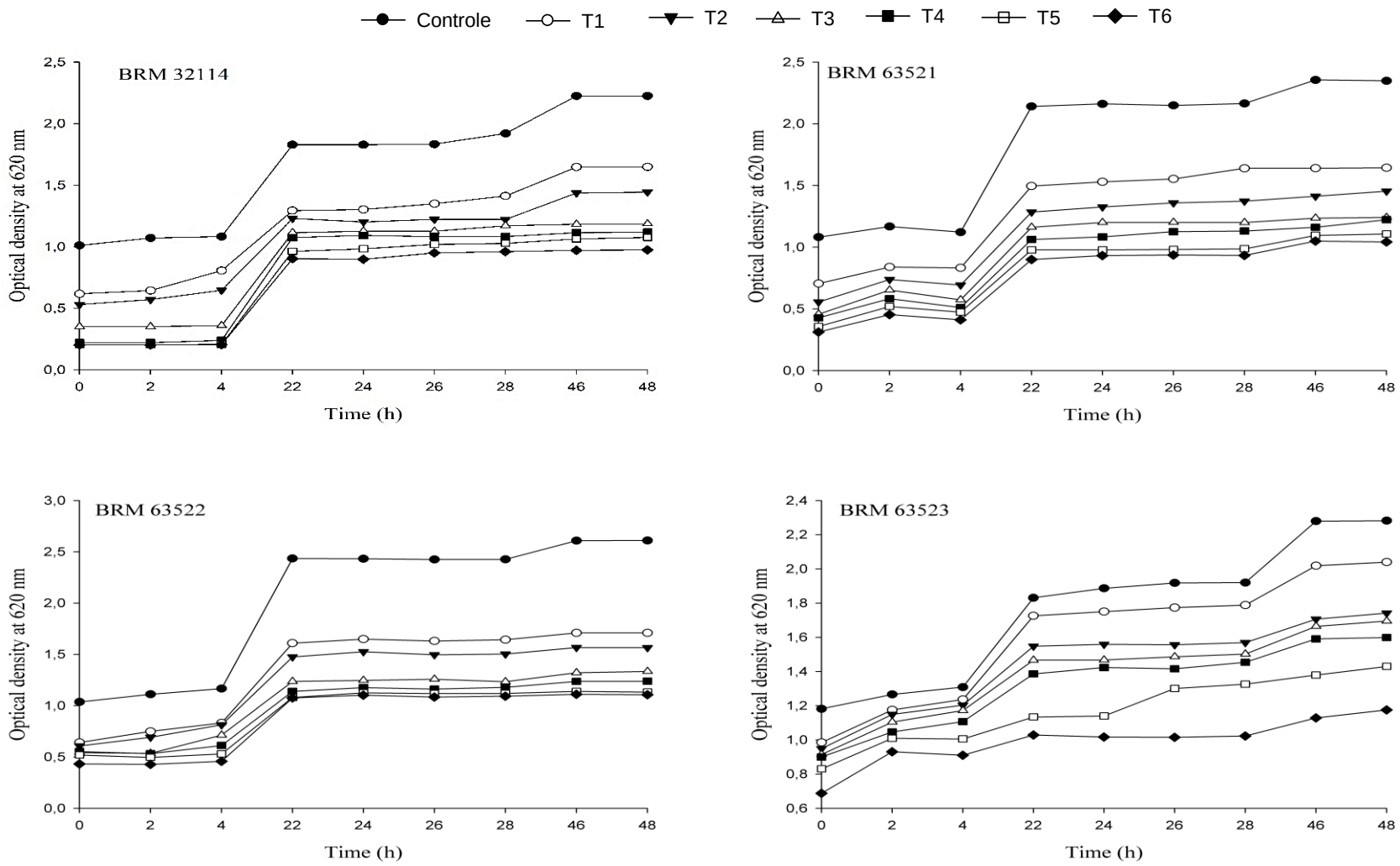

Figura 9. Densidade optica dos isolados BRM 32114 (*Serratia* sp.), BRM 63521 (*Serratia marcescens*), BRM 63522 (*Serratia* sp.) e BRM 63523 (*Serratia marcescens*), em distintas concentrações de polietilenoglicol 6000. Utilizando como controle o meio mínimo M9 sem a adição de PEG 6000. Os tratamentos são as concentrações de PEG sendo 0 g L^{-1}(M9), 79,8 g L^{-1} (T1), 121,1 g L^{-1} (T2), 180,2 g L^{-1} (T3); 264,2 g L^{-1}(T4); 298,1 g L^{-1} (T5) e 328,9 g L^{-1} (T6).

Observa-se que houve diferenças estatística entre o número de células de cada bactéria, determinada ao longo do tempo. Destacaram os isolados BRM 32110 (*Bacillus thuringiensis*), BRM 32111 (*Pseudomonas fluorescens*) e BRM 63523 (*Serratia marcescens*) que apresentaram as maiores concentrações de células sob as mais altas concentrações de PEG 264,2 g L^{-1} (-0,8 Mpa); 298,1 g L^{-1} (-1,0 Mpa) e 328,9 g L^{-1} (-1,2 Mpa) (Tabela 4). Trabalho similar relatado por Niu et al. (2018), demonstra a efetividade de rizobactérias do gênero *Pseudomonas* em promoverem o crescimento vegetal, assim como a mitigação do déficit hídrico. Arun et al. (2020) relatou a alta tolerância do gênero *Bacillus* à estresse por falta de água na cultura do arroz. Analisando individualmente, cada isolado, em cada concentração podemos observar que as três (BRM 32110, BRM 32111 e BRM 63523) possuem um crescimento mais homogêneo ao longo do gradiente osmótico, demostrando adaptação para desenvolverem se em ambientes adversos, como com alta pressão osmótica, simulando o déficit hídrico.

A BRM 32112 (*Pseudomonas* sp.) como demonstrada na tabela 4 cresceu de forma uniforme entre as concentrações, mais quando comparada as demais como BRM 32110 (*Bacillus thuringiensis*), BRM 32111 (*Pseudomonas fluorescens*) e BRM 63523 (*Serratia marcescens*), apresentou médias inferiores, sugerindo que as altas concentrações de PEG influenciou negativamente seu crescimento. Quanto aos demais isolados BRM 63521 (*Serratia marcescens*), BRM 63522 (*Serratia* sp.), BRM 32109 (*Bacillus cereus*), BRM 32113 (*Burkholderia pyrrocinia*) e BRM 32114 (*Serratia* sp.) apresentaram, nas primeiras concentrações de PEG médias de crescimento satisfatórias, porém quando submetidas a às maiores concentrações de PEG, o crescimento reduziu de forma drástica. Nas figuras 10, 11 e 12 observa-se que a curva de crescimento dos isolados BRM 32109 (*Bacillus cereus*), BRM 32110 (*Bacillus thuringiensis*), BRM 32111 (*Pseudomonas fluorescens*), BRM 32112 (*Pseudomonas* sp.), BRM 32114 (*Serratia* sp.) e BRM 63523 (*Serratia marcescens*) em concentaçoes distintas de PEG podem ser explicados por regressão linear negativa, e com coeficiente de regressão linear significativo. Já a curva de crescimento dos isolados BRM 32113 (*Burkholderia pyrrocinia*), BRM 63521 (*Serratia marcescens*), e BRM 63522 (*Serratia* sp.) podem ser explicados por regressão polinomial.

Tabela 4. Crescimento bacteriano em meio suplementado com diferentes concentrações de PEG-6000, durante 48 horas de monitoramento.

Pressão osmótica	Bioagentes								
	BRM 32109	BRM 32110	BRM 32111	BRM 32112	BRM 32113	BRM 32114	BRM 63523	BRM 63521	BRM 63522
0	0,47 Da	0,46 Da	0,44 Da	0,33 Ea	0,70 Ca	0,74 BCa	0,78 BCa	0,84 Ba	1,09 Aa
79,8	0,39 BCab	0,43 Bab	0,42 Ba	0,28 Dab	0,32 CDb	0,42 Bb	0,62 Ab	0,41 BCb	0,44 Bb
121,1	0,34 BCbc	0,41 ABab	0,38 ABab	0,27 Cab	0,26 Cbc	0,34 BCbc	0,46 Ac	0,34 BCbc	0,38 ABbc
180,2	0,30 Cbcd	0,40 ABab	0,36 BCabc	0,24 Cab	0,25 Cbc	0,26 Ccd	0,44 Ac	0,28 Ccd	0,30 BCcd
264,2	0,28 Bcd	0,39 Aab	0,30 Bbcd	0,22 Bc	0,24 Bbc	0,25 Bd	0,40 Acd	0,27 Bcd	0,28 Bd
298,1	0,26 BCcd	0,37 Aab	0,27 BCcd	0,21 Cc	0,23 Cbc	0,23 Cd	0,33 ABde	0,24 Cd	0,25 BCd
328,9	0,23 Bd	0,35 Ab	0,25 Abe	0,19 Bc	0,22 Bc	0,21 Bd	0,26 Abe	0,23 Bd	0,24 ABd

Médias seguidas por letras iguais não se diferem entre si, maiúscula na coluna e minúscula na linha, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

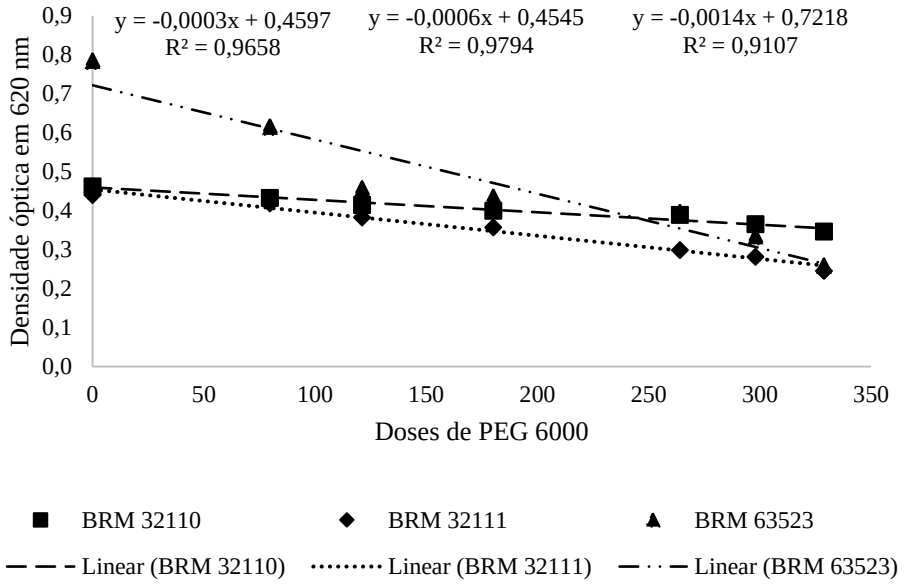

Figura 10. Densidade optica dos isolados BRM 32110 (*Bacillus thuringiensis*), BRM 32111(*Pseudomonas fluorescens*) e CHI R1 (*Serratia marcescens*) cultivados em meio mínimo M9 com diferentes concentrações de PEG-6000, submetidos a analises de regressão.

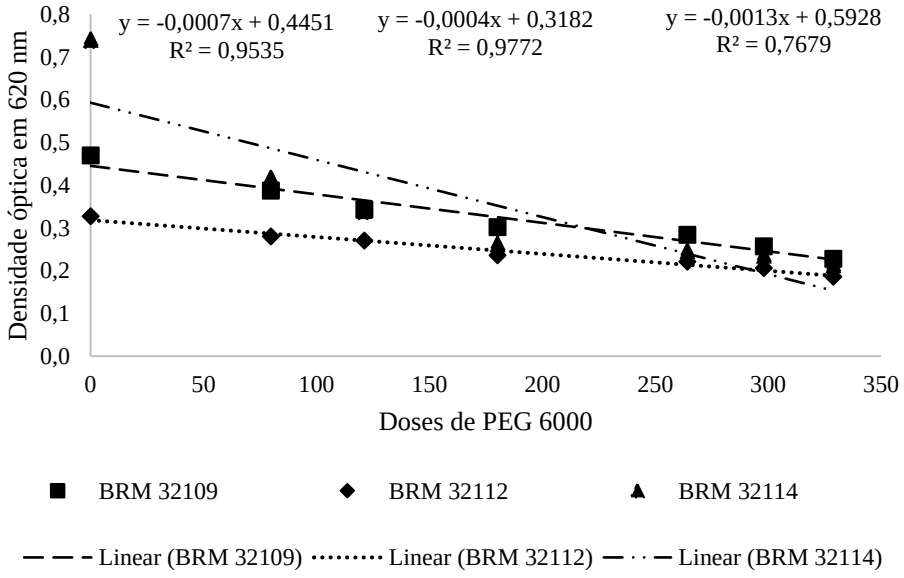

Figura 11. Densidade optica dos isolados BRM 32109 (*Bacillus cereus*), BRM 32112 (*Pseudomonas* sp.) e BRM 32114 (*Serratia* sp.) cultivados em meio mínimo M9 com diferentes concentrações de PEG-6000, submetidos a analises de regressão.

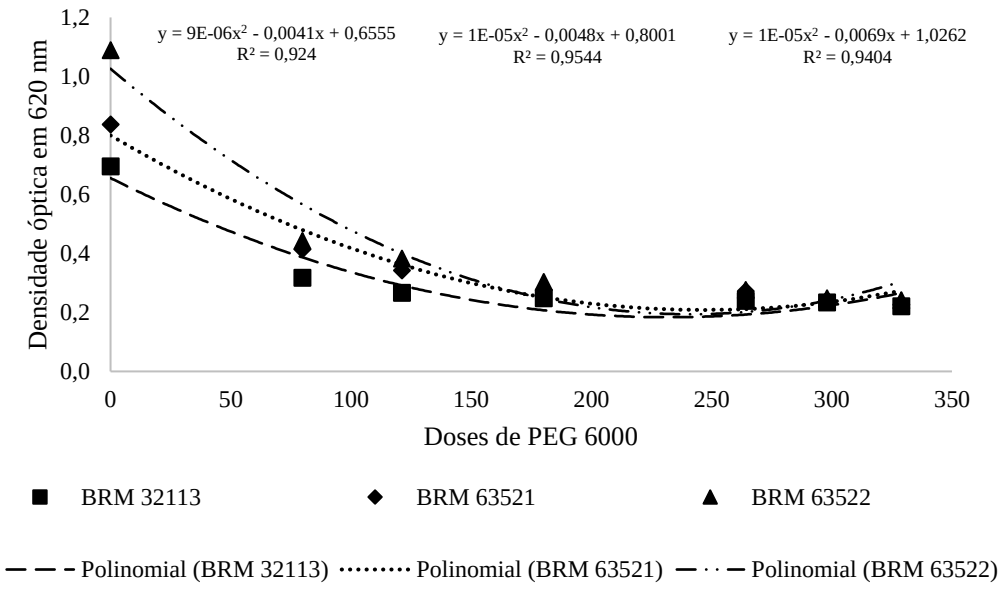

Figura 12. Curva de crescimento polinomial dos isolados BRM 32113 (Burkholderia pyrrocinia), BRM 63521 (*Serratia marcescens*) e BRM 63522 (*Serratia* sp.), cultivados em meio mínimo M9 com diferentes concentrações de PEG-6000.

6.8 DETERMINAÇÃO DE CÉLULAS VIÁVEIS.

Os 3 isolados, BRM 32110 (*Bacillus thuringiensis*), BRM 32111 (*Pseudomonas fluorescens*) e BRM 63523 (*Serratia marcescens*), selecionados no ensaio anterior, cresceram em todas as concentrações de PEG 6000. Observa se que BRM 21110 (*Bacillus thuringiensis*) apresentou curvas de crescimento sem declínio, diferentemente dos demais isolados. Observa-se uma relação negativa entre o gradiente das concentrações de PEG e o número de Unidades Formadoras de Colônia (UFC), quanto maior a concentração, menor o número de células viáveis, demonstrado que as altas concentrações de PEG simulam um ambiente de alta pressão osmótica. (Figura 13).

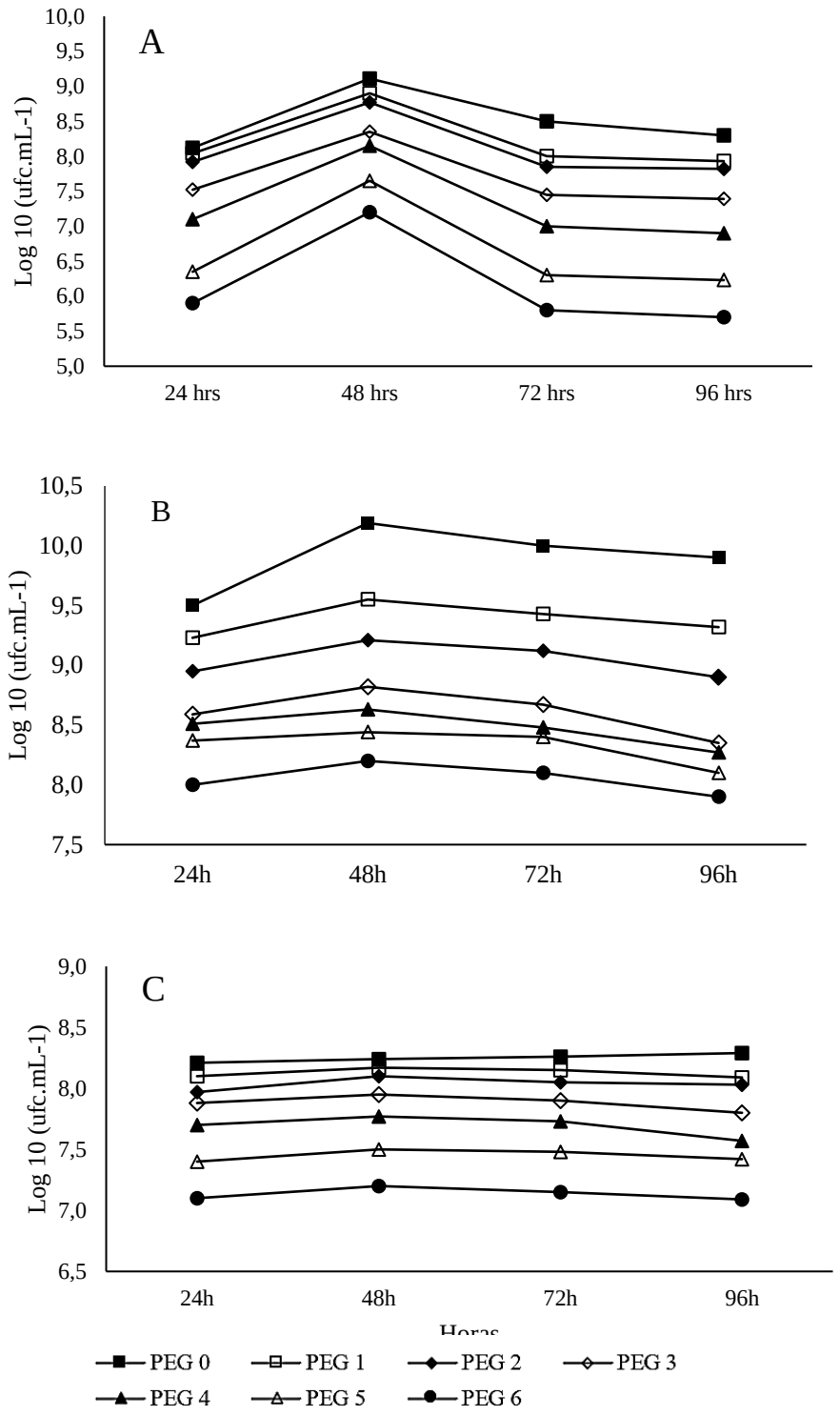

Figura 13. Contagem de células viáveis, (A) BRM 32111 (*Pseudomonas fluorescens*), (B) BRM 63523 (*Serratia marcescens*), (C) BRM 32110 (*Bacillus thuringiensis*) em distintas concentrações de polietilenoglicol 6000. Os tratamentos são as concentrações de PEG sendo 0 g L^{-1} (M9), 79,8 g L^{-1} (T1), 121,1 g L^{-1}(T2), 180,2 g L^{-1} (T3); 264,2 g L^{-1} (T4); 298,1 g L^{-1} (T5) e 328,9 g L^{-1} (T6).

6.9 GERMINAÇÃO *IN* VITRO DE PLANTAS EM CONDIÇÕES DE DÉFICIT HÍDRICO INDUZIDO POR POLIETILENOGLICOL 6000.

Todos os três isolados testados promoveram o desenvolvimento das plântulas, quando comparado com o controle. O isolado BRM 32111 (*Pseudomonas fluorescens*) demonstrou ser promissor para assegurar a germinação das sementes da cv. Esmeralda, nas diferentes concentrações de PEG, enquanto BRM 32110 (*Bacillus thuringiensis*) e BRM 63523 (*Serratia marcescens*) asseguraram a germinação das sementes nas 4 primeiras concentrações de PEG, mas não asseguraram nas maiores concentrações (298,1 e 328,9 gL^{-1}) (Tabela 5). A produção de auxinas está relacionada a indução da germinação de sementes. Isso pode explicar, em parte os resultados apresentados pelo isolado BRM 32111 (*Pseudomonas fluorescens*), tendo em vista que esse isolado também foi o maior produtor de AIA nesse trabalho.

Sementes microbiolizadas com o isolado BRM 32111 (*Pseudomonas fluorescens*) crescidas em meio de cultura sem PEG (T2) apresentaram CRT 107% maior que sementes sem microbiolização e sem PEG (T1), e também maior que os demais tratamentos. As PGPR possuem a capacidade de estimular o crescimento de plantas principalmente pela regulação de hormônios como o AIA, e síntese de enzimas como a ACC deaminase (Vasseur-Coronado et al., 2021), o que pode explicar a diferença entre estes tratamentos. Os tratamentos T3, T4, e T5 apresentaram CRT menores que T2 em 30%, 38% e 40%, respectivamente, e maiores que T1 em 46%, 27% e 24%, repectivamente. Os tratamentos T6, T7 e T8 não foram estatisticamente superiores que T1, o que nos indica que, mesmo com as maiores concentrações de PEG, o desenvolvimento da raiz foi semelhante ao controle absoluto, indicando a proteção exercida pelo isolado BRM 32111.

Para CRMF, T2 apresentou um aumento de 42% em relação a T1, e as melhores médias foram observadas em T3, T4 e T5, que apresentaram aumento de 150, 131 e 102%, respectivamente em relação a T1. Os tratamentos T6, T7 e T8 não apresentaram diferenças entre si e entre T1 e T2. A mesma tendência foi observada em ASRMF. Isto pode ser explicado pela capacidade das auxinas em induzirem o aumento do número de de raízes laterais e adventícia, assim como redução no alongamento (Quiroga et al., 2020; Davis, 1995).

Não foram observadas diferenças entre as médias de CRF e ASRF. Já para CRG, T2 foi 163% maior que T1, e estatisticamente superior a todos os demais

tratamentos. Com exceção de T8, os tratamentos apresentaram médias superiores que T1. Quanto a ASRG, T2 apresentou-se superior seguido de T3 e T7.

Sementes microbiolizadas com BRM 32110 (*Bacillus thuringiensis*), demonstraram maior CTR e CRG nos tratamentos T2 e T3, com 58 e 41% para CRT e 36 e 14% para CRG em comparação com T1 sem bactéria e sem PEG. Em CRMF e ASRMF ambas obtiveram melhores resultados em T3 com médias 65 e 112% respectivamente em relação ao controle (T1). CRF e ASRF nos tratamentos T2, T3, T4 e T5, demonstram melhores médias sendo CRF (200%, 147%, 165% e 166%) e ASRF (255%, 219%, 221%, 274%) maiores em comparação com T1. Pode ser observado que conforme a bactéria foi submetidas as concentrações de PEG mais altas, a produção de raízes laterais mais finas foram aumentando. AST somente no T6 demonstrou diferença significativa dos demais sendo 81% menor que o controle e 180% menor que o T2 com bactéria sem PEG. Em ASRG o tratamento T2 foi 44% superior ao T1, e diferindo estatisticamente dos demais. Nas duas maiores concentrações de PEG (T7 e T8) as sementes não conseguiram germinar mesmo em contato com a BRM 32110 (*Bacillus thuringiensis*).

Sementes microbiolizadas com BRM 63523 para CTR, AST e ASRG demonstratam melhores médias nos tratamentos T2 e T3, sendo 68% e 36% para CTR, 70% e 65% para AST e 76 e 72% em ASRG quando comparadas ao T1, diferindo dos demais tratamentos. Para CRMF e ASRMF obtiveram os melhores resultados em T3, sendo 99% e 116% maior que o controle sem bactéria e sem PEG (T1). CRG foi 65% superior que o tramento controle (T1), sendo que para CRF e ASRF não apresentou diferença significativa entre os tramentos. Da mesma forma que as sementes microbiolizadas com BRM 32110 quando condicionadas as maiores concentrações as sementes não conseguiram germinar.

Sob estresse hídrico, as raízes finas denominadas também de raízes funcionais estão diretamente relacionadas com o transporte de água e nutrientes (Lima et al., 2020; Xiao et al., 2020). Como as plantas encontravam com espaço limitante dentro dos tubos de ensaio o alongamento radicular foi inibido evitando gastos energéticos da planta e em resposta aumentaram a produção de raízes muito finas, resposta essa da planta em busca de maior absorção de água e nutriente no meio de cultura.

Tabela 5. Comprimento superfície total de raiz (CTR), comprimento de raiz muito fina (CRMF), comprimento de raiz fina (CRF), comprimento de raiz grossa (CRG), área de superfície total de raiz (AST), área de superfície de raiz muito fina (ASRMF), área de superfície de raiz fina (ASRF) e área de superfície de raiz grossa (ASRG) de plantas de arroz submetidas a déficit hídrico induzido por diferentes doses de polietilenoglicol 6000.

Isolado	Trat.	Dose PEG-6000 (g L^{-1})	Características							
			CTR	CRMF	CRF	CRG	AST	ASRMF	ASRF	ASRG
			---------- cm ----------				---------- cm^2 ----------			
BRM 32111	T1	Controle [1]	215,97 c	15,13 b	78,41 a	122,43 c	153,46 c	1,36 b	31,18 a	120,92 c
	T2	0	448,40 a	21,52 b	104,20 a	322,67 a	394,39 a	2,18 b	33,44 a	358,77 a
	T3	79,8	316,77 b	37,79 a	74,26 a	204,72 b	311,85 b	5,47 a	24,55 a	281,83 b
	T4	121,1	274,39 b	34,92 a	87,09 a	152,39 b	169,69 c	5,19 a	33,46 a	131,04 c
	T5	180,2	269,37 b	30,60 a	67,37 a	171,40 b	192,12 c	4,84 a	25,69 a	161,60 c
	T6	264,2	236,25 c	17,78 b	57,51 a	160,95 b	197,36 c	1,57 b	20,16 a	175,63 c
	T7	298,1	207,45 c	11,77b	21,91 a	173,77 b	255,53 b	1,03 b	7,00 a	247,50 b
	T8	328,9	148,77 c	11,66 b	43,52 a	93,59 c	101,43 c	1,24 b	13,61 a	86,59 c
BRM 32110	T1	Controle	260,12 b	28,84 c	40,87 b	190,42 b	223,79 a	2,57 b	11,07 b	210,15 b
	T2	0	412,94 a	30,60 c	122,79 a	259,55 a	346,91 a	2,87 b	39,37 a	304,68 a
	T3	79,8	367,29 a	47,78 a	101,24 a	218,26 a	277,63 a	5,46 a	35,60 a	236,57 b
	T4	121,1	320,11 b	34,90 b	108,59 a	176,63 b	263,54 a	3,09 b	35,54 a	224,91 b
	T5	180,2	309,72 b	23,21 c	108,80 a	177,71 b	240,37 a	2,05 c	41,45 a	196,86 b
	T6	264,2	132,34 c	13,34 d	38,97 b	80,03 c	123,54 b	1,16 c	14,03 b	108,35 c
	T7	298,1	NG [2]	NG	NG	NG	NG	NG	NG	NG
	T8	328,9	NG	NG	NG	NG	NG	NG	NG	NG
BRM 63523	T1	Controle	230,23 b	24,96 b	61,05 a	144,22 c	158,87 b	2,24 b	22,08 a	134,55 c
	T2	0	386,54 a	28,41 b	119,73 a	238,39 a	270,33 a	2,15 b	30,56 a	237,61 a
	T3	79,8	314,79 a	49,76 a	78,26 a	185,78 b	262,00 a	4,85 a	22,75 a	232,39 a
	T4	121,1	239,85 b	30,45 b	56,83 a	154,57 c	208,58 b	3,09 b	18,09 a	187,40 b
	T5	180,2	225,78 b	28,31 b	72,54 a	124,93 c	162,39 b	2,52 b	23,67 a	136,19 c
	T6	264,2	185,59 b	22,09 b	52,33 a	111,17 c	158,20 b	1,93 b	15,43 a	140,83 c
	T7	298,1	NG	NG	NG	NG	NG	NG	NG	NG
	T8	328,9	NG	NG	NG	NG	NG	NG	NG	NG

Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente no teste de Scott Knott ($p \leq 0,05$).
[1] Controle sem utilização de bactérias, [2] Sementes não germinadas.

6.10 ANTAGONISMOS BACTERIANO DESAFIADO COM MAGNAPORTHE ORYZAE.

Para antagonismos podemos observar em relação a tabela 6, que as três rizobactérias selecionadas diferiram estatisticamente do controle, demonstrando assim uma alta capacidade em inibir o crescimento micelial do fungo *Magnaporthe oryzae*, mesmo estando em condições de deficiência hídrica. Trabalho realizado por Martins et al., (2020) demonstrou grande antagonismo da bactéria *Pseudomonas fluorescens* ao fungo *M. oryzae*.

Tabela 6. Antagonismo das bactérias selecionadas, quanto a supressão de *Magnaporthe oryzae* em concentrações distintas de PEG 6000.

PEG(g/L)	Bactérias		
	BRM 32110(1)	BRM 32111(2)	BRM 63523(3)
0	30,55 a	11,39 a	10,49 a
79,8	30,82 a	12,08 ab	12,23 a
121,1	31,00 a	13,50 ab	14,46 a
180,2	32,42 a	14,51 ab	17,31 a
264,2	34,84 a	15,00 b	18,48 a
298,1	34,07 a	23,82 c	19,63 a
Controle	52,00 b	51,00 e	50,97 b

Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$).
(1) Isolado *Bacillus thuringiensis*, (2) *Pseudomonas fluorescens*, (3) *Serratia marcescens*

O biocontrole utilizando *Serratia marcescens*, vem sendo estudado em diversas espécies de fungos, isto se dá pela alta produção de quitinases duplas, enzimas hidroliticas que degradam o componente principal da parecede fúngica, formada de quitina (Someya et al., 2001; Gou et al., 2020). Lanna Filho et al. (2010) destacou também para o controle biológico o gênero *Bacillus* por ser formador endósporo e possuir múltiplos mecanismos antagônicos, se mostrando mais resistente na sobrevivência em diferentes nichos ecológicos.

O controle biológico de patógenos por rizobactérias se mostra uma ótima opção por possuir um baixo custo, ser sustentável e ecologicamente correto (Rahmana et al., 2018). No biocotrole as PGPR utilizam diversos mecanismos para controlar o patógeno entre elas antagonismo direto, produção de antibióticos, siderófos, enzimas hidroliticas, também pode competir com o patógeno por nutrientes (Lugtenberg & Kamilova, 2009).

6.11 SUPRESSÃO DE BRUSONE FOLIAR EM ARROZ POR RIZOBACTÉRIA EM CONDIÇÕES DE DÉFICIT HÍDRICO.

No tratamento com adição da BRM 32111 (T2) tanto em condição irrigado quanto estressado demonstrou aumento significativo quanto a fotossíntese (A), taxa de transpiração (E), condutância estomática (gs) e concentração interna de carbono (Ci) diferindo estatisticamente do tratamento controle (T1) (Figura 14).

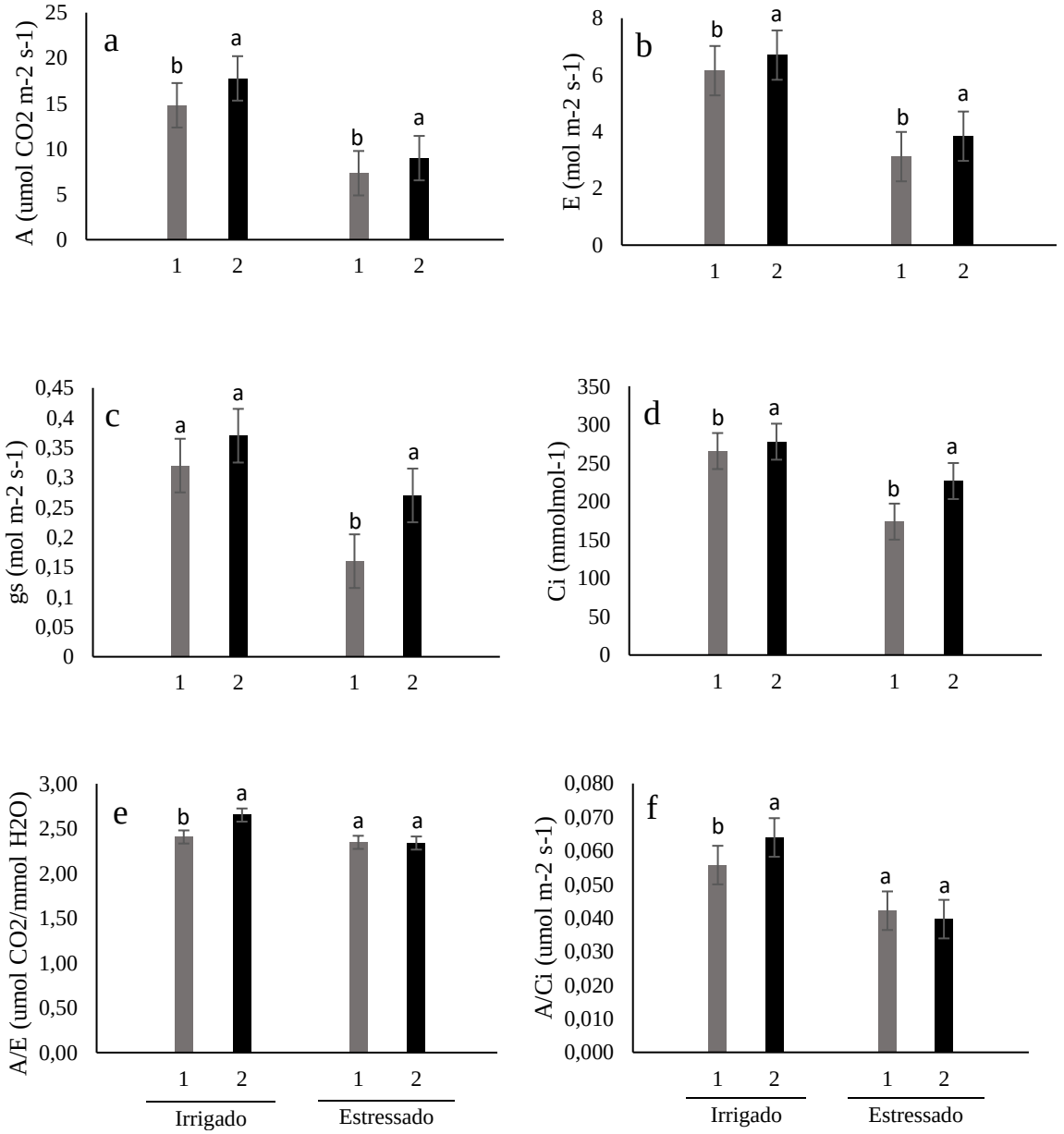

Figura 14. Trocas gasosas foliares no quarto dia de déficit hídrico em plantas de arroz de terras altas. (A) taxa fotossintética (a), (E) taxa de transpiração (b), (gs) condutância estomática (c), (Ci) concentração interna de carbono (d), (A/E) eficiência do uso da água (e), (A/Ci) eficiência de carboxililação da rubisco (f). (1) controle e (2) BRM 32111. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

A seca afeta diretamente no potencial hídrico e no turgor da planta, causando interferência nas funções normais alterando caractéristicas fisiológicas e morfológicas, estimasse que a falta de água reduza a produção agrícola em quase 50% (Vurukonda et al., 2016; Kim et al., 2020). Essa mudança climática impacta na produtividade da cultura afetando a fotossíntese e o metabolismo do CO_2 (Wang et al., 2020). Para o crescimento e produção da planta a fotossíntese é o processo bioquímico mais importante (Yamore et al., 2016). Pode se observar na figura 14 a importância do efeito da rizobactéria *Pseudomonas fluorescens* quando em interação com a planta de arroz, onde ambos os tratamentos com e sem déficit hídrico mostraram um incremento na fotossintese quando inoculadas com a bactéria diferindo estatisticamente do tratamento controle.

Se observa na figura 14 que para condutância estomática e transpiração a BRM 32111 (*Pseudomonas fluorescens*) demonstrou também maiores médias diferindo do tratamento controle. Para a realização da fotossíntese o CO_2 é indispensável. A transição do CO_2 atmosférico para as células fotossintéticas do mesofilo acontece através da abertura e fechamento dos estômatos, no mesmo processo ocorre também a perda de água por transpiração (Machado & Lagôa, 1994; Wang et al., 2020). Através da regulação estomática a planta modula sua taxa transpiratória dependendo de suas necessidades e balanço hídrico (Larcher, 2000).

Pode ser observar para concentração interna de carbono (Ci) que tanto em arroz irrigado quanto para estressado a BRM 32111(*Pseudomonas fluorescens*) demonstrou afetar positivamente no aumento de CO_2. Altas concentrações de CO_2 podem reduzir condutância estomática e transpiração, aumento na eficiência do uso da água, inibe a fotorrespiração e acelera a carboxilação aumentado a fotossíntese nas folhas (Drake et al., 1997; Ainsworth & Long, 2008). Assim também a BRM 32111(*Pseudomonas fluorescens*) demonstrou possui maior eficiência no uso da água e carboxilação da enzima rubisco quando condicionadas a quantidades necessárias de água, já quando condicionadas a déficit hídrico não ouve diferença estatística.

Os efeitos do déficit hídrico também podem ser observados de forma visual como pode ser observar na figura 15. As plantas quando condicionadas a falta de água durante 4 dias demonstrou sintomas de murcha e turgência típicos de plantas sob baixo regime de água.

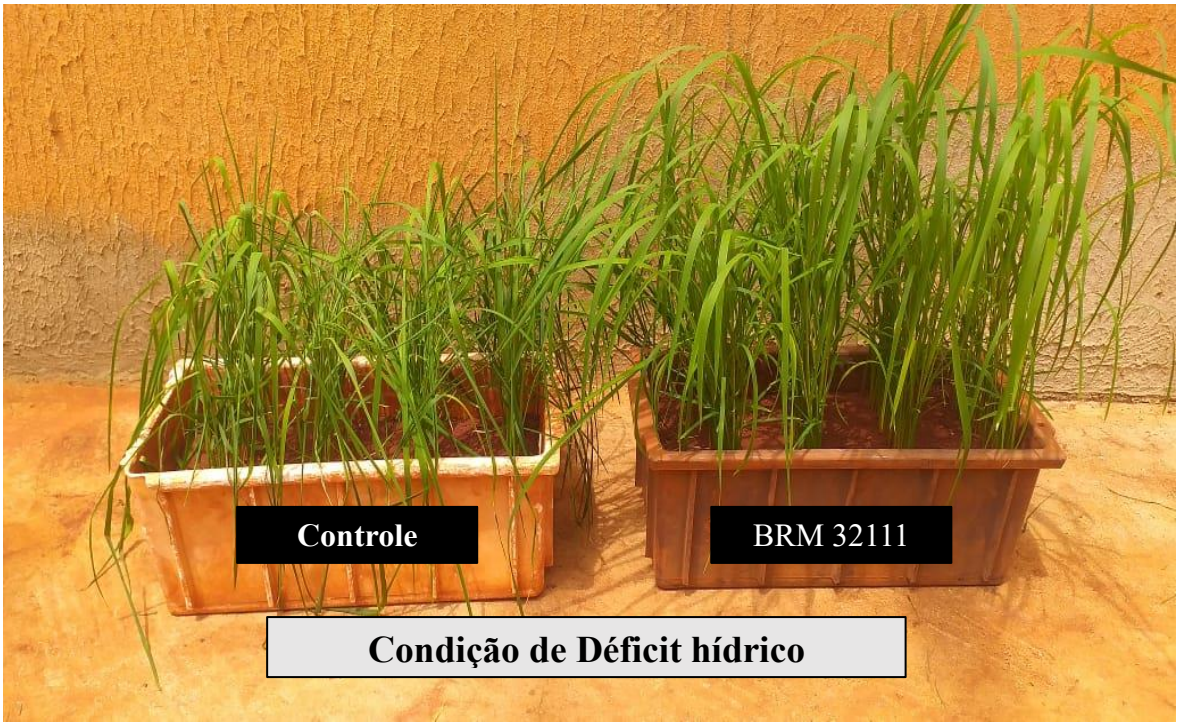

Figura 15. Plantas de arroz de terras altas submentidas a 4 dias de déficit hídrico inoculadas com o isolado *Pseudomonas fluorescens* (BRM 32111).

Para severidade da brusone foliar, foi calculada a Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) (**Figura 16**), onde pode ser observado que em ambas condições hídricas (irrigado e estressado) o T2 (BRM 32111 - *Pseudomonas fluorescens*) demonstou supressão da principal doença do arroz diferindo estatisticamente do tratamento controle (T1) sem a adição de bactéria. Estudos realizados por Filippi et al., (2011), utilizando *Pseudomonas* sp. e *Burkholderia* sp. demonstrou redução de mais de 90% na severidade de brusone foliar em arroz de terras altas e ainda um aumento de 65% no acúmulo de biomassa. Chen et al., (2019) mostrou em seu estudo a eficácia de bioformulação a base de *Pseudomonas fluorescens* onde obteve uma redução de 85% na intensidade de brusone nas folhas.

Microrganismos benéficos como as PGPRs quando aplicados ao solo interagem com as raízes das plantas atraídos pela liberação de exudados. Após a colonização da raiz pelo microrganismo, a planta ativa seus genes de defesa, esse processo e denominado de Indução de Resistência Sistêmica. (Walters et al., 2013; Pieterse et al., 2014). A utilização de microrganismos na indução de resistência sistêmica contribui para a redução do uso indiscriminado de agrotóxicos, já que os mecanismos de defesas são da

própria planta, e se mostra uma defesa durável contra uma gama de patógenos (Schwan-Estrada et al., 2008; Raj et al., 2012).

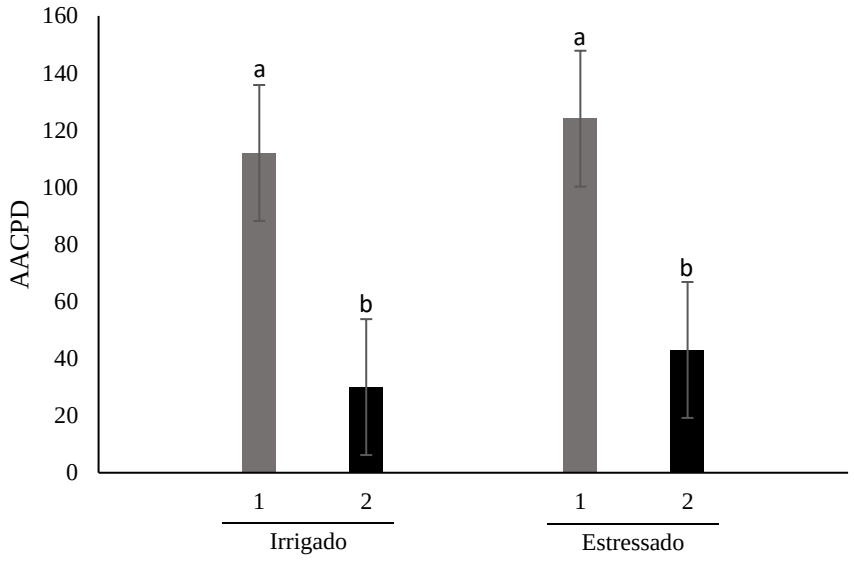

Figura 16. Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) de brusone foliar em plantas de arroz de terras altas. Tratamento (1) controle, (2) BRM 32111. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Portanto já se sabe que as bactérias com múltiplas bioatividades são alternativas biotecnológicas sustentáveis para aumentar a produção e reduzir custos (Velasco-Jiménez et al., 2020). Posteriormente essas rizobactérias devem ser testadas em campo quanto seus efeitos benéficos na mitigação do déficit hídrico e brusone foliar.

7. CONCLUSÕES

Os isolados de PGPR demonstraram ser uma ferramenta importante na mitigação dos efeitos do ambiente com alta pressão osmótica, simulando déficit hídrico. Os isolados BRM 32110 (*Bacillus thuringiensis*), BRM 32111 (*Pseudomonas fluorescens*) BRM 63523 (*Serratia marcescens*) foram identificadas como mais resistentes a um ambiente com alta pressão osmótica. Os isolados BRM 32113 (*Burkholderia pyrrocinia*), BRM 32114 (*Serratia* sp.) BRM 63523 (*Serratia marcescens*) apresentaram-se como os melhores solubilizadores fosfato. Nas atividades enzimáticas, quitinase foram produzidas pelos 9 isolados, para celulase somente BRM 32111 (*Pseudomonas fluorescens*) e BRM 32112 (*Pseudomonas* sp.) não produziram, em relação a celulase somente o isolado BRM 32114 (*Serratia* sp.) foi produtor e para amilase BRM 32109 (*Bacillus cereus*), BRM 32110 (*Bacillus thuringiensis*), BRM 63523 (*Serratia marcescens*) e BRM 63522 (*Serratia* sp.) demonstraram atividade. O isolado BRM 32111 (*Pseudomonas fluorescens*) foi o melhor produtor de AIA e da enzima ACC deaminase. O isolado BRM 32113 (*Burkholderia pyrrocinia*) foi o melhor produtor de biofilme. A BRM 32111 (*Pseudomonas fluorescens*) BRM 32110 (*Bacillus thuringiensis*) e BRM 63523 (*Serratia marcescens*) demonstraram maiores efeitos no desenvolvimento inicial do sistema radicular de arroz condicionada a déficit hídrico. No ensaio de casa de vegetação sob condição de déficit hídrico a BRM 32111 (*Pseudomonas fluorescens*) promoveram as maiores médias para fotossíntese (A), transpiração (E), condutância estomática (gs) e concentração interna de corbono (Ci) para ambas condições hídricas (Irrigado e estressado), para eficiência no uso da água (A/E) e taxa de carboxilação da rubisco (A/Ci) diferiram estatisticamente somente do tratamento irrigado. Para supressão de brusone foliar tanto no irrigado quanto no estressado a BRM 32111(*Pseudomonas fluorescens*) diferiu estatisticamente do controle sem bactéria.

8. REFERÊNCIAS

ABADIA, J.; VAZQUEZ, S.; RELLAN-ALVAREZ, R.; EL-JENDOUBI, H.; ABADIA, A.; ALVAREZ-FERNENDEZ, A.; LOPEZ-MILLAN, A. F. Towards a knowledge-based correction of iron chlorosis. **Plant Physiol Biochem**, Bari, v. 49, n. 5, p. 471–482, 2011.

ACHARD, P.; CHENG, H.; DE GRAUWE, L.; DECAT, J.; SCHOUTTETEN, H.; MORITZ, T.; STRAETEN, D. V. D.; PENG, J.; HARBERD, N. P. Integration of plant responses to environmentally activated phytohormonal signals. **Science**, Pennsylvania, v. 311, n. 6, p. 91–94, 2006.

AHMAD, Z.; WARAICH, E. A.; AKHTAR, S.; ANJUM, S.; AHMAD, T.; MAHBOOB, W.; HAFEEZ, O. B. A.; TAPERA, T.; LABUSCHAGNE, M.; RIZWAN, M. Physiological responses of wheat to drought stress and its mitigation approaches. Poznan, **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 40, n. 4, p. 1-13, 2018.

AHMADIPOR, S.; ARJI, I.; EBADI, A.; ABDOSSI, V. Physiological and biochemical responses of some olive cultivars (Olea europaea L.) to water stress. **Cellular and Molecular Biology**, Toulon, v. 64, n. 15, p. 20-29, 2018.

AHMED, A.; SULTAN, T.; QADIR, G.; AFZAL, O.; AHMED, M.; SHAH, S. S.; ASIF, M.; ALI, S.; MEHMOOD, M. Z. Impact assessment of plant growth promoting rhizobacteria on growth and nutrient uptake of maize (Zea Mays). **Pakistan Journal of Agricultural Research**, Rawalpindiv, 33, n. 2, p. 234-246, 2020.

AINSWORTH, E. A.; LONG, S. P. What have we learned from 15 years of free-air CO2 enrichment (FACE)? A meta-analytic review of the responses of photosynthesis, canopy. **New Phytologist,** Lancaster**,** v. 165, n. 2, p. 351–371, 2005.ALAA, F. M. Effectiveness of exopolysaccharides and biofilm forming plant growth promoting rhizobacteria on salinity tolerance of faba bean (Vicia faba L.). **African Journal of Microbiology Research**, Thohoyandou, v. 12, n. 17, p. 399–404, 2018.

ALEXANDER, D. B.; ZUBERER, D. A. Use of chrome azurol S reagentes to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 12, n. 1, p.39-45, 1991.

ANSARI, F. A.; AHMAD, I. Fluorescent Pseudomonas -FAP2 and Bacillus licheniformis interact positively in biofilm mode enhancing plant growth and photosynthetic attributes. **Scientific Reports**, Londres, v. 9, n. 1, p. 2019.

ANSARI, W. A.; ATRI, N.; AHMAD, J.; QURESHI, M. I.; SINGH, B.; KUMAR, R.; RAI, V.; PANDEY, S. Drought mediated physiological and molecular changes in muskmelon (*Cucumis melo* L.). **PLOS ONE**, Cambridge, v. 14, n. 9, p. 1-24, 2019.

ARAÚJO, L; PASCHOALINO, R. S.; RODRIGUES, F. A. Microscopic aspects of silicon-mediated rice resistance to leaf scald. **Phytopathology**, Lake Alfred, v. 106, n. 2, p. 132-141, 2016.

ARSHAD, M. & FRANKENBERGER, W. T. JR. Ethylene: agricultural sources and applications. **Kluwer Academic Publishers,** New York. 1° ed., p.342, 2002.

ARUN, K. D.; SABARINATHAN, K. G.; GOMATHY, M.; KANNAN, R.; BALACHANDAR, D. Mitigation of drought stress in rice crop with plant growth-promoting abiotic stress-tolerant rice phyllosphere bacteria. **Journal of Basic Microbiology**, Weinheim, v. 60, n. 9, p. 768-786, 2020.

ASTRIANI, M.; ZUBAIDAH, S.; ABADI, A. L.; Suarsini, E. *Pseudomonas plecoglossicida* as a novel bacterium for phosphate solubilizing and indole-3-acetic acid-producing from soybean rhizospheric soils of East Java, Indonesia. **Journal of Biological Diversity**, Indonésia, v. 21, n. 2, p. 578-586, 2020.

AWAIS, M.; TARIQ, M.; ALI, A.; ALI, Q.; KHAN, A.; TABASSUM, B.; NASIR, I. A; HUSNAIN, A. Isolation, characterization and inter-relationship of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of sugarcane and rice. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**. Peoria, v. 11, n. 3, 312–321, 2017.

AZAMBUJA, I. H. V.; MAGALHÃES JUNIOR, A. M.; VERNETTI JUNIOR. F. J. Situação da cultura do arroz no mundo e no Brasil. In: **Série culturas : arroz comissão de agricultura, pecuária e cooperativismo**. Porto Alegre: Assembléia Legislativa do Estado do Rio Grande do Sul, 2002, cap. 1, p.11-22.

AZIZI, P. M. Y.; RAFII, S. N. A.; ABDULLAH, N.; NEJAT, M.; MAZIAH, M. M.; HANAFI, M. A.; LATIF, M. A.; SAHEBI, M. Toward understanding of rice innate immunity against Magnaporthe oryzae. **Crit. Rev. Biotechnol.,** Cardiff, v. 36, n. 1, p. 165-174, 2020.

BANDUMULA, N.; NEERAJA, C. N.; WARIS, A.; RAO, D. S.; MUTHURAMAN, P. An economic analysis of biofortified rice varieties. **Oryza**, Cuttack, v. 56, n. 4, p. 405-410, 2019.

BAI, T.; ZHANG, P.; GUO, Z.; CHETWYND, A. L.; ZHANG, M.; ADEEL, M.; LI, M.; GUO, K.; GAO, R.; LI, J.; HAO, Y.; RUI, Y. Different physiological responses of C3 and C4 plants to nanomaterials. **Environmental Science and Pollution Research**, Bordéus, v. 28, n. 3, p. 1-10, 2021.

BAHADIR, P. S.; LIAQAT, F.; ELTEM, R. Plant growth promoting properties of phosphate solubilizing Bacillus species isolated from the Aegean Region of Turkey. **Turkish Journal of Botany**, Ancara, v. 42, n. 2, p.183-196, 2018.

BAJGUZ, A.; PIOTROWSKA, A. Conjugates of auxin and cytokinin. **Phytochemistry**, Nantes, v. 70, n. 8, p. 957–969, 2009.

BALOTA, E. L.; KANASHIRO, M.; FILHO, A. C.; ANDRADE, D. S.; DICK, R. P. Soil enzyme activities under long-term tillage and crop rotation systems in subtropical agro-ecosystems. **Brazilian Journal of Microbiology**, Londrina, v. 35, n. 4, p. 300-306, 2004.

BALOTA, E.; NOGUEIRA, M.; MENDES, I.; HUNGRIA, M.; FAGOTTI, D.S.L.; MELO, G.; SOUZA, R.C.; MELO, W.J. Enzimas e seu papel na qualidade do solo. **Tópicos Ci. Solo**, v. 8, p. 189-249, 2013.

BAUTISTA, R. C.; COUNCE, P. A. An overview of rice and rice quality. **Cereal Foods World**, St. Paul, v. 65, n. 5, p. 1-9, 2020.

BEGUM, J. F.; TAMILARASI, M.; PUSHPAKANTH, P.; BALACHANDAR, D. A simple method for direct isolation of N-acyl-L-homoserine lactone mediated biofilm-forming rhizobacteria from roots. **Journal of Microbiological Methods**, Guelph, v. 156, n. p. 1-6, 2018.

BERG G. Plant–microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. **Appl Microbiol**, Belfast, v. 84, n. 1, p. 8-18. 2009.

BHATTACHARYA, P. N.; JHA, D. K. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. **World J Microbiol Biotechnol**, Switzerland, v. 28, n. 4, p.1327–1350, 2012.

BHOM, W, **Methods of studyng root systems**. New York: Springer-Verlag, 1979. 188 p.
BIRTHAL, P. S.; NEGI, D. S.; KHAN, M. T.; AGARWAL, S. Is Indian agriculture becoming resilient to droughts? Evidence from rice production systems. **Food Policy**, Amsterdam, v. 56, n. 14, p. 1–12, 2015.

BLUM, A. Crop responses to drought and the interpretation of adaptation. **Plant Growth Regulation**, Penrith, v. 20, n. 2, p. 135–148, 1996.

BOLLER, T.; FELIX, G. A Renaissance of Elicitors: Perception of Microbe-Associated Molecular Patterns and Danger Signals by Pattern-Recognition Receptors. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 60, n. 1, p. 379–406, 2009.

BORGI, M. A.; SAIDI, I.; MOULA, A.; RHIMI, S.; RHIMI, M. The Attractive Serratia plymuthica BMA1 Strain with High Rock Phosphate-Solubilizing Activity and Its Effect on the Growth and Phosphorus Uptake by Vicia faba L. Plants. **Geomicrobiology Journal**, Londres, v. 37, n. 5, p. 437-445, 2020.

BOYER, J. S. Plant productivity and environment. **Science**, Washington, v. 218, p.443-448, 1982.

CARLSON, K. M. GERBER, J. S.; MUELLER, N. D.; HERRERO, M.; MACDONALD, G. K.; BRAUMAN, K. A.; HAVLIK, P.; O'CONNELL, C. S.; JOHNSON, J. A.; SAATCHI, S.; WEST, P. C. Greenhouse gas emissions intensity of global croplands. **Nat Clim Change**, Londres, v. 7, n. 1, p. 63–68, 2017.

CASIMIRO, I.; MARCHANT, A.; BHALERAO, R. P.; BEECKMAN, T.; DHOOGE, S.; SWARUP, R.; GRAHAM, N.; INZÉ, D.; SANDBERG, G.; CASERO, P. J. C.; BENNETTB, M. Auxin Transport Promotes Arabidopsis Lateral Root Initiation. **The Plant Cell**, St. Louis, v. 13, n.4, p. 843–852, 2001.

CHEN, W. C.; CHIOU, T. Y.; DELGADO, A. L.; LIAO, C. S. The Control of Rice Blast Disease by the Novel Biofungicide Formulations. **Sustainability**, Basel, v. 11, n. 12, p. 1-9, 2019.

CHHAYA; YADAV, B.; JOGAWAT, A.; GNANASEKARAN, P.; KUMARI, P.; LAKRA, N.; LAL, S.K.; PAWAR, J.; NARAYAN, O.P. An overview of recent advancement in phytohormones-mediated stress management and drought tolerance in crop plants. **Plant Gene**, Peoria, v. 25, n. 5, p. 1-36, 2021.

COATS, B. Global rice prodution. In.: SMITH, C. W.; DILDAY, H. R. (eds.). **Rice: Origin, History, Technology and Production**. New York: Wiley, 2003. cap. 3.1, p. 247-270.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. SÉRIES HISTÓRICAS DE SAFRA, 2020. Disponível em: <https://www. https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/serie-historica-das-safras>. Acesso em 21 Jan. 2021.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. A cultura do arroz. Brasília, Conab, 180 p. 2015. Disponível em http://www.conab.gov.br. Acesso em 20 de janeiro de 2021.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos, v.7, safra 2019/20, 10° levantamento. Brasília, Conab, p. 22, 2021.

CONCEIÇÃO, L.F.C.; PINTO, L.B.; CUADRA, S.V.; ALMEIDA, I.R.; STEINMETZ, S. Variáveis meteorológicas e crescimento do arroz irrigado. **Journal of Environmental Analysis and Progress,** Recife, v. 2, n. 3, p. 220-226, 2017.

COSTA, E. M.; DE LIMA, W.; OLIVEIRA-LONGATTI, S. M.; SOUZA, F. M. Phosphate-solubilising bacteria enhance Oryza sativa growth and nutrient accumulation in an oxisol fertilized with rock phosphate. **Ecological Engineering**, Praha, v. 83, n. 12, p. 380–385, 2015.

COUTO, D.; ZIPFEL, C. Regulation of pattern recognition receptor signalling in plants. **Nature Reviews Immunology,** New York, v. 16 n. 9, p. 537–552, 2016.

CRAMER, G. R.; URANO, K.; DELROT, S.; PEZZOTTI, M.; SHINOZAKI, K. Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective. **BMC Plant Biology**, New York, v. 11, n. 1, p. 1-14, 2011.

CUCARELLA, C.; TORMO, M. A.; UBEDA, C.; TROTONDA, M. P. MONZÓN, M.; PERIS, C.; AMORENA, B.; LASA, I.; PENADÉS, J. R. Role of biofilm associated protein Bap in the phatogenesis of bovine *Staphylococcus aureus.* **Infect Immun.,** Washington, v. 72, n. 40, p. 2177-2185, 2004.

DALLAGNOL, L. J.; ARAUJO FILHO, J. V. uma visão geral da resistência genética da planta a microrganismos. In: DALLAGNOL, L. J. (Ed.) **Resistência genética: de plantas a patógenos**. 1 ed. Pelotas: Editora UFPel, 2018, v. 1, cap. 1, p. 13-64.

DANHORN, T.; HENTZER, M.; GIVSKOV, M.; PARSEK, M. R.; FUQUA, C. Phosphorus limitation enhances bioflm formation of the plant pathogen Agrobacterium tumefaciens through the PhoR-PhoB regulatory system. **J. Bacteriol**., Washington, v. 186, n. 14, p. 4492-4501, 2004

DANISH, S.; ZAFAR-UL-HYE, M. Combined role of ACC deaminase producing bacteria and biochar on cereals productivity under drought. **Tech Science Press**, Henderson, v. 89, n. 2, p. 217-227, 2020.

DAVIES, P. J. The plant hormone concept: concentration, sensitivity and transport. In: DAVIES, P. J. (ed.) **Plant hormones: physiology, biochemistry, and molecular biology**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp 13–18, 1995.

DEAN, R.; VAN KAN, J.A.L.; PRETORIUS, Z.A.; HAMMOND-KOSACK, K.E.; PIETRO, A.; SPANU, P.D.; RUDD, J.J.; DICKMAN, M.; KAHMANN, R.; ELLIS, J.; FOSTER, G.D. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, Raleigh, v. 13, n. 4, p. 414–430, 2012.

DEMO, M. **Caracterizacion y studios de patogenicidad de cepas dela genero *Staphylococcus* asiladas de leches mastiticas,** 1996. Tese (Doutorado em microbiologia) Universidad Nacional de Rio Cuarto, Rio Cuarto, Argentina. 1996.

DEY, R.; PAL, K. K.; BHATT, D. M.; CHAUHAN, S. M. Growth promotion and yield enhancement of pea- nut (Arachishypogaea L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. **Microbiological Research**, Amsterdan, v. 159, n. 4, 371–394, 2004.

DEY, R.; PAL, K. K.; BHATT, D. M.; CHAUHAN, S. M. Growth promotion and yield enhancement of pea-nut (*Arachishypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. **Microbiol. Res**., Geisenheim, v. 159, n. 4, p. 371–394, 2004.

DJURIC S.; PAVIC, A.; JARAK, M.; PAVLOVIC, S.; STAROVIC, M.; PIVIC, R.; JOSIC, D. Selection of indigenous fluorescent pseudomonad isolates from maize rhizospheric soil in Vojvodina as possible PGPR. **Romanian Biotechnological Letters**, Bucareste, v. 16, n. 5, p. 6580-6590, 2011.

DIXIT, S.; SINGH, U. M.; SINGH, A. K.; ALAM, S.; VENKATESHWARLU, C.; NACHIMUTHU, V. V.; YADAV, S.; ABBAI, R.; SELVARAJ, R.; DEVI, M. N.; RAMAYYA, P. J.; BADRI, J.; LAKSHMI, T. R. J.; LAKSHMIDEVI, G.; VIDHYA J. L. R. K.; PADMAKUMARI, A. P.; LAHA, G. S.; PRASAD, M. S.; SEETALAM, M.; SINGH, V. K.; KUMAR, A. Marker Assisted Forward Breeding to Combine Multiple Biotic-Abiotic Stress Resistance/Tolerance in Rice. **Rice**, Londres, v. 13, n. 29, p. 1-15, 2020.

DRAKE, B. G.; GONZÀLEZ-MELER, M. A.; LONG, S. P. MORE EFFICIENT PLANTS: A Consequence of Rising Atmospheric CO2? **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 48, n. 1, p. 609–639, 1997.

DUCA, D.; LORV, J.; PATTEN, C.L.; ROSE, D.; GLICK, B.R. Indole-3-acetic acid in plant–microbe interactions. **Antonie Van Leeuwenhoek,** Nijmegen, v. 106, n. 1, p. 85-125, 2014.

DURRANT, W. E.; DONG, X. systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 42, n. 1, p. 185–209, 2004.

EHMANN, A. The van urk – salkowski reagent a sensitive and specific chromogenic reagent for silica gel thin-layer chromatographic detection and identification of indolederivates. **Journal of Chromatography**, Ames, v. 132, n. 2 p. 267-276, 1977.

Embrapa arroz e feijão, Consumo Per capita de Arroz (Oryza sativa L.) e de Feijão-comum (Phaseolus vulgaris L.), no Brasil, de 1985 a 2019. 2020. Disponível em https://www.cnpaf.embrapa.br/socioeconomia/docs/arroz/consumopercapitaarrozefeijao.htm. Acesso 02 de fevereiro de 2021.

EMBRAPA. Arroz: o produtor pergunta, a Embrapa responde. Revista e Ampliada. Brasília, DF. Embrapa. p. 245, 2013. (Coleção 500 Perguntas, 500 Respostas).

ETESAMI, H.; MAHESHWARI, D. K. Use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) with multiple plant growth promoting traits in stress agriculture: Action mechanisms and future prospects. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Plymouth, v. 156, n. 6, p. 225–246, 2018.

RAHMANA, S. F. S. A.; SINGHA, E.; PIETERSEB, C. M. J.; SCHENK, P. M. Emerging microbial biocontrol strategies for plant pathogens. **Plant Science**, Davis, v. 267, n. 20, p. 102-111, 2018.

FAGERIA, N. K.; WANDER, A. E.; SILVA, S. C. Rice (*Oryza sativa*) cultivation in Brazil. **Indian Journal of Agronomy,** New Delhi, v. 59, n. 3, pp. 350-358, 2014.

FAOSTAT. Os maiores produtores mundiais de arroz. Disponível em: http://faostat.fao.org. Acesso em: 25 de janeiro de 2021.

FERREIRA, M. J.; SILVA, H.; CUNHA, A. Siderophore-Producing Rhizobacteria as a Promising Tool for Empowering Plants to Cope with Iron Limitation in Saline Soils: A Review. **Pedosphere**, Nanjing, v. 29, n. 4, p. 409–420, 2019.

FERREIRA, C. M. H.; VILAS-BOAS, A.; SOUSA, C. A.; SOARES, H. M. V. M.; SOARES, E. V. Comparison of five bacterial strains producing siderophores with ability to chelate iron under alkaline conditions. **AMB Express**, Münster, v. 9, n. 1, p. 1-12, 2019.

FILIPPI, M. C. C.; DA SILVA, G. B.; SILVA-LOBO, V. L.; CÔRTES, M. V. 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**, College Station, v. 58, n. 2, p. 160–166, 2011.

FREEMAN, D. J.; FALKINER, F. R.; KEANE, C. T. New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. **Journal Clinical Pathology,** Basel, v. 42, n. 8, p. 872-874, 1989.

GALHANO, R. & TALBOT, N.J. The biology of blast: Understanding how *Magnaporthe oryzae* invades rice plants. **Fungal Biology Reviews**. Utrecht, v. 25, n. 1, p. 61–67, 2011.

GHIASIAN, M. Microbial biofilms: Beneficial applications for sustainable agriculture. In YADAV, M. K.; SINGH, B. P. (Ed.). **New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering: Microbial Biofilms**, 1. ed. Amsterdan: Elsevier, 2020, 324 p.

GLICK, B. R. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 41, n. 1, p. 109-117, 1995.

GLICK, B.R. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. **Microbiological Research**, Geisenheim, v. 169, n. 1, p. 30–39. 2014.

GLICK, B. R. Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. **Scientifica**, v. 2012, 1–15, 2012.

GHOSH, S. K.; BERA, T.; CHAKRABARTY, A. M. Microbial siderophore- a boon to agricultural sciences. **Biological Control**, Paris, v. 144, n. 1, p. 1-12, 2020.

GOHARRIZI, K. J.; MOOSAVI, S. S.; AMIRMAHANI, F.; SALEHI, F.; NAZARI, M. Assessment of changes in growth traits, oxidative stress parameters, and enzymatic and non-enzymatic antioxidant defense mechanisms in Lepidium draba plant under osmotic stress induced by polyethylene glycol. Berlin, **Protoplasma**, v. 257, n. 2, p. 459-473, 2019.

GOMES, A. S.; SCIVITTARO, W. B.; PETRINI, J. A.; FERREIRA, L. H.G. **A água: Distribuição, regulamentação e uso na agricultura, com ênfase ao arroz**. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, 44 p. 2008

GOPAL, D. V. R. S. Mechanisms of systemic induced resistance. In: AWASTHI, L. P. (Ed.). **Applied Plant Virology Advances, Detection, and Antiviral Strategies**, 2020, Cambride: Academic Press, cap. 43, p. 619–629.

GORYLUK-SALMONOWICZ, A.; ORZESZKO-RYWKA, A.; PIÓREK, M.; REKOSZ-BURLAGA, H.; OTŁOWSKA, A.; GOZDOWSKI, D.; BŁASZCZYK, M. Plant growth promoting bacterial endophytes isolated from Polish herbal plants. **Acta Scientiarum Polonorum - Hortorum Cultus**, Lublin, v. 17, n. 5, p. 101-110, 2018.

GROVER, M.; ALI, S. Z.; SANDHYA, V.; RASUL, A.; VENKATESWARLU, B. Role of microorganisms in adaptation of agriculture crops to abiotic stresses. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Hull, v. 27, n. 5, p. 1231–1240, 2010.

GUIMARÃES, C. M.; STONE, L. F.; OLIVEIRA, J. P.; RANGEL, P. H. N.; RODRIGUES, C. A. P. Sistema radicular do arroz de terras altas sob deficiência hídrica, **Pesquisa Agropecuaria Tropical**, Goiânia, v. 41, n. 1, p. 126-134, 2011.

GUO, Z.; ZHANG, X.; WU, J.; YU, J.; XU, M.; CHEN, D.; ZHANGA, Z.; LIB, X.; CHI, Y.; WAN, S. In vitro inhibitory effect of the bacterium Serratia marcescens on Fusarium proliferatum growth and fumonisins production. **Biological Control**, College Station, v. 143, p. 1-9, 2020.

GUPTA, S.; PANDEY, S. ACC Deaminase Producing Bacteria With Multifarious Plant Growth Promoting Traits Alleviates Salinity Stress in French Bean (Phaseolus vulgaris) Plants. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 10, n. 6, 2019.

HAGEN, G.; GUILFOYLE, T. Auxin-responsive gene expression: genes, promoters and regulatory factors. **Plant Molecular Biology**, Yokohama, v. 49, n. 3, p. 373-385, 2002.

HANKIN, L.; ANAGNOSTAKIS, S. L. The use of solid media for detection of enzyme production by fungi. **Mycology**, College Park, v. 67, n. 3, p. 597-607, 1975.

HAKHCHAR, A.; LAMAOUI, M.; AISSAM, S.; FERRADOUS, A.; WAHBI, S.; EL MOUSADIK, A.; Ibnsouda-Koraichi, S.; Filali-Maltouf, A.; EL MODAFAR, C. Physiological and carbohydrate metabolism traits for discrimination of drought-tolerant elite ecotypes of Argania spinosa. **Plant Physiology Reports**, New Delhi, v. 24, n. 9, p. 388–398, 2019.

HAYAT, R.; ALI, S.; AMARA, U.; KHALID, R.; AHMED, I. Soil beneficial bacteria and their role in plant growthpromotion: a review. **Ann Microbiol**., Palo Alto, v. 60, n. 8, p. 579–598, 2010.

HOSSAIN, M. L.; LI, J. Disentangling the effects of climatic variability and climate extremes on the belowground biomass of C3- and C4-dominated grasslands across five ecoregions. **Science of the Total Environment**, Barcelona, v. 760, n. 12, p. 1-15, 2021.

HSU, S. C.; LOCKWOOD, J. L. Powdered chitin agar as a selective medium for enumeration of actinomycetes in water and soil. **Applied microbiology**, Belfast, v. 29, n. 3, p. 422-426, 1975.

HU, H.; XIONG, L. Genetic engineering and breeding ofdrought-resistant crops. **Annual review of plant biology**, Palo Alto, v. 65, n. 12, p. 715-741, 20.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2020. SIDRA. Produção Agricola Nacional. Tabela 1618. Disponivel em https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1618#resultado. Acesso em 01 de fevereiro de 2021.

INFELD, J. A.; SILVA, J. B.; ASSIS, F. N. Temperatura base e graus-dia durante o período vegetativo de três grupos de cultivares de arroz irrigado. **Revista Brasileira de Agrometeorologia,** Santa Maria, v. 6, n. 2, p.187-191, 1998.

IRRI. Race for Impact. Annual report 2019. Disponivel em https://www.irri.org/resources-and-tools/publications#annual-reports. 2019. Acesso em 01 fevereiro de 2020.

JACOB, J.; KRISHNAN, G. V.; THANKAPPAN, D.; AMMA, D. K. B. N. S. Endophytic bacterial strains induced systemic resistance in agriculturally important crop plants. In: KUMAR, A. SINGH, V. K. (Ed.) **Microbial Endophytes**. 1. ed. Cambridge: Woodhead Publishing, cap. 4, p. 75–105, 2020.

JADHAV, H. P.; SHAIKH, S. S.; SAYYED, R. Z. Role of Hydrolytic Enzymes of Rhizoflora in Biocontrol of Fungal Phytopathogens: An Overview. In.: MEHNA, S. **Rhizotrophs: Plant Growth Promotion to Bioremediation**. 2. ed. Springer, 2017. cap. 9, p. 183–203.

JAIN, S.; VAISHNAV, A.; KASOTIA, A.; KUMARI, S.; GAUR, R. K.; CHOUDHARY, D. K. Bacteria-induced systemic resistance and growth promotion in Glycine max L. Merrill upon challenge inoculation with Fusarium oxysporum. **Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences**, Kolkata, v. 83, n. 4, p. 561–567, 2013.

JAIN, S.; VAISHNAV, A.; KASOTIA, A.; KUMARI, S.; CHOUDHARY, D. K. Plant Growth-Promoting Bacteria Elicited Induced Systemic Resistance and Tolerance in Plants. In: AHMAD, P.; RASOOL, S. (Ed.) **Emerging Technologies and Management of Crop Stress**, 1. ed. Cambridge: Academic Press, 2014. v. 1, cap. 5, p. 109-132.

JEONG, J.; CONNOLLY, E. L. Iron uptake mechanisms in plants: Functions of the FRO family of ferric reductases. **Plant Science**, Davis, v. 176, n. 6, p. 709–714, 2009.

JIANG, H.; FENG, Y.; QIU, L.; GAO, G.; ZHANG, Q.; HE, Y. Identification of Blast Resistance QTLs Based on Two Advanced Backcross Populations in Rice. **Rice**, Londres, v. 13, n. 31, 1-15, 2020.

KAMANGA, R. M. Screening and differential physiological responses of tomato (Solanum lycopersicum L.) to drought stress. **Plant Physiology Reports**. New Delhi, v. 25, n. 3, p. 472-482, 2020.

KANGABAM, E. J. D. R.; BORAH, K.; TAMULY, A.; BORUAH, H. P. D.; SILLA, Y. Role of Soil Microbiome and Enzyme Activities in Plant Growth Nutrition and Ecological Restoration of Soil Health. IN: KUMAR, A.; SHARMA, S. (Ed.). **Microbes and Enzymes in Soil Health and Bioremediation**. 2019, Singapore: Springer Singapore, cap. 5, p. 99-132.

KARIM, M. M., HASSAN, M. J., PRAMANIK, M. H. R., HOSSAIN, M. A. Morpho-phenological traits and yield performance of rice cultivars as affected by submergence stress. **Journal of Bangladesh Agricultural University**, Mymensingh, v. 17, n. 4, p. 545–550, 2019.

KARMAKAR, J.; GOSWAMI, S.; PRAMANIK, K.; MAITI, T. K.; KAR, R. K.; DEY, N. Growth promoting properties of Mycobacterium and Bacillus on riceplants under induced drought. **Plant science today**, Thiruvananthapuram, v. 8, n. 1, p. 49-57, 2021.

KESWANI, C.; SINGH, S. P.; CUETO, L.; GARCÍA-ESTRADA, C.; MEZAACHE-AICHOUR, S.; GLARE, T. R.; SANSINENEA, E. Auxins of microbial origin and their use in agriculture. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Münster, v. 104, n. 7, p. 8549–8565, 2020.

KIM, T.-H.; BÖHMER, M.; HU, H.; NISHIMURA, N.; SCHROEDER, J. I. Guard Cell Signal Transduction Network: Advances in Understanding Abscisic Acid, CO2, and Ca2+Signaling. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 61, n. 1, p. 561–591, 2010.

KIM, Y.; CHUNG, Y. S.; LEE, E.; TRIPATHI, P.; HEO, S.; KIM, K-H. Root Response to Drought Stress in Rice (Oryza sativa L.). **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 21, n 4, p. 1-22, 2020.

KLOEPPER, J. W.; RYU, C. M. Bacterial Endophytes as Elicitors of Induced Systemic Resistance. In: SCHULZ, B. J.; BOYLE, C. J.; SIEBER, T. N. (Ed.). **Microbial root endophytes**. Berlin: Springer Science & Business Media, 2007, v. 9, cap. 3, p. 33–52.

KOENTJORO, Y.; SUKENDAH; PURWANTO, E.; PURNOMO, D. Stomatal behaviour of soybean under drought stress with silicon application. **Annals of Agri Bio Research**, Hisar, v. 25, n. 1, p. 103-109, 2020.

KOUR, D.; RANA, K. L.; KAUR, T.; YADAV, N.; YADAV, A. N.; RASTEGARI, A. A.; SAXENA, A. K. Microbial biofilms: Functional annotation and potential applications in agriculture and allied sectors. In: Yadav, M. K.; Singh, B. P. (Ed.). **New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering: Microbial Biofilms**. 1. ed. Amsterdã: Elsevier, 2020. cap. 18, p. 283-301.

KUMAR, R.; SOAM, S. K.; BRAJENDRA. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) in Management of Plant Diseases. In.: SINGH, V. K. (Ed.) **Ecofriendly Innovative Approaches in Plant Disease Management.** 1. ed. Dehradun: International Book Distributors, 2012. cap. 13 p. 207-240.

KUMAR, A.; SINGH, S.; GAURAV, A. K.; VERMA, J. P. Plant growth-promoting bacteria: The biological tools for the mitigation of salinity stress in plants. **Front. Microbiol.,** Lausanne, v. 11, n. 6, p. 1-15, 2020.

LANNA FILHO, R.; FERRO, H. M.; PINHO, R.S.C. Controle biológico mediado por Bacillus subtilis. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, Lavras, v. 4, n. 2, p. 1-9, 2010

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos, Rima, 2000. 531 p.

LAVIE, S., STOTZKY, G. Interactions between clay minerals and siderophores affect the respiration of Histoplasma capsulatum. **Appl. Environ. Microbiol**., Bayreuth, v. 51, n. 1, p. 74–79, 1986.

LI, Y.; LIU, X.; HAO, T.; CHEN, S. Colonization and maize growth promotion induced by phosphate solubilizing bacterial isolates. **Int. J. Mol. Sci.**, Basel, v. 18, n. 7, p. 1-16, 2017.

LIMA, T. T. S., MIRANDA, I. S., VASCONCELOS, S. S. Effects of water and nutrient availability on fine root growth in eastern Amazonian forest regrowth, Brazil. **New Phytologist**, Lancaster, v. 187, n. 3, p. 622–630, 2010.

LUCON, C. M. M.; AKAMATSU, M. A.; HARAKAVA, R. Promoção de crescimento e controle de tombamento de plântulas de pepino por rizobactérias. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, n.6, p.691-697, 2008.

LUGTENBERG, B.; KAMILOVA, F. Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria. **Annual Review of Microbiology**, Palo Alto, v. 63, n. 1, p. 541–556, 2009.

MACHADO, E.C.; LAGÔA, A.M.M.A. Trocas gasosas e condutância estomática em três espécies de gramíneas. **Bragantia**, Campinas, v.53, n.2, p.141-149, 1994.

MAHARANA, P.K. Isolation and characterization of IAA producing plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) from rhizospheric soil of ornamental (Marigold) plant. **Int. J. of. Life Science**, Amravati, v. 7, n. 2, p. 333-336, 2019.

MARTINS, B. E. M.; CHAIBUB, A. A.; CORTÊS, M. V. C. B.; SILVA LOBO, V. L.; FILIPPI, M. C. C. Characterization of bacterial isolates for sustainable rice blast control. **Rev. Caatinga**, Mossoró, v. 33, n. 3, p. 702 –712, 2020.

MISE, K.; KOYAMA, Y.; MATSUMOTO, A.; FUJITA, K., KUNITO, T.; SENOO, K.; OTSUKA, S. Pectin drives microbial phosphorus solubilization in soil: Evidence from isolation-based and community-scale approaches. **European Journal of Soil Biology**, Wageningen, v. 97, n. 2, p. 1-7, 2020.

MEENA, V. S.; MEENA, S. K.; VERMA, J. P.; KUMAR, A.; AERON, A.; MISHRA, P. K., BISHTA, J.K.; PATTANAYAKA, A. NAVEEDG, M. DOTANIYA, M. L. Plant beneficial rhizospheric microorganism (PBRM) strategies to improve nutrients use efficiency: A review. **Ecological Engineering**, Praha, v. 107, n. 20, p. 8–32, 2017.

MOHAMED, E. A. H.; FARAG, A. G. Effect of physicochemical parameters on inorganic phosphate solubilisation by *Serratia marcescens* PH1 and organic acids production. **Egyptian Journal of Microbiology**, Cairo, v. 55, n. 1, p. 47-56, 2020.

MOMESSO, L.; CRUSCIOL, C. A. C.; SORATTO, R. P.; TANAKA, K. S.; COSTA, C. H. M.; CANTARELLA, H.; KURAMAE, E. E. Upland rice yield enhanced by early nitrogen fertilization on previous palisade grass. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Netherlands, v. 118, n. 2, p. 115-131, 2020.

MPANGA, I. K.; NKEBIWE, P. M.; KUHKMANN, M.; COZZOLINO, V.; PICCOLO, A.; GEISTLINGER, J.; BERGER, N.; LUDEWIG, U.; NEUMANN, G. The form of N supply determines plant growth promotion by P-solubilizing microorganisms in maize. **Microorganisms**, Basel, v. 7, n. 2, p. 1-18, 2019.

MUTHAYYA, S.; SUGIMOTO, J. D.; MONTGOMERY, S.; MABERLY, G. F. An overview of global rice production, supply, trade, and consumption. **Annals of the New York Academy of Sciences,** Medford, v. 1324, n. 1, p. 7–14, 2014.

NASCENTE, A. S.; FILIPPI, M. C. C.; SOUSA, T. P.; CHAIBUB, A. A.; SOUZA, A. C. A.; LANNA, A. C. Upland rice gas exchange, nutrient uptake and grain yield as affected by potassium fertilization and inoculation of the diazotrophic bacteria *Serratia* spp. **Australian Journal of Crop Science**, Brisbane, v. 13, n. 6, p. 944-953, 2019.

NAUTIYAL, C. S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. **FEMS Microbiology Letters**, Delft, v. 170, n. 1, p. 265–270, 1999.

NEMESKÉRI, N.; HELYES, L. Physiological Responses of Selected Vegetable Crop Species to Water Stress. **Agronomy**, Enschede, v. 9, n. 8, p. 1-19, 2019.

OLDS, C. L.; GLENNON, E. K. K.; LUCKHART, S. Abscisic acid: new perspectives on an ancient universal stress signaling molecule. **Microbes and Infection,** Tokushima, v. 20, n. 9, p. 484-492, 2018.

OUYABE, M.; IRIE, K.; TANAKA, N.; KIKUNO, H.; PACHAKKIL, B.; SHIWACHI, H. Response of Upland Rice (*Oryza sativa L.*) Inoculated with Non-Native Plant Growth-Promoting Bacteria. **Agronomy**, Enschede, v. 10, n. 6, p. 1-16, 2020.

OROZCO-MOSQUEDA, M. D. C.; GLICK, B. R.; SANTOYO, G. ACC deaminase in plant growth-promoting bacteria (PGPB): an efficient mechanism to counter salt stress in crops. **Microbiological research**, Geisenheim, v. 235, n. 6, p. 1-10, 2020.

O'TOOLE, G.; KAPLAN, H. B.; KOLTER, R. Biofilm Formation as Microbial Development. **Annual Review of Microbiology**, Palo Alto, v. 54, n. 1, p. 49–79, 2000.

PAYNE, S. M. lron and virulence in the family Enterobacteriaceae. **Critical Reviews in Microbiology,** Glasgow, v. 16, n. 2, p. 81-111, 1988.

PAREDES FILHO, M. V.; SILVA, A. B.; FLORENTINO, L. A. **Solubilization of Araxá natural phosphate and decomposition of plant residues by bacterial isolates. Agrotecnologia**, Lavras, v. 44, n. 6, p. 1-7, 2020.

PEI, H.; WANG, H.; WANG, L.; ZHENG, F.; DONG, C.H. Regulatory Function of Ethylene in Plant Responses to Drought, Cold, and Salt Stresses. In.: PANDEY, G. K. (ed.) **Mechanism of Plant Hormone Signaling Under Stress.** Hoboken: Wiley-Blackwell, 2017, vol. 1, cap. 13, p. 327–344. 2017.

PEREIRA, S. I. A.; ABREU, D.; MOREIRA, H.; VEGA, A.; CASTRO, P. M. L. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) improve the growth and nutrient use efficiency in maize (*Zea mays* L.) under water deficit conditions. **Heliyon**, Cambridge, v. 6, n. 10, p. 1-9, 2020.

PIETERSE, C. M.; ZAMIOUDIS, C.; BERENDSEN, R. L.; WELLER, D. M.; VAN WEES, S. C.; BAKKER, P. A. Induced systemic resistance by beneficial microbes. **Annual review of phytopathology**, Palo Alto, v. 52, n. 1, p. 347-375, 2014.

PORTER, S. S., BANTAY, R., FRIEL, C. A., GAROUTTE, A., GDANETZ, K., IBARRETA, K.; MOORE, B. M.; SHETTY, P.; SILVER, E.; FRIESEN, M. L. Beneficial microbes ameliorate abiotic and biotic sources of stress on plants. **Functional Ecology**, Londres, v. 34, n. 10, p. 2075-2086, 2020.

PRABHU, A. S.; GUIMARÃES, C. M.; SILVA, G. B. Manejo de Brusone no arroz de terras altas. Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás. p. 6, 2002. (Circular técnica número 52)

PRABHU, A. S.; FILIPPI, M. C. C.; SILVA, G. B.; SILVA-LOBO, V. L.; MORAES, O. P. An unprecedented outbreak of rice blast on a newly released cultivar BRS Colosso in Brazil. In: WANG, G. L; VALENTE, B. **Advances in genetics, genomics and control of rice blast disease**. New York: Springer, New York, 2009. cap. 3, p. 257–266.

PRABHU, N.; BORKAR, S.; GARG, S. Phosphate solubilization by microorganisms: overview, mechanisms, applications and advances. In: MEENA, S.N & NAIK, M. (Ed). **Advances in Biological Science Research**. Cambridge: Academic Press, 1. ed., 2019. cap. 11, p. 161–176.

QUIROGA, G.; ERICE, G.; AROCA, R.; ZAMARREÑO, A. M.; GARCÍA-MINAB, J. M.; RUIZ-LOZANOA, J. M. Radial water transport in arbuscular mycorrhizal maize plants under drought stress conditions is affected by indole-acetic acid (IAA) application. **Journal of Plant Physiology**, Vancouver, v. 256, n. 3, 2020.

RAJ, S.N.; LAVANYA, S.N.; AMRUTHESH, K. N.; NIRANJANA, S. R.; REDDY, M. S.; SHETTY, H. S. Histo-chemical changes induced by PGPR during induction of resistance in pearl millet against downly mildew disease. **Biological Control**, v. 60, n. 2, p. 90-102, 2012.

RAMAKRISHNA, W.; YADAV, R.; LI, K. Plant growth promoting bacteria in agriculture: Two sides of a coin. **Applied Soil Ecology**, Innsbruck, v. 138, n. 6, p. 10-18 2019.

RASHID, S.; CHARLES, T. C.; GLICK, B. R. Isolation and characterization of new plant growth-promoting bacterial endophytes. **Applied Soil Ecology**, Innsbruck, v. 61, n. 10, p. 217–224, 2012.

RÊGO, M. C. F.; SANTOS, G. R.; SILVA, G. B. Rizobacteria: in plants mitigates the water déficit. **Journal of Analytical & Pharmaceutical Research,** Edmond, v. 7, n. 3, p. 283-284, 2018.

RÊGO, M. C. F.; SANTOS, G. R.; SILVA, G. B. Rizobacteria: in plants mitigates the water deficit. J Anal Pharm Res., Bridgeport, v. 7, n. 3, p. 283–284, 2018.

ROUT, G. R.; SAHOO, S. Role of iron in plant growth and metabolism. **Reviews in Agricultural Science**, Tottori, v. 3, n. 1, p. 1–24, 2015.

RYBAKOVA D, CERNAVA T, KÖBERL M, LIEBMINGER S, ETEMADI M, BERG G. Endophytes-assisted biocontrol: novel insights in ecology and the mode of action of Paenibacillus. **Plant and Soil**, p. 1-16, 2015.

SAGHAFI, D.; LAJAYER, B. A.; GHORBANPOUR, M. Engineering bacterial ACC deaminase for improving plant productivity under stressful conditions. In: Sharma, V.; Salwan, R.; Al-Ani, L. K. T. (ed.). **Molecular Aspects of Plant Beneficial Microbes in Agriculture**. 1. ed. Cambridge: Academic Press, 2020. cap. 21, p. 259-277.

SAHA, M.; SARKAR, S.; SARKAR, B.; SHARMA, B. K.; BHATTACHARJEE, S.; TRIBEDI, P. Microbial siderophores and their potential applications: a review. **Environmental Science and Pollution Research**., Bordéus, v. 23, n. 5, 1-16. 2015.

SAIKRISHNA, A.; DUTTA, S.; SUBRAMANIAN, V.; MOSES, J. A.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Ageing of rice: A review. **Journal of Cereal Science**, Pretoria, v. 81, n. 3, p. 161–170, 2018.

SANTOYO, G.; OROZCO-MOSQUEDA, M. C.; GOVINDAPPA, M. Mechanisms of biocontrol and plant growth-promoting activity in soil bacterial species of Bacillus and Pseudomonas: a review. **Biocontrol Science and Technology,** Sassari, v. 22, n. 8, P. 855–872, 2012.

SARWAR, S.; KHALIQ, A.; YOUSRA, M.; SULTAN, T.; AHMAD, N.; KHAN, M. Screening of Siderophore-Producing PGPRs Isolated from Groundnut (Arachis hypogaea L.) Rhizosphere and Their Influence on Iron Release in Soil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, Athens, v. 51, n. 12, p. 1680-1692, 2020.

SAUKA, D. H.; PICCINETTI, C. F.; VALLEJO, D. A.; ONCO, M. I.; PÉREZ, M. P.; BENINTENDE, G. B. New entomopathogenic strain of Bacillus thuringiensis is able to solubilize different sources of inorganic phosphates. **Applied Soil Ecology**, Innsbruck, v. 160, n. 4, p. 1-6, 2021.

SCHAUDER, S.; BASSLER, B. L. The languages of bacteria. **Genes & development,** New York, v. 15, n. 12, p. 1468-1480, 2001.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; PASCHOLATI, S. F. Mecanismos bioquímicos de defesa vegetal. In: PASCHOLATI, S. F; LEITE, B.; STANGARLIN, J. R. (Ed.) **Interação planta-patógeno – fisiologia, bioquímica e biologia molecular**. 1. ed. Piracicaba: Fealq, v. 1, cap. 3, p. 227-248, 2008.

SHA Y.; ZENG Q.; SUI S. Screening and application of Bacillus strains isolated from nonrhizospheric rice soil for the biocontrol of rice blast. **Plant Pathology Journal**, Seoul, v. 36, n. 3, p. 231-243, 2020.

SHARMA, S.; CHANDRA, S.; KUMAR, A.; BINDRABAN, P.; SAXENA, A. K.; PANDE, V.; PANDEY, R. Foliar Application of Iron Fortified Bacteriosiderophore

Improves Growth and Grain Fe Concentration in Wheat and Soybean. **Indian Journal of Microbiology,** Hwayang-Dong, v. 59, n. 3, p. 344-350, 2019.

SHUKLA, A. K. Ecology and Diversity of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Agricultural Landscape. In: SINGH, A. K.; KUMAR, A.; SINGH, P. K. (Ed.). **PGPR Amelioration in sustainable agriculture food security and environmental management**. 1. ed. Cambridge: Woodhead Publishing, 2019. cap. 1, p. 1-15.

SINGH, P. P.; KUJUR, A.; YADAV, A.; KUMAR, A.; SINGH, S. K.; PRAKASH, B. Mechanisms of Plant-Microbe Interactions and its Significance for Sustainable Agriculture. In: SINGH, A. K.; KUMAR, A.; SINGH, P. K. (Ed.). **PGPR Amelioration in sustainable agriculture food security and environmental management**. Cambridge: Woodhead Publishing**,** 1° ed., cap. 2, p. 17-39, 2019.

SMITH, S. M.; LI, C.; LI, J. Hormone function in plants. In: LI, J.; LI, C.; SMITH, S. **Hormone Metabolism and Signaling in Plants**. 1. ed. Cambridge: Academic Press, 2017, cap. 1, p. 1-38.

SOMEYA, N.; NAKAJIMA, M.; HIRAYAE, K.; HIBI, T.; AKUTSU, K. Synergistic Antifungal Activity of Chitinolytic Enzymes and Prodigiosin Produced by Biocontrol Bacterium, Serratia marcescens Strain B2 against Gray Mold Pathogen, Botrytis cinerea. **Journal of General Plant Pathology**, Okayama, v. 67, n. 4, 2001.

SOSBAI- Sociedade sul-brasileira de arroz irrigado. Arroz irrigado: **recomendações técnicas de pesquisa para o sul do Brasil**. Farroupilha: Reunião Técnica Da Cultura do Arroz Irrigado, 2018. 205 p.

SOUZA, D. C.; RUSSINI, A.; VARGAS, R. R.; BOTTEGA, E. L.; SCHLOSSER, J. F.; FARIAS, M. S. Determinação de área mínima para aquisição de colhedora para a colheita do arroz irrigado na fronteira oeste do Rio Grande do Sul. **Tecno-Lógica**, Santa Cruz do Sul, v. 24, n. 2, p. 208-214, 2020.

SPERANDIO, E. M.; VALE, H. M. M.; REIS, M. S.; CORTES, M. V. C. B.; LANNA, A. C.; FILIPPI, M. C. C. Evaluation of rhizobacteria in upland rice in Brazil: growth promotion and interaction of induced defense responses against leaf blast (Magnaporthe oryzae). **Acta Physiol Plant,** Poznan, v. 39, n. 10, p.1-11, 2017.

SPERANDIO, E. M.; ALVES, T. M.; VALE, H. M. M.; GONÇALVES, L. A.; SILVA, E. C.; FILIPPI, M. C. C. Signaling defense responses of upland rice to avirulent and virulent strains of Magnaporthe oryzae, **Journal of Plant Physiology**, Amsterdã, v. 253, n. 9, p. 1-9, 2020.

SPOEL S. H.; DONG X. How do plants achieve immunity? Defence without specialized immune cells. **Nature Reviews Immunology,** Londres, v. 12, n. 2, p. 89–100, 2012.

SWAPNA, S.; SHYLARAJ, K.S. Screening for Osmotic Stress Responses in Rice Varieties under Drought Condition, **Rice Science**, Hangzhou, v. 24, n. 5, p. 253-263, 2017.

SWARUP, R.; PERRY, P.; HAGENBEEK, D.; VAN DER STRAETEN, D.; BEEMSTER, G. T.; SANDBERG, G.; BHALERAO, R.; LJUNG, K.; BENNETT, M. J. Ethylene upregulates auxin biosynthesis in Arabidopsis seedlings to enhance inhibition of root cell elongation. **Plant Cell**, Waterbury, v. 19, n. 7, p. 2186-2196, 2007.

SUNITHA, V. H.; DEVI, D. N.; SRINIVAS, C. Extracellular Enzymatic Activity of Endophytic Fungal Strains Isolated from Medicinal Plants. **Word Journal of Agricultural Sciences**, Cairo, v. 9, n. 1, p. 1-9, 2013.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 2017. 858 p.

TANG, Y. W.; BONNER, J. The Enzymatic inactivation of índole-acetic, acid. **Archives of Biochermistry and Biophysics**, San Antonio, v.13, n.1, p. 11-25, 1947.

TEALE, W. D.; PAPONOV, I. A.; PALME, K. Auxin in action: Signalling, transport and the control of plant growth and development. **Nat. Rev. Mol. Cell Biol**., Londres, v. 7, n. 2, p. 847-859, 2006.

TERRA, T. G.; LEAL, T. C. A. B.; RANGEL, H. N. P.; OLIVEIRA, A. B. Características de tolerância à seca em genótipos de uma coleção nuclear de arroz de terras altas. **Pesquisa agropecuária brasileira,** Brasília, v. 50, n. 9, p.788-796, 2015.

TERRA, T. G.; LEAL, T. C. A. B.; BORÉM, A.; RANGEL, P. H. N. Tolerância de linhagens de arroz de terras altas à seca. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 43, n. 2, p. 201-208, 2013.

TROTSENKO, Y. A.; IVANOVA, E. G.; DORONINA, N. V. Aerobic Methylotrophic Bacteria as Phytosymbionts. **Microbiology**, Moscow, v. 70, n. 6, p. 623–632, 2001.

VASSEUR-CORONADO, M.; BOULOIS, H. D.; PERTOT, I.; PUOPOLO, G. Selection of plant growth promoting rhizobacteria sharing suitable features to be commercially developed as biostimulant products. **Microbiological Research,** Geisenheim, v. 245, n. 4, 2021.

VELASCO-JIMÉNEZ, A.; CASTELLANOS-HERNÁNDEZ, O.; ACEVEDO-HERNÁNDEZ, G.; AARLAND, R.C.; RODRÍGUEZ-SAHAGÚN, A. Bactérias rizosféricas com beneficios potenciales en la agricultura. **Terra Latinoamericana**, Chapingo, v. 38, n. 2, p. 333-345, 2020.

VURUKONDA, S. S. K. P., VARDHARAJULA, S., SHRIVASTAVA, M., SKZ, A. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. **Microbiol. Res.**, n. 184, p.13-24, 2016.

WALTERS, D. R.; RATSEP, J.; HAVIS, N. D. Controlling crop diseases using induced resistance: challenges for the future. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 64, n. 5, p. 1263–1280, 2013.

WANG, W.; WU, Z.; HE, Y.; HUANG, Y.; LI, X.; YE, B. C. Plant growth promotion and alleviation of salinity stress in Capsicum annuum L. by Bacillus isolated from saline soil in Xinjiang. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Plymouth, v. 164, n. 11, p. 520–529, 2018.

WANG, B.; CAI, W.; LI, J.; WAN, Y.; LI, Y.; GUO, C.; Wilkesa, A.; Youa, S.; Qina, X.; Gaoa, Q.; Liu, K. Leaf photosynthesis and stomatal conductance acclimate to elevated [CO2] and temperature thus increasing dry matter productivity in a double rice cropping system. **Field Crops Research**, Jinan, n. 248, p. 1-11, 2020.

YAMAGUCHI, M. M. **Produção, purificação e caracterização da quitinase de *Cellulomonas cellulans* Fxx**. 2003. 92 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos)- Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

YAMAGUCHI, I. Overview on the Chemical Control of Rice Blast Disease. In: Kawasaki, S. (ed.), **Rice Blast: Interaction with Rice and Control**. 1 ed. Amsterdan: Springer Holanda, 2004, cap. 1, p. 1–13, 2004.

YAMORI, W.; KONDO, E.; SUGIURA, D.; TERASHIMA, I.; SUZUKI, Y.; MAKINO, A. Enhanced leaf photosynthesis as a target to increase grain yield: Insights from transgenic rice lines with variable Rieske FeS protein content in the cytochrome b6/f complex. **Plant, Cell & Environment,** v. 39, n. 1, p. 80–87, 2016.

YOUSEF, N. M. H. Capability of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) for producing indole acetic acid (IAA) under extreme conditions. **European Journal of Biological Research**, Poznán, v. 8, n. 4, p. 174-182, 2018.

YU, X.; FENG, B.; HE, P.; SHAN, L. From Chaos to Harmony: Responses and Signaling upon Microbial Pattern Recognition. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 55, n. 1, p. 109–137, 2017.

VERBRUGGEN, N.; HERMANS, C. Proline accumulation in plants: a review. **Amino Acids**, Mainz, v. 35, n. 3, p. 753-759, 2008.

XIAO, S.; LIU, L.; ZHANG, Y.; SUN, H.; ZHANG, K.; BAI, Z.; DONG, H.; LI, C. Fine root and root hair morphology of cotton under drought stress revealed with RhizoPot. **Journal of Agronomy and Crop Science**. v. 206, n. 6, p. 1-15, 2020.

WALTER, M.; MARCHEZAN, E.; AVILA, L. A. Arroz: composição e características nutricionais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 4, p. 1184- 1192, 2008.

WALTERS, D. R.; RATSEP, J.; HAVIS, N. D. Controlling crop diseases using induced resistance: challenges for the future. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v. 64, n. 5, p. 1263–1280, 2013.

WANDER, A. E.; SILVA, O. F. Rentabilidade da produção de arroz no Brasil. In: CAMPOS, S. K.; TORRES, D. A. P.; PONCHIO, A. P. S.; BARROS, G. S. de C. (Org.). **Sustentabilidade e sustentação da produção de alimentos: o desafio da rentabilidade**

na produção. Brasília, DF: Centro de Gestão e Estudos Estratégicos, 2014. v. 2, cap. 5, p. 117-133.

WIRASWATI, S. M.; RUSMANA, I.; NAWANGSIH, A. A.; WAHYUDI, A. T. Antifungal activities of bacteria producing bioactive compounds isolated from rice phyllosphere against *Pyricularia oryzae*. Institute of Plant Protection. **Journal of Plant Protection Research**, Poznan, v. 59, n. 1, p. 86-94, 2019.

ZANG, X.; KOMATSU, S. A proteomics approach for identifying osmotic-stress-related proteins in rice. **Phytochemistry**, Nantes, v. 68, n. 4, p. 426 -437 2007.

ZHANG, J.; JIA, W.; YANG, J.; ISMAIL, A. M. Role of ABA in integrating plant responses to drought and salt stresses. **Field Crops Research**, Jinan, v. 97, n. 1, p. 111–119, 2006.

ZHANG, J.; WANG, P.; FANG, L.; ZHANG, Q.A.; YAN, C.; CHEN, J. Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from mushroom residues and their effect on tomato plant growth promotion. **Pol J Microbiol**, Varsóvia, v. 66, n. 1, p. 57–65, 2017.

ZHANG, J.; FENG, L.; OUYANG, Y.; HU, R.; XU, H.; WANG, J. Phosphate-solubilizing bacteria and fungi in relation to phosphorus availability under different land uses for some latosols from Guangdong, China. **CATENA**, Amsterdan, v. 195, n. 12, p. 1-7, 2020.

ZHANG, Y.; XU, J.; CHENG, Y.; WANG, C.; LIU, G.; YANG, J. The effects of water and nitrogen on the roots and yield of upland and paddy rice. **Journal of Integrative Agriculture**, Beijing, v. 19, n. 5, p. 1363–1374. 2020.

ZIPFEL, C.; ROBATZEK, S.; NAVARRO, L.; OAKELEY, E. J.; JONES, J. D. G.; FELIX, G.; BOLLER, T. Bacterial disease resistance in Arabidopsis through flagellin perception. **Nature**. Berlin, v. 428, n. 6984, p. 764–767, 2004.

ZHU, J. K. Abiotic Stress Signaling and Responses in Plants. **Cell**, Cambridge, v. 167, n. 2, p. 313–324, 2016.