



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

**RIZOBACTÉRIAS E SILÍCIO NO MANEJO DA CULTURA DO ARROZ DE  
TERRAS ALTAS AO DÉFICIT HÍDRICO E À BRUSONE**

RODRIGO SILVA DE OLIVEIRA

**Orientadora:**

Dra. Marta Cristina Corsi de Filippi

MARÇO - 2025



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

Dissertação     Tese     Outro\*: \_\_\_\_\_

\*No caso de mestrado/doutorado profissional, indique o formato do Trabalho de Conclusão de Curso, permitido no documento de área, correspondente ao programa de pós-graduação, orientado pela legislação vigente da CAPES.

**Exemplos:** Estudo de caso ou Revisão sistemática ou outros formatos.

#### 2. Nome completo do autor

Rodrigo Silva de Oliveira

#### 3. Título do trabalho

RIZOBACTÉRIAS E SILÍCIO NO MANEJO DA CULTURA DO ARROZ DE TERRAS ALTAS AO DÉFICIT HÍDRICO E À BRUSONE

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

Concorda com a liberação total do documento  SIM     NÃO<sup>1</sup>

[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 **Rodrigo Silva De Oliveira, Discente**, em 27/03/2025, às 10:56, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Marta Cristina Corsi de Filippi**, **Usuário Externo**, em 27/03/2025, às 10:58, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

---



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](https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **5267858** e o código CRC **B2D4D273**.

---

**Referência:** Processo nº 23070.013021/2025-23

SEI nº 5267858

**RODRIGO SILVA DE OLIVEIRA**

**RIZOBACTÉRIAS E SILÍCIO NO MANEJO DA CULTURA DO ARROZ DE  
TERRAS ALTAS AO DÉFICIT HÍDRICO E À BRUSONE**

Tese apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Escola de Agronomia, da Universidade Federal de Goiás, como exigência para obtenção do título de Doutor em Agronomia.

**Área de concentração:** Fitossanidade

**Orientadora:**

Dra. Marta Cristina Corsi de Filippi

**Coorientadora:**

Dra. Anna Cristina Lanna

GOIÂNIA, GO -BRASIL

MARÇO – 2025

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

Oliveira, Rodrigo Silva de  
RIZOBACTÉRIAS E SILÍCIO NO MANEJO DA CULTURA DO  
ARROZ DE TERRAS ALTAS AO DÉFICIT HÍDRICO E À BRUSONE  
[manuscrito] / Rodrigo Silva de Oliveira. - 2025.  
CLXXXVII, 187 f.

Orientador: Prof. Marta Cristina Corsi de Filippi; co-orientador  
Anna Cristina Lanna.  
Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Escola de  
Agronomia (EA), Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Goiânia,  
2025.

Inclui siglas, abreviaturas, gráfico, tabelas.

1. Sustentabilidade. 2. Produtividade. 3. Proteção. 4. Biotecnologia.  
5. Oryza sativa. I. Filippi, Marta Cristina Corsi de, orient. II. Título.

CDU 631/635



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

ESCOLA DE AGRONOMIA

## ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Ata Nº PPGA/040/2025 da sessão de Defesa de Tese de **Rodrigo Silva de Oliveira** que confere o título de Doutor em Agronomia, na área de concentração em Fitossanidade.

Ao décimo dia do mês de março do ano de dois mil e vinte e cinco, a partir das treze horas e trinta minutos, por meio de videoconferência, realizou-se a sessão pública de Defesa de Tese intitulada “RIZOBACTÉRIAS E SILÍCIO NO MANEJO DA CULTURA DO ARROZ DE TERRAS ALTAS AO DÉFICIT HÍDRICO E À BRUSONE”. Os trabalhos foram instalados pela Orientadora, Doutora Marta Cristina Corsi de Filippi (Embrapa Arroz e Feijão) com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: Professora Leila Garces de Araujo (ICB/UFG), membro titular externo; Professora Susana Cristine Siebeneichler (UFT), membro titular externo, Doutor Daniel Augusto Schurt (Embrapa Trigo), membro titular externo e Professor Eder Marques (EA/UFG), membro titular externo. Durante a arguição os membros da banca **não fizeram** sugestão de alteração do título do trabalho. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Tese tendo sido o candidato **aprovado** pelos seus membros. Proclamados os resultados pela Doutora Marta Cristina Corsi de Filippi, Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora, ao décimo dia do mês de março do ano de dois mil e vinte e cinco.

### TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA



Documento assinado eletronicamente por **Leila Garces De Araujo, Professor do Magistério Superior**, em 31/03/2025, às 09:57, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Eder Marques, Professor do Magistério Superior**, em 31/03/2025, às 10:14, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Susana Cristine Siebeneichler, Usuário Externo**, em 31/03/2025, às 11:52, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Marta Cristina Corsi de Filippi, Usuário Externo**, em 31/03/2025, às 14:59, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Daniel Augusto Schurt, Usuário Externo**, em 07/04/2025, às 08:31, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

---



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](https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **5273874** e o código CRC **E5727464**.

---

**Referência:** Processo nº 23070.013021/2025-23

SEI nº 5273874

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por toda força e todas as bênçãos recebidas durante toda essa trajetória.

Aos meus pais, Nega e Messias, que são os pilares da minha vida e de todo o meu sucesso, por serem minhas fontes de inspiração e caráter. Aos meus irmãos Robson e Erika pela parceria e ajudas nos momentos difíceis, me entendendo e fortalecendo.

Aos meu Avô Paulo Gomes (*in memoriam*) e meu Tio Euilson (*in memoriam*) por todo apoio, carinho, sempre acreditando no meu sucesso.

Aos meus primos, Graciela, Angelica, Isabela, por todo apoio que me concederam, pela motivação, amizade e companheirismo

As amigas construídas no doutorado, Ariany, Ajulo, Flávio, Géssica, Nágila, Mayti, Marco Antônio, Lorena, Laura, Kamila, Kassia, Vanislene, Suelen.

A minha orientadora Profa. Dra. Marta Cristina Corsi de Filippi pela dedicação e exemplo, estando sempre presente com calma e paciência para ensinar quando foi necessário e sempre preocupada com meu aprendizado e crescimento, muito obrigado.

A minha coorientadora Profa. Dra. Anna Cristina Lanna que também sempre exerceu dedicação, serenidade para ensinar, e nunca hesitou em medir esforços para me orientar.

Aos técnicos do Laboratório de Microbiologia Embrapa Arroz e Feijão, Elder, Maria Mônica, Lívia, Ronair, Anaires, José Paixão, Cleiciomar, Leandro, Preto, pelos ensinamentos e apoio no desenvolver das pesquisas.

Ao laboratório CRTI

A Escola de Agronomia da UFG e a Embrapa Arroz e Feijão pelas instalações e contribuição na minha formação acadêmica, oferecendo estrutura e apoio para alcançar a integridade do meu sucesso profissional.

A CAPES pela concessão da bolsa de estudo.

Por fim, não que menos importante, a todos os amigos, professores e funcionários que fizeram parte de minha formação, contribuindo para minha constante construção como ser humano.

A todos, meus sinceros e gratos agradecimentos!

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>15</b>
2.1	OBJETIVO GERAL .....	15
2.2	OBJETIVO ESPECÍFICO .....	15
<b>3.</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>16</b>
3.1	CULTURA DO ARROZ .....	16
3.2	BRUSONE NO ARROZ .....	17
3.3	RIZOBACTÉRIAS NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE PLANTAS .....	19
3.3.1	<b>Solubilização de fósforos</b> .....	20
3.3.2	<b>Produção de fitormônios</b> .....	21
3.3.3	<b>Sideróforos</b> .....	21
3.3.4	<b>Formação de biofilme</b> .....	22
3.4	RIZOBACTÉRIAS NA MITIGAÇÃO DE ESTRESSE BIÓTICO E ABIÓTICO .....	22
3.4.1	<b>Resistencia Sistêmica</b> .....	24
3.4.2	<b>Resposta de enzimas antioxidantes</b> .....	26
3.5	SILÍCIO NA MITIGAÇÃO DE ESTRESSE ABIÓTICOS E BIÓTICOS .....	27
<b>4.</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>30</b>
	<b>CAPÍTULO1</b>	
	<b>Survey and genomic characterization of <i>Serratia marcescens</i> on endophytism, biofilm, and phosphorus solubilization in rice plants</b> .....	<b>39</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>42</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>45</b>
2.1	MICROORGANISMO .....	45
2.2	SEQUENCIAMENTO E ANOTAÇÃO DO GENOMA .....	45
2.3	MICROBIOLIZAÇÃO DE SEMENTES .....	45
2.4	EFICIÊNCIA DE BRM 32114 NA SOLUBILIZAÇÃO DE FÓSFORO NÃO LÁBIL EM CULTIVO <i>IN VITRO</i> .....	46
2.4.1	<b>Eficiência de BRM 32114 em colonizar endofiticamente as plântulas de arroz e solubilização de fósforo em meio NBRIP</b> .....	46
2.3.2	<b>Microscopia eletrônica de varredura – MEV</b> .....	47
2.4.3	<b>Confirmação da presença de <i>S. marcescens</i> em cortes de plântulas de arroz</b> .....	47
2.5	EFICIÊNCIA DE BRM32114 NA SOLUBILIZAÇÃO DE FÓSFORO EM CASA DE VEGETAÇÃO .....	49
2.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	50
<b>3</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>50</b>
3.1	ANÁLISE DO RASCUNHO DE GENOMA DO BRM32114 .....	50

3.1	EFICIÊNCIA DE BRM 32114 NA SOLUBILIZAÇÃO DE FÓSFORO NÃO-LÁBIL EM CULTIVO <i>IN VITRO</i> .....	51
3.2	COLONIZAÇÃO ENDOFÍTICA DE <i>Oryza sativa</i> POR <i>S. marcescens</i> .....	52
3.2.1	<b>Microscopia eletrônica de varredura – MEV</b> .....	54
3.3	EFICIÊNCIA DE BRM32114 NA SOLUBILIZAÇÃO DE FÓSFORO NÃO-LÁBIL EM CULTIVO <i>IN VITRO</i> .....	56
4	<b>DISCUSSÃO</b> .....	58
5	<b>CONCLUSÃO</b> .....	64
6	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	65

## CAPÍTULO 2

	<b>Combinação de rizobactérias e silício aumenta a tolerância ao estresse hídrico induzido por polietilenoglicol (PEG) em plantas de arroz fertilizadas com fósforo não-lábil cultivadas <i>in vitro</i></b> .....	79
1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	82
2	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	85
2.1	MICROORGANISMOS .....	85
2.2	MICROBIOLIZAÇÃO DE SEMENTES .....	85
2.3	CULTIVO <i>IN VITRO</i> , ENRIQUECIDO COM ÁCIDO MONOSSILÍCICO E FÓSFORO NÃO-LÁBIL, DE PLÂNTULAS DE ARROZ DE TERRAS ALTAS INOCULADAS COM RIZOBACTÉRIAS E SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA INDUZIDA POR PEG-6000 .....	85
2.4	EFICIÊNCIA DOS ISOLADOS BRM 32114 E BRM 32210 EM SOLUBILIZAR FÓSFORO NÃO-LÁBIL E EM COLONIZAR ENDOFITICAMENTE AS PLÂNTULAS DE ARROZ EM MEIO DE CULTURA .....	86
2.4.1	<b>Microscopia Eletrônica De Varredura – MEV</b> .....	87
3	<b>ANÁLISE ESTATÍSTICA</b> .....	87
4	<b>RESULTADOS</b> .....	88
4.1	CULTIVO <i>IN VITRO</i> , ENRIQUECIDO COM ÁCIDO MONOSSILÍCICO E FÓSFORO NÃO-LÁBIL, DE PLÂNTULAS DE ARROZ DE TERRAS ALTAS INOCULADAS COM RIZOBACTÉRIAS E SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA INDUZIDA POR PEG-6000 .....	88
4.2	COLONIZAÇÃO ENDOFÍTICA DE <i>Oryza sativa</i> por <i>S. marcescens</i> (BRM 32114) E <i>B. toyonensis</i> (BRM 32110) .....	90
4.2.1	<b>Ensaio 0 Mpa (0 PEG)</b> .....	90
4.2.2	<b>Ensaio -2 Mpa (-2 PEG)</b> .....	93
4.2.3	<b>Ensaio -4 Mpa (-4 PEG)</b> .....	94
4.3	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA – MEV .....	96
4.3.1	Ensaio 0 PEG (0 Mpa) .....	96
4.3.2	Ensaio -2 PEG (-2 Mpa) .....	98

4.3.3	Ensaio -4 PEG (-4 Mpa).....	101
5	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>103</b>
6	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>108</b>
7	<b>REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>109</b>
<b>CAPÍTULO 3</b>		
<b>Sinergismo de rizobactérias e silício para amenizar os efeitos deletérios da deficiência hídrica e da brusone em plantas de arroz de terras altas em casa de vegetação .....</b>		
1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>117</b>
2	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>119</b>
2.1	MICROORGANISMOS .....	119
2.2	MICROBIOLIZAÇÃO DE SEMENTES .....	119
2.3	CARACTERIZAÇÃO E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	120
2.4	INOCULAÇÃO COM <i>M. oryzae</i> .....	121
2.5	AVALIAÇÃO DA INCIDÊNCIA E SEVERIDADE DE BRUSONE E PRODUTIVIDADE .....	122
2.6	COLETA DE FOLHAS E OBTENÇÃO DO EXTRAÇÃO BRUTO .....	122
2.7	QUANTIFICAÇÃO DE ENZIMAS RELACIONADAS À PATOGÊNESE .....	123
2.7.1	Atividade de quitinase (CHI, EC 3.2.1.14) .....	123
2.7.2	$\beta$ -1,3- glucanase (GLU, EC 3.2.1.6).....	123
2.7.3	Atividade de Lipoxigenase (LOX, EC 1.13.11.12).....	123
2.4	Atividade de Fenilalanina amônia-liase (PAL EC 4.3.1.5) .....	124
2.8	QUANTIFICAÇÃO DE ENZIMAS ANTIOXIDANTE.....	124
2.8.1	Superoxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1).....	124
2.8.2	Catalase (CAT, EC. 1.11.1.6).....	125
2.8.3	Peroxidase (POX EC 1.11.1.7).....	125
2.8.4	Ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.11).....	125
2.9	INDICADORES BIOQUÍMICAS .....	126
2.9.1	Peróxido de hidrogênio ( H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ).....	126
2.9.2	Teores de Pigmentos.....	126
3	<b>ANÁLISE ESTATÍSTICA</b> .....	<b>126</b>
4	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>127</b>
4.1	INCIDÊNCIA DE BRUSONE NA AURÍCULA E LÍGULA .....	127
4.2	SEVERIDADE DE BRUSONE NA PANÍCULA.....	128
4.3	ATIVIDADE DAS ENZIMAS DE DEFESA.....	130
4.4	ATIVIDADE DAS ENZIMAS ANTIOXIDANTES.....	133
4.5	INDICADORES BIOQUÍMICOS .....	135

4.6	PRODUTIVIDADE DA CULTIVAR BRS ESMERALDA .....	137
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>138</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>144</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>145</b>
	<b>CAPÍTULO 4</b>	
	<b>Rhizobacteria and silicon modulate defense, oxidative stress, and suppress blast disease in upland rice plants in low phosphorus soils under field conditions</b> .....	<b>151</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>154</b>
<b>2.</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>158</b>
2.1	MICROORGANISMOS .....	158
2.2	MICROBIOLIZAÇÃO DE SEMENTES .....	158
2.3	CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	158
2.4	AVALIAÇÃO SEVERIDADE DE BRUSONE .....	159
2.5	COLETA E EXTRAÇÃO DE PROTEÍNA.....	159
2.6	QUANTIFICAÇÃO DE ENZIMAS RELACIONADAS COM A DEFESA DA PLANTA .....	160
2.6.1	Atividade de quitinase (CHI, EC 3.2.1.14) .....	160
2.6.2	$\beta$ -1,3- glucanase (GLU, EC 3.2.1.6).....	160
2.6.3	Atividade de Lipoxigenase (LOX, EC 1.13.11.12) .....	161
2.6.4	Atividade de Fenilalanina amônia-liase (PAL EC 4.3.1.5) .....	161
2.7	QUANTIFICAÇÃO DE ENZIMAS COM ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	161
2.7.1	Superoxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1).....	162
2.7.2	Catalase (CAT, EC. 1.11.1.6).....	162
2.7.3	Peroxidase (POX EC 1.11.1.7).....	162
2.7.4	Ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.11.).....	163
<b>2.8</b>	<b>INDICADORES DE ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS</b> .....	<b>163</b>
2.8.1	Peróxido de hidrogênio (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ).....	163
2.8.2	Teores de pigmentos.....	163
2.9	PRODUTIVIDADE .....	163
2.10	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	164
<b>3.</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>165</b>
3.2	ATIVIDADE DAS ENZIMAS DE DEFESA .....	167
3.3	ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES .....	170
3.4	INDICADORES BIOQUÍMICOS .....	174
3.5	PRODUTIVIDADE DA CULTIVAR BRS ESMERALDA .....	177
3.6	CORRELAÇÃO DE PEARSON ENTRE VARIÁVEIS DA SAFRA 1 E SAFRA 2 .....	177

<b>4.</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>179</b>
<b>5.</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>186</b>
<b>6</b>	<b>REFÊRENCIAS.....</b>	<b>187</b>
	<b>CAPÍTULO 5</b>	
	<b>Combinação de rizobactérias e silício reduz a severidade de brusone, melhora absorção de nutrientes e rendimento de plantas de arroz de terras altas cultivadas em baixo fosforo em condições de campo.....</b>	<b>198</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>201</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>203</b>
2.1	MICROORGANISMOS.....	203
2.2	MICROBIOLIZAÇÃO DE SEMENTES.....	203
2.3	CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	203
2.4	AVALIAÇÃO SEVERIDADE DE BRUSONE.....	204
2.5	COMPONETES DE PRODUÇÃO E PRODUTIVIDADE.....	204
2.6	DETERMINAÇÃO DO DOS NUTRIENTES FOLIARES.....	205
3.	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	205
<b>4</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>206</b>
4.1	SEVERIDADE DE BRUSONE FOLIAR E BRUSONE NA PANÍCULA.....	206
4.2	PARÂMETROS AGRONÔMICOS.....	209
4.3	MACRONUTRIENTES FOLIARES.....	210
4.4	MICRONUTRIENTES FOLIARES.....	212
4.5	PRODUTIVIDADE DA CULTIVAR BRS ESMERALDA.....	214
4.6	CORRELAÇÃO DE PEARSON ENTRE VARIÁVEIS DA SAFRA 1 E SAFRA 2.....	214
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>217</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>222</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>223</b>

---

\* Os capítulos 1 e 4 ilustram casos de artigos já publicados em periódicos científicos, cujas folhas são contadas, mas não paginadas; pois, já recebem a paginação da própria revista.

De Oliveira, R. S. **Rizobactérias e silício no manejo da cultura do arroz de terras altas ao déficit hídrico e à brusone**. 2025. xxx f. Tese (Doutorado em Agronomia: Fitossanidade) - Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2025.<sup>1</sup>

## RESUMO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é um dos cereais que apresentam maior potencial no suprimento e manutenção nutricional da alimentação humana. Fatores bióticos (*Magnaporthe oryzae*) e abióticos (deficiência hídrica) podem comprometer as lavouras de arroz, como as doenças e restrição hídrica que diminuem a produtividade e afetam a qualidade dos grãos. Além disso, a oferta limitada de Fósforo (P) no solo do Cerrado estimula a busca por tecnologias como rizobactérias solubilizadoras e promotoras de crescimento vegetal para melhorar a aquisição de minerais escassos pelas plantas e mitigação desses estresses. No presente estudo, objetivou-se avaliar a combinação entre rizobactérias promotoras do crescimento vegetal (*Serratia marcescens* e *Bacillus toyonensis*) e silício (Si) no manejo da cultura de arroz de terras altas ao déficit hídrico e à brusone. No primeiro estudo, *S. marcescens* demonstrou potencial para solubilizar fósforo não lábil e promover o crescimento vegetal. A inoculação com *S. marcescens* aumentou a área radicular em 61,5%, o volume em 31,5% e o comprimento em 101%. A presença de halos de solubilização de fósforo ao redor de segmentos radiculares confirmou sua ação solubilizadora. A microscopia eletrônica de varredura (MEV) detectou biofilmes e microcolônias da bactéria. A análise do genoma revelou genes relacionados à biossíntese de ácido indol-3-acético, solubilização de fosfato e produção de biofilme. No segundo estudo, a associação de *S. marcescens* e *B. toyonensis* com silício e fósforo não lábil foi testada sob diferentes pressões osmóticas para avaliar a resistência ao estresse hídrico. A combinação aumentou a área superficial: 27,5% (0 MPa), 20% (-2 MPa) e 18,5% (-4 MPa); volume radicular: 150% (0 MPa), 58% (-2 MPa) e 55% (-4 MPa); comprimento total: 67,5% (0 MPa) e 116,5% (-2 MPa); raízes grossas: 158,5% (-2 MPa) e 25,5% (-4 MPa); raízes muito finas: 18,5% (-2 MPa) e 30% (-4 MPa). A presença de halos ao redor de segmentos vegetais microbiolizados confirmou a solubilização de fósforo. A MEV revelou biofilmes, microcolônias e glicocálice em diferentes condições osmóticas. No terceiro estudo as rizobactérias, combinadas com Si, suprimiram a brusone e mitigaram os efeitos da seca no arroz cultivado em casa de vegetação. Os principais resultados incluem: produtividade do arroz aumentou em 72% sob déficit hídrico e 35% sob irrigação; redução da brusone na panícula (PBS) em 60% sob déficit hídrico e 77% sob irrigação; redução da brusone na aurícula e lígula em 44% sob déficit hídrico e 70% sob irrigação; modulação positiva de enzimas antioxidantes e proteínas relacionadas à defesa vegetal. No quarto estudo analisou-se o impacto da associação de bioagentes e silício na supressão da brusone e no crescimento do arroz sob baixa disponibilidade de fósforo em duas safras de campo. Os bioagentes e o silício reduziram a brusone foliar (LBS) em 77,93% e a brusone na panícula (PBS) em 62%. Além disso: a Área sob a Curva de Progresso da Doença (AACPD) foi reduzida em 77,3% (LBS) e 60,5% (PBS); o rendimento de grãos na primeira safra (E1) foi 25% maior do que na segunda safra (E2). Em E2, a produtividade aumentou 72% (2435 kg.ha<sup>-1</sup>) em comparação ao controle. A combinação de bioagentes e silício melhorou indicadores bioquímicos e enzimáticos, reduzindo o impacto da brusone e otimizando a produtividade do arroz em condições de baixa fertilidade do solo. No quinto estudo a interação entre rizobactérias e silício promoveu crescimento, absorção de nutrientes e produtividade do arroz sob baixa disponibilidade de fósforo. Os resultados foram: supressão da brusone redução de 78% (LBS) e 62,37% (PBS); redução da AACPD: 77%

(LBS) e 60,5% (PBS); aumento na absorção de nutrientes: fósforo (45%); potássio (21%); ferro (94%); manganês (50%); zinco (10%). Melhoria no crescimento da planta: altura aumentou 10%; número de perfilhos 19%; número de panículas 43%; biomassa aérea aumentou 49%; redução da esterilidade das panículas em 49%; produtividade aumentou 72% em E2 (2435,72 kg.ha<sup>-1</sup>) em comparação ao controle. Portanto, diante dos resultados dos estudos desenvolvidos, podemos concluir que rizobactérias e silício podem ser inserido no manejo integrado de brusone e no manejo para produtividade de arroz de terras altas.

*Palavras-chave:* Sustentabilidade, Produtividade, Proteção, Biotecnologia

---

<sup>1</sup> Orientadora: Dra. Marta Cristina Corsi de Filippi

Coorientadora: Dra. Anna Cristina Lanna

De Oliveira, R. S. **Rhizobacteria and silicon in the management of upland rice to water deficit and blast**. 2025. xxx f. Thesis (Doctorate in Agronomy: Plant Health) - School of Agronomy, Federal University of Goiás, Goiânia, 2025.

## ABSTRACT

Rice (*Oryza sativa* L.) is one of the cereals with the highest potential for providing and maintaining human nutritional needs. Biotic factors (*Magnaporthe oryzae*) and abiotic factors (water deficiency) can compromise rice crops, such as diseases that reduce productivity and affect grain quality, as well as conditions of water stress. Additionally, the limited availability of Phosphorus (P) in the Cerrado soil stimulates the search for technologies such as phosphorus-solubilizing rhizobacteria and plant growth promoters to improve the acquisition of scarce minerals by plants and mitigate these stresses. The present study aimed to evaluate the combination of plant growth-promoting rhizobacteria (*Serratia marcescens* and *Bacillus toyonensis*) and silicon (Si) in managing upland rice crops under water deficit and blast stress. In the first study, *S. marcescens* showed potential to solubilize non-labile phosphorus and promote plant growth. Inoculation with *S. marcescens* increased root area by 61.5%, volume by 31.5%, and length by 101%. The presence of phosphorus solubilization halos around root segments confirmed its solubilizing action. Scanning electron microscopy (SEM) detected biofilms and microcolonies of the bacteria. Genome analysis revealed genes related to indole-3-acetic acid biosynthesis, phosphate solubilization, and biofilm production. In the second study, the combination of *S. marcescens* and *B. toyonensis* with silicon and non-labile phosphorus was tested under different osmotic pressures to evaluate resistance to water stress. The combination increased surface area: 27.5% (0 MPa), 20% (-2 MPa), and 18.5% (-4 MPa); root volume: 150% (0 MPa), 58% (-2 MPa), and 55% (-4 MPa); total length: 67.5% (0 MPa) and 116.5% (-2 MPa); thick roots: 158.5% (-2 MPa) and 25.5% (-4 MPa); very fine roots: 18.5% (-2 MPa) and 30% (-4 MPa). The presence of halos around microbiolized plant segments confirmed phosphorus solubilization. SEM revealed biofilms, microcolonies, and glycocalyx under different osmotic conditions. In the third study, rhizobacteria combined with Si suppressed blast and mitigated the effects of drought in rice grown in a greenhouse. Key results include: rice productivity increased by 72% under water deficit and 35% under irrigation; reduction of panicle blast (PBS) by 60% under water deficit and 77% under irrigation; reduction of blast on the auricle and ligule by 44% under water deficit and 70% under irrigation; positive modulation of antioxidant enzymes and defense-related proteins. In the fourth study, the impact of bioagents and silicon on suppressing blast and promoting rice growth under low phosphorus availability was analyzed in two field crops. Bioagents and silicon reduced leaf blast (LBS) by 77.93% and panicle blast (PBS) by 62.37%. Additionally: the Area Under the Disease Progress Curve (AUDPC) was reduced by 77.3% (LBS) and 60.6% (PBS); grain yield in the first crop (E1) was 25% higher than in the second crop (E2). In E2, productivity increased by 71.95% (2435.72 kg/ha) compared to the control. The combination of bioagents and silicon improved biochemical and enzymatic indicators, reducing the impact of blast and optimizing rice productivity in low soil fertility conditions. In the fifth study, the interaction between rhizobacteria and silicon promoted growth, nutrient absorption, and rice productivity under low phosphorus availability. The results were: suppression of blast, reduction by 77.93% (LBS) and 62.37% (PBS); reduction of AUDPC: 77.3% (LBS) and 60.6% (PBS); increased nutrient absorption: phosphorus (45%); potassium (21%); iron (94%); manganese (50%); zinc (10%). Improvement in plant growth: height increased by

10%; number of tillers by 19%; number of panicles by 43%; aerial biomass increased by 49%; reduction of panicle sterility by 49%; productivity increased by 72% in E2 (2435.72 kg/ha) compared to the control. Therefore, based on the results of the studies, we can conclude that rhizobacteria and silicon can be integrated into the management of blast and upland rice productivity.

*Keywords:* Sustainability, Productivity, Protection, Biotechnology

---

Adivisor: Dr<sup>a</sup>. Marta Cristina Corsi de Filippi  
Co-advvisor: Dr<sup>a</sup>. Anna Cristina Lanna

## 1 INTRODUÇÃO

Agricultura é consolidada como um setor estratégico para o Brasil. Isso devido a produção ser intensificada tanto pelo setor empresarial como pela agricultura familiar. Esse setor responsável por boa parte das exportações brasileiras não aconteceu unicamente pela abundância de terra, mas também de maneira especial pelo uso de novas tecnologias (Gelinski & Filippi, 2016).

O uso das novas tecnologias para o processo de modernização do setor agrícola no Brasil ao longo das últimas décadas, tem levado ao aumento da produção de alimentos, principalmente na produção de grãos e cereais (Baroni et al. 2017). Nesse cenário, o arroz (*Oryza sativa* L.) assumi importante papel, pois é considerado alimento essencial na dieta humana e responsável por 25-80% das calorias na dieta diária constituindo a base alimentar de mais da metade da população mundial (Walter, 2008; Kumar et al. 2017). É o terceiro cereal mais cultivado no mundo, excusos países do continente asiático, o Brasil é o principal produtor (FAO, 2018).

No Brasil, o cultivo de arroz de terras altas está concentrado nas regiões do Cerrados, que corresponde os estados de Amazônia, Mato Grosso, Goiás, Tocantins, Roraima, Pará e Maranhão (Oliveira Neto, 2015). O sistema de cultivo de arroz de terras altas é afetado por fatores bióticos e abióticos que provocam alterações fisiológicas e bioquímicas nas plantas, afetando o desenvolvimento e produtividade da cultura (Marschner, 1995). Esses fatores são caracterizados pela baixa de precipitação, período de estiagem comuns na região Centro Oeste do Brasil, denominados “veranicos” que resulta em estresse hídrico, baixa fertilidade natural do solo nas regiões de cultivo e a ocorrência de estresses bióticos como a brusone causada pelo patógeno *Magnaporthe oryzae*, que pode levar a perdas e baixo desempenho, afetando negativamente a produção, além de levar o agricultor a fazer uso excessivo de fungicidas, ameaçando a saúde do meio ambiente dos trabalhadores (Enebe & Babalola, 2018).

O desenvolvimento de novas ferramentas biotecnológicas na mitigação dos fatores bióticos e abióticos que interfere na cultura de arroz em terras altas vêm sendo desenvolvidas para diversificar as técnicas de manejo na produção, e reduzir os paradoxos entre o cultivo irrigado, uma vez que arroz de terras altas, em relação ao arroz irrigado, apresenta uma redução em torno de 51% no uso da água e um aumento de 30-80 % de produtividade da

água, expressa em gramas de grão por quilograma de água (Bouman et al. 2006; Parthasarathi et al. 2012).

Dentre as tecnologias potenciais que podem mitigar os estresses causados pela deficiência hídrica e pela ocorrência da brusone estão os microrganismos multifuncionais associados a raízes, como as rizobactérias promotoras de crescimento de plantas que associada a adubação silicatada têm se mostrado eficaz no controle de doenças e proteção das plantas contra estresses abióticos. Esses microrganismos interagem na rizosfera, influenciam o seu metabolismo e reduzem os estresses por meio de uma variedade de mecanismos (Gunes et al. 2008; Filippi et al. 2011; Sousa et al. 2018).

Outra tecnologia que pode desempenhar papel significativo no alívio da deficiência hídrica em plantas de arroz de terras altas é o silício (Si), segundo elemento mais abundante no solo. Na solução do solo, o Si ocorre principalmente como ácido monossilícico ( $\text{H}_4\text{SiO}_4$ ) em concentrações que variam de 0,1 a 0,6 mM, após a absorção pelas plantas, o Si se acumula na epiderme de vários tecidos, principalmente como um polímero de sílica amorfa hidratada (Ma & Takahashi, 2002; Rodrigues et al. 2005).

O arroz é uma espécie acumuladora de Si (10% de Si em massa seca de parte aérea), em que essa alta acumulação demonstrou ser necessária para um crescimento saudável e uma produção elevada e estável. De acordo com trabalhos desenvolvidos para avaliar o uso de silício na agricultura, a cultura do arroz apresenta aumento do número de folhas, massa seca de plantas, número de espiguetas por panícula, adequada formação e qualidade da casca dos grãos, maior altura de plantas, regulação da evapotranspiração, redução da toxicidade mineral, melhora do desequilíbrio de nutrientes e aumento da tolerância aos estresses biótico e abiótico (Korndörfer et al. 1999; Gong et al. 2003; Tokura et al. 2007).

A Embrapa e a AfricaRice são as únicas instituições de pesquisa que atuam com arroz de terras altas e, portanto, dependem quase que exclusivamente dos seus próprios ativos e avanços de conhecimento para superar os seus principais desafios: tolerância à deficiência hídrica e brusone (Guimarães et al. 2018). Diante disso, este trabalho teve como objetivo investigar a combinação de rizobactérias e silício no manejo da cultura de arroz de terras altas.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a combinação entre rizobactérias e silício no sucesso do manejo da cultura do arroz de terras altas.

### 2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

1. Avaliar a capacidade de rizobactérias em solubilizar fosfato não-lábil em cultivo *in vitro* de plantas de arroz.
2. Detectar a colonização endofíticas dos isolados de rizobacterias em plantas de arroz por microscopia eletrônica de varredura.
3. Avaliar a arquitetura do sistema radicular de plantas de arroz microbiolizadas com rizobactérias em cultivo *in vitro*.
4. Analisar e quantificar o desenvolvimento radicular de plântulas de arroz crescidas *in vitro*, em diferentes potenciais osmóticos, na presença de bactérias, silício e fósforo não-lábil.
5. Avaliar a promoção de crescimento de plantas de arroz de terras altas cultivados em diferentes níveis de fósforo em casa de vegetação.
6. Quantificar a severidade de brusone foliar e panícula em plantas de arroz de terras altas tratadas com rizobactérias e silício.
7. Quantificar atividade das enzimas relacionadas ao estresse oxidativo em plantas de arroz de terras tratadas com rizobactérias e silício.
8. Quantificar atividade das enzimas relacionadas à patogênese (PRs), em plantas de arroz de terras altas tratadas com rizobactérias e silício.
9. Quantificar os indicadores bioquímicos relacionados a clorofilas, carotenoides e peróxido de hidrogênio em plantas de arroz de terras altas tratadas com rizobactérias e silício.
10. Determinar a produtividade de arroz de terras altas tratadas com rizobactérias e silício em condições de campo submetida a deficiência de fósforo.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 CULTURA DO ARROZ

O arroz é uma angiosperma pertencente à família Poaceae. O gênero *Oryza* compreende 27 espécies, as quais apresentam uma grande diversidade de adaptações (Pinto, 2017). As principais características morfológicas do que define esse gênero são a presença de glumas estéreis rudimentares, espiguetas bissexuais e as folhas estreitas, herbáceas com margens escabrosas. (Vaughan, 2003).

O arroz foi introduzido no Brasil no período colonial na frota de Pedro Álvares Cabral, porém o seu cultivo em território nacional só foi relatado após 1530, na capitania de São Vicente, e no decorrer dos anos tornou-se alimento básico da dieta alimentar (Azambuja et al. 2002). Sua domesticação pode ter ocorrido de forma independente e simultânea em vários locais da Ásia. Inicialmente o sistema de cultivo era em clareiras, itinerantes, com semeadura direta sem inundação do solo. No entanto, a China a adotou o cultivo sob lâmina de água e modernizou o sistema de plantio, tornando o arroz totalmente domesticado (Khush, 1997).

Do ponto de vista econômico e social, o arroz ocupa posição de destaque dentre as culturas anuais no Brasil (Zanin et al. 2019), é um dos cereais mais produzidos e consumidos no mundo, caracterizando-se como o principal alimento de mais da metade da população mundial, com produção mundial estimada do grão em torno de 518,14 milhões de toneladas (USDA/FAS, 2023). Excluídos países do continente asiático, o Brasil é o principal produtor, na safra de 2022/2023 foram aproximados 10 milhões de toneladas (CONAB, 2023).

No cultivo de arroz brasileiro, encontram-se dois sistemas básicos de plantio. O primeiro é conhecido como arroz irrigado, mais concentrado na região sul do país, nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, os quais representam aproximadamente 77% da produção nacional, apresenta alta tecnologia, melhor produtividade por possuir maior controle das condições hídricas, além de possuir tecnologias e pesquisas mais avançadas com cultivares. O segundo é o arroz de terras altas (antigo arroz de sequeiro) que vem, nos últimos anos, apresentando uma evolução importante no volume produzido, com representatividade de 4% (Araújo et al. 2016; Silva et al. 2016; Alvarez et al. 2014).

No Brasil, o cultivo de arroz de terras altas está concentrado no bioma Cerrados, que corresponde aos estados de Mato Grosso, Goiás, Tocantins, Roraima, Pará e Maranhão e

parte da Amazônia (Oliveira Neto, 2015). A área de cultivo entre os anos de 2015 e 2022 reduziu de 607,700 para 303,300 hectares, que corresponde 50,09%, e a produção de 1.232,600 para 775.600 toneladas, que equivale a 37%. No entanto, houve aumento de 26% na produtividade de 26% (2.028 para 2.557 kg ha<sup>-1</sup>) (CONAB, 2023).

Considerada uma cultura com ampla adaptação, pois além do cultivo em diversas regiões do mundo, é conduzida sob os ecossistemas de terras altas, sendo este utilizando ou não irrigação, dependente de condições hídricas naturais para seu desenvolvimento. No entanto, o déficit hídrico está entre os principais fatores que limitam a produtividade em arroz de sequeiro, sendo necessário o desenvolvimento de práticas agrícolas que potencializem o aproveitamento de água (Prado et al. 2020).

Além desse fator abiótico que limita a produção, todas as fases da cultura do arroz estão sujeitas a estresse bióticos como ataque de doenças que compromete a produtividade e qualidade dos grãos. A presença de patógeno virulento em condição ambiente favorável e o uso de cultivar suscetível contribui para a predominância e severidade da doença. Estima-se mais de 80 doenças causadas por agentes patogênicos registrados em diversos países, no Brasil o número exato ainda não foi descrito, devido a ocorrência de doenças em menor escala não ter sido relatadas (Silva et al. 2019).

### 3.2 BRUSONE NO ARROZ

Os primeiros registros da ocorrência da brusone (*Magnaporthe oryzae*) datam da China e do Japão, onde já era descrita como "febre do arroz" em 1637 (Ou, 1972). A designação "brusone" foi criada na Itália em 1828. Posteriormente, em 1906, nos Estados Unidos, a brusone passou a ser chamada de "blast" em inglês (Bedendo, 1997). No Brasil, a brusone foi inicialmente documentada em 1912 no Estado de São Paulo. Em seguida, em 1918, foi identificada no Rio Grande do Sul e, em 1935, no Paraná. Desde então, a doença tem sido relatada em todas as regiões produtoras do mundo, incluindo o Brasil, tanto em arroz irrigado (várzeas) quanto em sequeiro (terras altas) (Igarashi et al. 1986).

Nas décadas de 40 e 50, a doença tornou-se amplamente reconhecida em diversas regiões do país, sendo documentada como uma doença comum que se estendia desde a Bahia até os estados do norte do Brasil. O surto de brusone eclodiu no Rio Grande do Sul em 1953 e no Pará em 1955. Em 1971, houve relatos da presença de raças fisiológicas nos estados de Rio Grande do Sul e São Paulo. A partir das décadas de 60 e 70, intensificaram-se os esforços

para compreender as diferentes fases da doença e do patógeno, bem como desenvolver métodos eficazes para seu controle (Prabhu & Filippi, 2006).

A brusone, causada por *Magnaporthe oryzae* (Herbert) Barr, 1977 (sinônimo *Pyricularia oryzae* Cooke), encontra-se, segundo a classificação taxonômica de Couch e Kohn (2002), no Reino Fungi, Filo Ascomycota, Classe Sordariomycetes, Ordem *Magnaporthales* e Família *Magnaporthaceae* (Dean et al. 2005). Brusone é a principal doença do arroz (*Oryza sativa* L.) e tem sido um obstáculo para a produção no mundo (Couch & Kohn 2002 ). Esta doença se destaca pela complexa biologia do patógeno, caracterizada pela variabilidade natural encontrada nas populações deste patógeno e pela rapidez com que se adapta ao hospedeiro resistente e como consequência causa danos como redução do peso dos grãos e, em alguns casos, perda completa das panículas. (Scheuermann & Eberhardt, 2011; Silva et al. 2019).

O ciclo dessa doença ocorre inicialmente com a disseminação do inóculo, através do vento, água ou sementes infectadas. Primeiramente os conídios aderem na superfície da folha, germinam, formam o apressório estrutura utilizada para penetrar a superfície foliar, que auxiliado por enzimas extracelulares, perfura a cutícula do hospedeiro e invade a epiderme das plantas de arroz. Após obter acesso aos tecidos do hospedeiro, o *M. oryzae* utiliza plasmodesmos para se disseminar para as células vizinhas sem causar quaisquer alterações visíveis nas paredes celulares do hospedeiro, iniciando assim a colonização e posteriormente o surgimento do sintoma típico da doença (Prabhu & Filippi, 2006; Nasir et al. 2018; Silva-Lobo, 2007). Os sintomas iniciam-se nas folhas com pequenas manchas necróticas de coloração castanha, evoluindo a maiores lesões de formato elíptico, com margem marrom e centro cinza ou esbranquiçado, onde são encontradas as estruturas reprodutivas do patógeno (Bedendo & Prabhu, 2005).

A brusone apresenta alto potencial destrutivo, causando perdas que resulta em aproximadamente 10-90% de danos à colheita de arroz (Kihoro et al. 2013), do qual depende da resistência genética da cultivar adotada, densidade populacional, época de semeadura e condições climáticas (Prabhu et al. 2002; Filippi et al. 2011). Além disso, a incidência causa diminuição da área fotossintética das plantas, afeta a uniformidade na emissão de panícula, aumento de número de espiguetas chochas, baixo rendimento, e em casos severos ocorre a perda da lavoura (Silva-Lobo et al. 2007).

O controle químico ainda é muito utilizado no manejo da brusone do arroz, com aplicações de diferentes fungicidas, tais como triciclazol, probenazol, azoxistrobina e propiconazol. Além dos problemas com a eficácia desses fungicidas, tem havido uma preocupação crescente com o uso, mau uso e uso excessivo de fungicidas químicos, o que pode levar a problemas ambientais e de saúde potencialmente perigosos (Nasir et al. 2018). Por outro lado, pesquisam avançam para o uso de indutores de resistência em escala comercial, tanto bióticos quanto abióticos, como estratégia para aumentar a durabilidade da resistência a doenças e reduzir resíduos tóxicos resultantes do uso indiscriminado de produtos químicos (Filippi, et al. 2011).

A utilização de genótipos com resistência genética à doença constitui-se como principal medida para o manejo da brusone na cultura do arroz (Santos et al. 2017). Apesar de ser considerado o método mais eficaz, normalmente sua resistência é pouca duradora, devido a capacidade adaptativa, advinda da elevada variabilidade genética do patógeno, o que resulta no rápido surgimento de raças aos cultivares disponíveis no mercado (Scheuermann et al. 2012). Práticas estratégicas no manejo envolvendo adubação equilibrada, principalmente a nitrogenada, destruição da palhada, assim como a rotação de cultivares, reduzem significativamente a severidade da doença (Prabhu et al. 2001; Santos et al. 2011).

### 3.3 RIZOBACTÉRIAS NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE PLANTAS

Para garantir uma agricultura sustentável, é necessário que as culturas produzidas sejam resistentes a doenças, tolerantes ao estresse abiótico tenham um melhor valor nutricional. Uma estratégia viável para atender a essas características desejadas nas culturas envolve a utilização de microrganismos do solo, como bactérias, fungos e algas, que potencializam a absorção de nutrientes e melhoram a eficiência no uso da água (Armada et al. 2014). Entre esses microrganismos do solo, as rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (PGPR) são as mais promissoras. Nesse contexto, as PGPR podem ser empregadas para aprimorar a saúde das plantas e impulsionar a taxa de crescimento sem causar impactos ambientais adversos (Calvo & Kloepper, 2014).

As PGPR constituem um grupo bacteriano identificado na rizosfera. O termo refere-se a bactérias que colonizam as raízes das plantas, na rizosfera, promovendo seu crescimento (Ahmad et al. 2008). A rizosfera representa o ambiente do solo em proximidade às raízes das plantas, caracterizado por uma atividade microbiana intensificada, resultando em um

reservatório específico de nutrientes, dos quais macro e micronutrientes essenciais são extraídos. A composição microbiana na rizosfera é notavelmente distinta daquela encontrada em áreas circundantes, devido à presença de exsudatos radiculares que servem como fonte de nutrientes para o crescimento microbiano (Vejan et al. 2016).

Com base em interações com as plantas, as PGPR podem ser divididas em bactérias endofíticas, que vivem dentro das plantas e trocam metabólitos diretamente com elas, e rizobactérias de vida livre, que vivem fora das células vegetais (Egamberdieva & Lugtenberg, 2014). As bactérias endofíticas predominantemente habitam os espaços intercelulares da planta hospedeira, embora haja bactérias específicas capazes de estabelecer interações mutualísticas com seus hospedeiros e penetrar nas células vegetais (Vejan et al. 2016). Os mecanismos de funcionamento das PGPR também podem ser separados em diretos e indiretos. Os mecanismos diretos incluem biofertilização, estimulação do crescimento radicular, e controle do estresse das plantas. Por outro lado, as rizobactérias estão envolvidas indiretamente na promoção do crescimento das plantas por meio do mecanismo de controle biológico, que inclui a redução do impacto de doenças, como antibiose, indução de resistência sistêmica e competição por nutrientes e nichos (Egamberdieva & Lugtenberg, 2014).

### **3.3.1 Solubilização de fósforos**

O fósforo é encontrado no solo na forma inorgânica (Pi) e orgânica (Po), se diferenciam entre si pelo grau de solubilidade e estabilidade, portanto, com diferentes formas de disponibilização para as plantas. A forma orgânica desse elemento está presente na matéria orgânica do solo, restos vegetais, na decomposição de materiais, sendo que são os microrganismos de solos responsáveis pela decomposição e disponibilização do fósforo orgânico para as plantas. É um dos macronutrientes mais limitados em solos do Cerrado e considerado um dos insumos de maior valor na agricultura (López-Búcio et al. 2015).

A biodisponibilidade de fósforo no solo é amplamente controlada por processos mediados biologicamente, os microrganismos produzem compostos orgânicos/inorgânicos de solubilização de minerais, como ácidos orgânicos, sideróforos, prótons, íons hidroxila, CO<sub>2</sub> e mineralização de P orgânico por meio de enzimas como fitases e fosfatases (Rodríguez, 1999; Alori et al. 2017). O processo de acidificação do meio é um mecanismo adotado na solubilização de fosfatos, os microrganismos diminuem o pH do meio por

secreção de ácidos orgânicos oriundo do metabolismo de açúcares dos exsudados das raízes, como ácidos acético, láctico, málico, succínico, tartárico, glucônico, 2-cetoglucônico, oxálico e cítrico (Rodríguez & Fraga, 1999; Patel et al. 2015).

### 3.3.2 Produção de fitormônios

As PGPR contribuem para aumentar o desenvolvimento das plantas diretamente através da melhoria na disponibilidade de nutrientes, produzindo compostos estimulantes e liberando fitohormônios, mais 80% das bactérias da rizosfera sintetizam ácido indol-3-acético (AIA), o hormônio vegetal do crescimento e desenvolvimento das plantas (Grossmann, 2010). Considerado um dos hormônios vegetais mais importantes, pertencente à classe das auxinas, são predominantes em tecido novos das plantas, por exemplo, o ápice e as folhas jovens que regulam o crescimento e os processos de desenvolvimento, na divisão e alongamento celular, iniciação da raiz primária e lateral, diferenciação do tecido e respostas à gravidade e à luz. A maior parte do AIA é transportada pela planta através do floema, e se acumula em diferentes tecidos (Eklund et al. 2010)

A biossíntese microbiana de auxinas tem sofrido intensa investigação, diferentes cepas de bactérias produzem auxinas a partir do triptofano, principal precursor. A adição deste aminoácido aos meios de cultura, resulta em maior produção. Os exsudados radiculares são fontes naturais de L-triptofano para a microbiota do solo, contribuindo para a síntese microbiana de AIA na rizosfera (Lum & Hirsch, 2003; Merino et al. 2008).

*Azospirillum* sp. (Couillerot et al. 2013), *Bacillus subtilis* (Tahir et al. 2017), *Burkholderia* sp. e *Pseudomonas* sp. (Filippi et al. 2011), *Bacillus toyonensis*, *Serratia marcescens* (Faria et al. 2023), são algumas espécies bacterianas eficientes na síntese de AIA.

### 3.3.3 Sideróforos

O solo contém vários minerais, incluindo o ferro, que não está disponível para as plantas. O ferro é encontrado na natureza na forma de  $Fe^{3+}$ , que é altamente insolúvel. (Flores-Félix et al. 2015). Para resolver esse problema, as PGPR secretam sideróforos, compostos proteicos de baixo peso molecular que se ligam ao ferro e ajudam a torná-lo solúvel. Em condições de escassez de ferro, os sideróforos microbianos facilitam o

fornecimento de ferro às plantas, promovendo assim o seu crescimento (Ahmed & Holmstrom, 2014).

### **3.3.4 Formação de biofilme**

As PGPR são frequentemente fixadas a uma superfície e revestidas com uma substância polimérica, característica de um biofilme (Flemming e Wingender, 2010). Provem de uma variedade de moléculas orgânicas, incluindo polissacarídeos, ácidos nucleicos e proteínas. Biofilmes ligados às raízes das plantas de algumas culturas podem ajudar a reciclar os nutrientes, bem como realizar o biocontrole de pragas e doenças e, conseqüentemente, melhorar a produtividade e as culturas rendimentos (Fuqua et al. 1994).

O biofilme é uma camada protetora que contém enzimas inativadoras e modificadoras de substâncias como antibióticos. As PGPR desenvolveram mecanismos sofisticados para coordenar a expressão genética em nível populacional e comunitário através da síntese e percepção de moléculas difusíveis. A concentração do sinal emitido em um ambiente confinado reflete o número de células bacterianas por unidade de volume, e essa via regulatória é denominada detecção de quórum (QS) (Gupta et al. 2017). O mecanismo de detecção de quórum bacteriano é baseado em dois grupos de moléculas sinalizadoras: derivados de peptídeos típicos de bactérias Gram-positivas e derivados de ácidos graxos explorados por Bactérias Gram-negativas. As moléculas sinalizadoras mais intensamente investigadas em bactérias PGP Gram-negativas são N-Acyl-L-homoserina Lactonas (N-AHLs). O N-AHLs são responsáveis por controlar diversas atividades como a formação de biofilme, produção de antibióticos, resistência, conjugação, replicação, síntese de exoenzimas (Pearson et al. 1994).

## **3.4 RIZOBACTÉRIAS NA MITIGAÇÃO DE ESTRESSE BIÓTICO E ABIÓTICO**

Os microrganismos biopromotores considerados salúferos para as plantas podem atuar de forma benéfica no seu desenvolvimento, na indução de resistência, tanto bióticos quanto abióticos (Filippi et al. 2011). As rizobactérias são microrganismos benéficos que habitam o solo e participam ativamente da dinâmica nutricional, são aliados importantes da produção agrícola sustentável, pois influenciam a qualidade dos ecossistemas, e por suprimir

doenças de plantas causadas por patógenos fúngicos e por promover o crescimento das plantas (Sousa et al. 2018; Bhattacharyya & Jha, 2012; Dubey et al. 2015).

As PGPRs melhoram o crescimento das plantas, estimulam o crescimento de raízes, devido a capacidade de sintetizar fitormônios, solubilizam minerais como fósforo, produzem sideróforos e quelatos de ferro, aumentam a biomassa, além disso, protege as plantas contra o ataque de patógenos, como supressão da brusone na planta do arroz (Filippi et al. 2011; Aznar e Dellagi, 2015).

O manejo de doenças usando agentes biológicos é uma ferramenta promissora que pode ser utilizada de forma independente, bem como integrado com outros métodos de forma sustentável (Dubey et al. 2015). No controle de patógenos, as rizobactérias agem por diferentes mecanismos de ação, como competição por espaços e nutrientes, produção de vários metabólitos, como antibióticos, sideróforos e enzimas hidrolíticas. Esses metabólitos suprimem o patógeno interferindo em seu mecanismo de respiração e hidrolisando sua parede celular (Lugtenberg e Kamilova 2009; Hassan et al. 2014).

As rizobactérias também ajudam a proteger as plantas contra patógenos foliares, alterando a imunidade do hospedeiro para respostas de defesa mais rápidas. Esta resposta é denominada resistência sistêmica induzida (ISR), e ocorre através da sinalização intra-planta da raiz para a parte aérea, induzindo as plantas para melhor resistir ao ataque de patógenos (Spence et al. 2014). Na ISR, a planta apresenta maior atividade de proteínas relacionadas à patogênese (PR-Proteínas) e acúmulo de fitoalexinas, além de deposição de calose e lignina na parede celular da planta. Essa respostas são reguladas pela comunicação cruzada entre hormônios vegetais, como ácido salicílico (SA), ácido jasmônico (JA) e seus derivados, e pelos papéis centrais que esses hormônios desempenham nas respostas de defesa (Vleeschauwer et al. 2013).

As plantas são sensíveis ao acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ERO) que são liberadas quando exposta a condições de déficit hídrico. Níveis excessivos de ERO resultam em estresse oxidativo que reagem com proteínas e lipídios causando danos oxidativo ao tecido vegetal e prejudicando as funções normais da célula vegetal, desencadeando assim a produção de antioxidantes para amenizar o estresse como o superóxido dismutase (SOD) e guaiacol peroxidase (GPOx), ascorbato peroxidase (APx) e catalase (CAT) (Joshi et al. 2020).

### 3.4.1 Resistência Sistêmica

A resistência sistêmica das plantas pode ser categorizada em duas formas: resistência sistêmica induzida (ISR) e resistência sistêmica adquirida (SAR). A primeira é induzida por agentes não patogênicos, enquanto a segunda é induzida por agentes patogênicos (Spoel e Dong, 2012). A expressão 'resistência sistêmica induzida' (RSI) refere-se genericamente ao estado de resistência induzido em plantas, desencadeado por indutores biológicos ou químicos, protegendo partes não expostas da planta contra ataques de agentes patogênicos e insetos (Joseph Kuć, 1982). Nos anos 1960, Ross introduziu o termo 'resistência sistêmica adquirida' (RSA) para descrever o fenômeno no qual partes sistêmicas não infectadas da planta tornam-se mais resistentes em resposta a uma infecção localizada em outra parte da planta.

Quando as plantas são colonizadas por micróbios benéficos, elas entram em um estado fisiológico denominado "priming", fenômeno que permite que as células respondam a níveis muito baixos de um estímulo de uma maneira mais rápida e robusta. O "priming" de defesa é um estado fisiológico único que pode ser induzido por padrões moleculares (PAMPs, MAMPs, DAMPs) de microrganismo ou plantas, efetores derivados de patógenos, microrganismo benéficos, tratamento com alguns compostos naturais e sintéticos, ou por ferimentos ocasionado nas plantas (Conrath et al. 2006; Conrath et al. 2011).

A regulação de ambas as resistências ocorre por meio de uma rede de vias de sinalização interconectadas, nas quais os hormônios vegetais desempenham um papel regulador crucial (Pieterse, et al. 2012). A sinalização de resistência a doenças é um processo importante em plantas, e o hormônio vegetal ácido salicílico (SA) desempenha um papel crucial nesse processo (Vlot et al. 2009). O SA é um composto fenólico que pode ser sintetizado a partir do metabólito primário por meio de duas vias enzimáticas distintas: uma envolvendo fenilalanina amônia liase (PAL) e a outra isocorismato sintase (ICS/SID2) (Moore et al. 2011). Em 1996, Pieterse et al. relataram pela primeira vez que a resistência sistêmica induzida dependia da via do ácido jasmônico (JA) e do etileno (ET), que foi proposta como a diferença entre ISR e SAR.

Vários estresses bióticos e abióticos, como salinidade, seca, metais pesados, ataques patogênicos, frio, ferimentos, entre outros, desafiam frequentemente o crescimento e o desenvolvimento das plantas. Codifica vários receptores, efetores, sinalizadores e moléculas

defensivas. Entre todos, a produção e o acúmulo de proteínas relacionadas à patogênese (PR) têm um papel significativo, pois são parte essencial da resposta imune inata sob estresse biótico e abiótico nas plantas (Sreenivasulu et al. 2012). As proteínas PR proporcionam proteção contra infecções patogênicas, acumulando-se localmente nos tecidos afetados, bem como nos tecidos circundantes e não infectados. Além disso, as proteínas PR também fazem parte da resistência sistêmica adquirida (SAR) ou da resposta de hipersensibilidade (HR) contra diferentes tipos de infecções (Niki et al. 1998; Vaghela et al. 2022). Na indução de resistência, a planta apresenta maior atividade de proteínas relacionadas à patogênese (PR-Proteínas) como:  $\beta$ -1,3-glucanase, quitinase, lipoxigenase, fenilalanina amônia-liase (Cai et al. 2009; García-Cristobal et al. 2015).

A quitinase (EC 3.2.1.14) é uma enzima hidrolítica que pode clivar ligações  $\beta$ -1,4-glicosídicas na quitina. A quitina é o principal componente da cutícula da membrana peritrófica, que é o revestimento protetor do intestino de muitos insetos, das paredes celulares dos fungos e do esqueleto de muitos animais crustáceos (Johnston-Monje & Lopez Mejia, 2020). As quitinases vegetais são proteínas relacionadas à patogênese e são fortemente expressas quando as células da planta hospedeira estão sob estresse de patógenos, são induzidas juntamente com vários metabólitos, proteínas de resposta patogênica, além de proteínas antimicrobianas (Vaghela et al. 2022).

As  $\beta$ -1,3 glucanases são enzimas multifuncionais encontradas em muitos seres vivos, incluindo bactérias, fungos e alguns animais invertebrados e plantas. Elas pertencem à família PR-2 e são classificadas como enzimas endonucleases (EC3.2.1.39) (Wang et al. 2021; Linton, 2020). As  $\beta$ -1,3 glucanases têm sido extensivamente estudadas, isoladas e sequenciadas devido ao seu grande potencial na participação na defesa das plantas. Numa invasão fúngica, por exemplo, especificamente na degradação da parede celular fúngica através da ação de  $\beta$ -1,3 glucanases, são liberados oligômeros, nomeadamente  $\beta$ 1,3/1,6-D-glucano. Estes oligômeros liberados podem ser considerados oligossacarídeos elicitores. A liberação desses elicitores induz uma resposta de defesa da planta, demonstrando atividade antimicrobiana direta (I Finkina et al. 2017). Em um bioensaio de atividade antifúngica, o fungo fitopatogênico foi submetido a uma nova  $\beta$ -1,3-glucanase (Gns6) para avaliar seu efeito na construção da parede celular do fungo. Os resultados revelaram que a enzima Gns6 exibiu potente atividade antifúngica contra *Maganaporthe oryzae*, que causa a brusone no arroz (Wang et al. 2021).

A lipoxigenases (LOX: EC 1.13.11.12) são uma classe de dioxigenases contendo ferro que catalisam a oxidação de ácidos graxos poliinsaturados contendo pelo menos um grupo (Z), (Z) -1,4-pentadieno para produzir hidroperóxidos de ácidos graxos insaturados conjugados. Além disso, isoformas específicas de LOX podem ter múltiplas funções fisiológicas. Por exemplo, uma única isoforma LOX pode desempenhar um papel de sinalização na regulação do crescimento das plantas e ativar respostas de defesa induzidas pelo estresse (Wang et al. 2008). Já a enzima fenilalanina amônia liase (PAL; EC4.3.1.5) representa a primeira e principal etapa na sequência fenilpropanoide, uma rota metabólica secundária presente em plantas superiores, principalmente envolvida em mecanismos de defesa. PAL catalisa o passo inicial na via fenilpropanoide, resultando na produção de compostos fenólicos, como fitoalexinas, que desempenham um papel na proteção contra infecções (MacDonald & D’Cunha, 2007). Fitoalexinas são metabólitos secundários com propriedades antimicrobianas, produzidos pela planta em resposta a estresses físicos, químicos ou biológicos (Cavalcanti et al. 2005).

### **3.4.2 Resposta de enzimas antioxidantes**

As plantas de arroz são sensíveis ao acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ERO) que são liberadas quando exposta a condições de déficit hídrico. Níveis excessivos de ERO resultam em estresse oxidativo que reagem com proteínas e lipídios causando danos oxidativo ao tecido vegetal e prejudicando as funções normais da célula vegetal, desencadeando assim a ativação do sistema antioxidante das células, no qual um dos componentes é um sistema enzimático constituído pelas superóxido dismutase (SOD) peroxidase (POX), ascorbato peroxidase (APX), catalase (CAT) dentre outras (Joshi et al. 2020).

As plantas submetidas a condições de estresse acumulam espécies reativas de oxigênio (EROs), tais como oxigênio singleto ( $^1O_2$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e os radicais: ânion superóxido ( $O_2^-$ ), hidroxila ( $OH\cdot$ ), e alcoxila ( $RO\cdot$ ). Essas EROs reagem com proteínas, lipídios de membrana e DNA causando danos oxidativos e prejudicando as funções normais de uma célula vegetal (Vurukonda et al. 2016). Quando o nível de ERO atinge um certo limite, o crescimento da célula vegetal pode ser atrofiado e eventualmente levar à morte celular (Vurukonda et al. 2016; Asghari et al. 2020).

A SOD desempenha um papel crucial na transformação do ânion superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) em  $H_2O_2$  menos reativo em plantas sujeitas a estresse (Vishwakarma et al. 2020; Al-Zahrani et al. 2022). A SOD é reconhecida como a primeira linha de defesa contra o estresse, e, após sua atuação, entra em cena as enzimas CAT, POX e APX para eliminar o  $H_2O_2$ , transformando-o em água ou oxigênio dentro das células (Howarth, 2005). A presença crucial de enzimas antioxidantes é fundamental para eliminar o peróxido de hidrogênio gerado durante a fotorrespiração. Adicionalmente, a inoculação com rizobactérias é apontada como um meio de mitigar os efeitos adversos do estresse oxidativo nas plantas, possivelmente alterando a atividade das enzimas antioxidantes (Han et al. 2015).

### 3.5 SILÍCIO NA MITIGAÇÃO DE ESTRESSE ABIÓTICOS E BIÓTICOS

O silício (Si) é um dos minerais mais abundantes na crosta terrestre, devido ao elevado grau de intemperização dos solos tropicais, reconhecido como um elemento benéfico não apenas para o crescimento e desenvolvimento das plantas, mas também para a resistência das plantas contra vários estresses bióticos e abióticos (Chen et al. 2019). Na solução do solo, o silício encontra-se disponível para as plantas na forma de ácido monossilícico ( $H_4SiO_4$ ), sendo um elemento móvel e absorvido pelas plantas por fluxo de massa (Meharg, 2015).

A cultura do arroz é caracterizada como acumuladora de silício e responsiva a adubação silicatada (Shi et al. 2013), após a absorção pela planta, são depositados na parede celular formando dupla camada sílica-cutícula e sílica-celulose, contribuindo para a redução da transpiração e melhor eficiência de uso da água (Ma & Yamaji, 2006). O Si influencia o desenvolvimento da área radicular, o diâmetro, o volume e o comprimento da raiz principal e da biomassa radicular em plantas cultivadas sob variáveis ambientais adversas (Lee et al. 2010). O acúmulo de silício nas plantas auxilia na formação de plantas mais eretas diminuindo o acamamento, melhora a eficiência fotossintética, resultando em maior produtividade da cultura (Prado et al. 2020).

O silício penetra na planta a partir do ambiente externo sob a forma de  $Si(OH)_4$ , utilizando canais específicos de influxo conhecidos como genes *Lsi1*, *Lsi2* e *Lsi6*. Esses genes têm um papel fundamental no aumento da capacidade das raízes laterais para absorver o nutriente presente na solução do solo e transportá-lo para a parte aérea da planta (Ma e Yamaji em 2006). O gene *Lsi1* atua principalmente na exoderme e endoderme das raízes,

sendo responsável pelo influxo de silício do solo para as células das raízes. Os transportadores de efluxo, designados como Lsi2, facilitam o carregamento de silício no xilema, promovendo a transferência eficiente da raiz para a planta. A translocação do silício para as partes aéreas da planta, onde é depositado como SiO<sub>2</sub> amorfo, é mediada pelo processo de translocação-shoot. Este processo é conduzido pelo gene Lsi6, localizado nas folhas, que realiza o transporte do silício do xilema para as células foliares. Assim, a interação coordenada desses genes, cada um desempenhando funções específicas em diferentes regiões da planta, possibilita o transporte e deposição eficientes de silício, contribuindo para a saúde e desenvolvimento do arroz (Ma & Takahashi, 2001; Ma et al. 2007; Coskun et al. 2019).

Dentre os fatores abiótico, a deficiência hídrica aumenta as concentrações de peróxido de hidrogênio e prolina nas folhas e a peroxidação lipídica em grão de arroz. A aplicação de Si (Si) diminuiu os níveis dos fatores acima citados, em particular os níveis de prolina, que é considerada um indicador bioquímico de estresse e um regulador osmótico. O silício também é conhecido como um agente anti-estresse e pode reduzir a taxa transpiratória e aumentar a eficiência do uso da água (Gunes et al. 2008). A aplicação de Si nas culturas durante condições de estresse abiótico pode regular a geração de EROs, tais como oxigênio singlete (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>), superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e radicais hidroxila (OH). Essas espécies reativas de oxigênio podem causar danos graves à estrutura, organelas e funções das células vegetais. Para aliviar e reparar esses danos, as plantas desenvolveram um sistema antioxidante complexo para manter a homeostase através de antioxidantes não enzimáticos (carotenóides, tocoferóis, ascorbato e glutathiona) e enzimáticos (superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX)) (Kim et al. 2017; Sharma et al. 2012).

Além disso, o silício atua na mitigação de fatores biótico, no controle de doenças a adubação silicatada proporciona formação de barreira física principalmente na parede célula do vegetal. Na planta, seu movimento ascendente via apoplasto, se acumula nas paredes das células epidérmicas das folhas e vasos do xilema. Esse acúmulo resulta em camada insolúvel de silício depositada nas células epidérmica que impede a penetração do fungo, sendo denominada a “hipótese da barreira mecânica” (Brunings et al. 2009; Pozza et al. 2015). Além do mais, o silício afeta a resposta da planta de arroz em um nível bioquímico, acumula fitolaxinas, isoprenopides, diterpenóides, aumento da produção de compostos fenólicos,

atividade de enzimas relacionadas à defesa, como quitinases e  $\beta$ -1, 3 - glucanases, lipoxigenase, fenil-amono-liase, bem como aumento da expressão de genes associados a plantas resistência a pragas e doenças (Rodrigues et al, 2004; Crusciol et al. 2009).

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMAD, F.; AHMAD, I.; KHAN, M. S. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. **Microbiological research**, v. 163, n. 2, p.173-181, 2008.
- AHMED, E.; HOLMSTROM, S. J. M. Siderophores in environmental research: roles and applications. **Microbiology Biotechnologic**, v. 7, p. 196-208, 2014.
- ALORI, E. T.; GLICK, B. R.; BABALOLA, O; O. Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. **Frontiers in microbiology**, v. 8, n.1, p. 971, 2017.
- ALVAREZ, R. C. F.; CRUSCIOL, C. A. C.; NASCENTE, A. S. Produtividade de arroz de terras altas em função de reguladores de crescimento. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 61, n.1, p. 42-49,2014.
- AL-ZAHRANI, H. S.; ALHARBY, H. F.; FAHAD, S. Antioxidative defense system, hormones, and metabolite accumulation in different plant parts of two contrasting rice cultivars as influenced by plant growth regulators under heat stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 911846, 2022.
- ARAÚJO, L; PASCHOALINO, R. S.; RODRIGUES, F. A. Microscopic aspects of silicon-mediated rice resistance to leaf scald. **Phytopathology**, v.106, p.132-141, 2016.
- ARMADA, E; PORTELA, G.; ROLDÁN, A.; & AZCÓN, R. Combined use of beneficial soil microorganism and agrowaste residue to cope with plant water limitation under semiarid conditions. **Geoderma**, v. 232, p. 640-648, 2014.
- ASGHARI, B.; KHADEMIAN, R.; AND SEDAGHATI, B. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) confer drought resistance and stimulate biosynthesis of secondary metabolites in pennyroyal (*Mentha pulegium* L.) under water shortage condition. **Sci. Horticulturae**, v. 263, p. 109132, 2020.
- 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 Irrigado**. Porto Alegre: Assembléia Legislativa do Estado do Rio Grande do Sul, p.11-22, 2002.
- AZNAR, A.; DELLAGI, A. New insights into the role of siderophores as triggers of plant immunity: what can we learn from animals?. **Journal of experimental botany**, v. 66, n. 11, p. 3001-3010, 2015.
- BARONI, G. D.; BENEDETI, P. H.; SEIDEL, D. José. Cenários prospectivos da produção e armazenagem de grãos no Brasil. **Revista Thema**, v. 14, n. 4, p. 55-64, 2017.
- BARR, M. E. *Magnaporthe. Telimenella*, and *Hyponectria* (Physosporrellaceae). **Mycologia, Philadelphia**, v.69, p.952-966, 1977.
- BEDENDO, I. P.; PRABHU, A. S. Doenças do arroz. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN, F. A.; CAMARGO, L. E. A. (Eds). **Manual de fitopatologia - doenças de plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Editora Ceres, 2005.
- BEDENDO, I.P. Doenças do arroz. In: KIMATI, H. et al. (Ed.). **Manual de Fitopatologia**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. p.85-99.

- BHATTACHARYYA, P.; JHA, D. K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 4, p. 1327-1350, 2012.
- BOUMAN, B. A. M.; XIAO GUANG, Y.; HUAQI, W.; ZHIMIN, W.; JUNFANG, Z.; BIN, C. Performance of aerobic rice varieties under irrigated conditions in North China. **Field Crops Research**, v. 97, p. 53–65, 2006.
- BRUNINGS, A. M.; DATNOFF, L. E.; MA, J. F.; MITANI, N.; NAGAMURA, Y.; RATHINASABAPATHI, B.; & KIRST, M. Differential gene expression of rice in response to silicon and rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*. **Annals of Applied Biology**, v. 2, p. 161-170. 2009.
- CAI, K.; GAO, D.; CHEN, J; LUO, S. Probing the mechanisms of silicon-mediated pathogen resistance. **Plant signaling & behavior**, v. 4, n. 1, p.1-3, 2009.
- CALVO, P.; NELSON, L.; & KLOEPPER, J. W. Agricultural uses of plant biostimulants. **Plant and soil**, v. 383, p. 3-41, 2014.
- CAVALCANTI, L. S.; BRUNELLI, K. R.; STANGARLIN, J. R. Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência induzida. In: CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R. M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. (Eds.). **Indução de Resistência em Plantas a Patógenos e Insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005.
- CHEN, D.; CHEN, D.; XUE, R.; LONG, J.; LIN, X.; LIN, Y.; & SONG, Y. Effects of boron, silicon and their interactions on cadmium accumulation and toxicity in rice plants. **Journal of hazardous materials**, v. 367, p. 447-455, 2019.
- CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento de safra brasileiro – grãos. Série Histórica de Produção. **Safra 2022/2023**. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/serie-historica-das-safras/itemlist/category/900-arroz>. Acesso em 25 de novembro 2023.
- CONRATH, U.; BECKERS, G. J.; FLORS, V.; GARCÍA-AGUSTÍN, P.; JAKAB, G.; MAUCH, F.; & MAUCH-MANI, B. Priming: getting ready for battle. **Molecular plant-microbe interactions**, v. 19, n. 10, p. 1062-1071, 2006.
- CONRATH, U. Molecular aspects of defence priming. **Trends in plant science**, v. 16, n. 10, p. 524-531, 2011.
- COSKUN, D. DESHMUKH, R.; SONAH, H.; MENZIES, J. G.; REYNOLDS, O. MA, J. F. & BÉLANGER, R. R. The controversies of silicon's role in plant biology. **New Phytologist**, 221(1), 67-85, 2019.
- COUCH, B. C.; KOHN, L. M. A multilocus gene genealogy concordant with host preference indicates segregation of a new species, *Magnaporthe oryzae*, from *M. grisea*. **Mycologia**, v. 94, n. 4, p. 683-693, 2002.
- COUILLEROT, O.; RAMÍREZ-TRUJILLO, A.; WALKER, V.; VON FELTEN, A.; JANSÁ, J.; MAURHOFER, M. & MOËNNE-LOCCOZ, Y. Comparison of prominent *Azospirillum* strains in *Azospirillum*–*Pseudomonas*–*Glomus* consortia for promotion of maize growth. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 97, n. 10, p. 4639-4649, 2013.

- CRUSCIOL, C. A.; PULZ, A. L.; LEMOS, L. B.; SORATTO, R. P.; & LIMA, G. P. Effects of silicon and drought stress on tuber yield and leaf biochemical characteristics in potato. **Crop science**, v. 49, n. 3, p. 949-954, 2009.
- DEAN, R. A. et al. The genome sequence of the rice blast fungus *Magnaporthe grisea* **Nature**, v. 434, n. 7036, p. 980-986, 2005.
- DUBEY, Sunil C. et al. Combined application of fungal and bacterial bio-agents, together with fungicide and *Mesorhizobium* for integrated management of *Fusarium* wilt of chickpea. **BioControl**, v. 60, n. 3, p. 413-424, 2015.
- EGAMBERDIEVA, D. & LUGTENBERG, B. Use of plant growth-promoting rhizobacteria to alleviate salinity stress in plants. **Use of Microbes for the Alleviation of Soil Stresses**, Volume 1, 73-96, 2014.
- EKLUND, D. M.; THELANDER, M.; LANDBERG, K.; STÅLDAL, V.; NILSSON, A.; JOHANSSON, M.; & SUNDBERG, E. Homologues of the *Arabidopsis thaliana* SHI/STY/LRP1 genes control auxin biosynthesis and affect growth and development in the moss *Physcomitrella patens*. **Development**, v. 137, n. 8, p. 1275-1284, 2010.
- ENEBE, M. C.; BABALOLA, O. O. The influence of plant growth-promoting rhizobacteria in plant tolerance to abiotic stress: a survival strategy. **Applied Microbiology and Biotechnology**. v.102, p.7821-7835, 2018.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). **Yearbook of statistics: summary tables**. FAO. (Disponível em <http://www.fao.org>). Acesso em: 03 de mar. de 2021.
- FARIA, D. R.; MENDONÇA, S. M.; DE SOUSA OLIVEIRA, M. I. LANNA, A. C. DE FILIPPI, M. C. C. Rhizobacteria and silicon mitigate multiple stresses in upland rice. **Tropical Plant Pathology**, 1-15, 2023.
- FILIPPI, M. C. C.; SILVA, G. B. da; SILVA-LOBO, V.; CÔRTEZ, 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**. San Diego, v. 58, n. 2, p.160-166, 2011.
- FLEMMING, H. C. & WINGENDER, J. The biofilm matrix. **Nature reviews microbiology**, 8(9), 623-633, 2010.
- FLORES-FÉLIX, J. D.; SILVA, L. R.; RIVERA, L. P.; MARCOS-GARCÍA, M.; GARCÍA-FRAILE, P.; MARTÍNEZ-MOLINA, E.; & RIVAS, R. Plants probiotics as a tool to produce highly functional fruits: the case of *Phyllobacterium* and vitamin C in strawberries. **PLoS One**, v. 10, n. 4, p. e0122281, 2015.
- FUQUA, W. C. WINANS, S. C. & GREENBERG, E. P. Quorum sensing in bacteria: the LuxR-LuxI family of cell density-responsive transcriptional regulators. **Journal of bacteriology**, v. 176, n. 2, p. 269-275, 1994.
- GARCÍA-CRISTOBAL, J.; GARCÍA-VILLARACO, A.; RAMOS, B.; GUTIERREZ-MAÑERO, J.; LUCAS, J. A. Priming of pathogenesis related-proteins and enzymes related to oxidative stress by plant growth promoting rhizobacteria on rice plants upon abiotic and biotic stress challenge. **Journal of plant physiology**, v. 188, p. 72-79, 2015.

GELINSKI, L. J.N.; FILIPPI, E. E. Desenvolvimentismo e Consolidação da Agricultura no Brasil. Agropampa: **Revista de Gestão do Agronegócio**, v. 1, n. 1, p. 35-48 2016.

GONG, H.; CHEN, K.; CHEN, G.; WANG, S.; ZHANG, C. Effects of silicon on growth of wheat under drought. **Journal of Plant Nutrition**, v. 26, p. 1055-1063, 2003.

GROSSMANN, K. Auxin herbicides: current status of mechanism and mode of action. **Pest Management Science**, United Kingdom, v. 66, p. 113–122, 2010

GUIMARÃES, C. M.; STONE, L. F.; CARVALHO, M. C. S.; COLOMBARI FILHO, J. M. Performance of low phosphorus tolerant rice genotypes under drought stress. **Revista Ceres**, v. 65, p. 253-260, 2018.

GUNES, A.; PILBEAM, D.J.; COBAN, S. **Influence of silicon on sunflower cultivars under drought stress**, In: Growth, antioxidant mechanisms, and lipid peroxidation. In: Communications in soil science and plant analysis, **New York**, v. 39, n. 13-14, p. 1885-1903, 2008.

GUPTA, G.; SNEHI, S. K.; SINGH, V. Role of PGPR in biofilm formations and its importance in plant health. **Biofilms in plant and soil health**, p. 27-42, 2017.

HAN, H. S.; LEE, K. D. Plant growth promoting rhizobacteria effect on antioxidant status, photosynthesis, mineral uptake and growth of lettuce under soil salinity. **Res J Agric Biol Sci**, v. 1, n. 3, p. 210-215, 2015.

HASSAN, M. N.; AFGHAN, S.; UL HASSAN, Z.; & HAFEEZ, F. Y. Biopesticide activity of sugarcane associated rhizobacteria: *Ochrobactrum* intermedium strain NH-5 and *Stenotrophomonas maltophilia* strain NH-300 against red rot under field conditions. **Phytopathologia Mediterranea**, p. 229-239, 2014.

HOWARTH, C. J. Genetic improvements of tolerance to high temperature. Abiotic stresses: plant resistance through breeding and molecular approaches. **Howarth Press Inc.** New York, 277-300, 2005.

I FINKINA, E.; N MELNIKOVA, D.; V BOGDANOV, I.; VOVCHINNIKOVA, T. Plant pathogenesis-related proteins PR-10 and PR-14 as components of innate immunity system and ubiquitous allergens. **Current Medicinal Chemistry**, v. 24, n. 17, p. 1772-1787, 2017.

IGARASHI, S. BALAN, M.G. Brusone do trigo. **Atualidades Agrícolas da Basf**. p. 28-31, 2004

JOHNSTON-MONJE, D.; LOPEZ MEJIA, J. Botanical microbiomes on the cheap: Inexpensive molecular fingerprinting methods to study plant-associated communities of bacteria and fungi. **Applications in Plant Sciences**, v. 8, n. 4, p. e11334, 2020.

JOSEPH K. Induced Immunity to Plant Disease, **BioScience**, v. 32, Issue 11, Pages 854–860, 1982.

JOSHI, B. CHAUDHARY, A. SINGH, H. & KUMAR, P. A. Prospective evaluation of individual and consortia plant growth promoting rhizobacteria for drought stress amelioration in rice (*Oryza sativa* L.). **Plant and Soil**, v. 457, n. 1, p. 225-240, 2020

KHUSH, G. S. Origin, dispersal, cultivation and variation of rice. **Plant Molecular Biology**, v. 35, p. 25-34, 1997.

- KIHHORO, J.; BOSCO, N. J.; MURAGE, H.; ATEKA, E.; MAKIHARA, D. Investigating the impact of rice blast disease on the livelihood of the local farmers in greater Mwea region of Kenya. **Springer Plus**, v. 2, n. 1, p. 1-13, 2013.
- KIM, Y. H. KHAN, A. L. WAQAS, M. & LEE, I. J. Silicon regulates antioxidant activities of crop plants under abiotic-induced oxidative stress: a review. **Frontiers in Plant Science**, 8, 510, 2017.
- KORNDÖRFER, G. H.; ARANTES, V. A.; CORREA, G. F.; SNYDER, G. H. Efeito do silicato de cálcio no teor de silício e na produção de grãos de arroz de sequeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 23, p. 635-41, 1999.
- KUMAR, H.; AHMAD, S.; ZACHARIA, S.; KUMAR, S.; ALI, A. Impact of diferente fungicides combination against brown leaf spot (*Drechslera oryzae*) of rice under the invitro and in vivo. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v.6, n.1, p. 341-344, 2017.
- LEE, S. K.; SOHN, E. Y.; HAMAYUN, M.; YOON, J. Y.; LEE, I. J. Effect of silicon on growth and salinity stress of soybean plant grown under hydroponic system. **Agroforestry systems**, v. 80, p. 333-340, 2010.
- LINTON, S. M. A estrutura e função das enzimas celulase (endo- $\beta$ -1, 4-glucanase) e hemicelulase ( $\beta$ -1, 3-glucanase e endo- $\beta$ -1, 4-manase) em invertebrados que consomem materiais que vão desde micróbios, algas até serapilheira. **Bioquímica e Fisiologia Comparada Parte B: Bioquímica e Biologia Molecular**, v. 240, p. 110354. 2020.
- LÓPEZ-BÚCIO, J.; RAMÓN, P. F.; HERRERA-ESTRELLA, A. *Trichoderma* as biostimulant: exploiting the multilevel properties of a plant beneficial fungus. **Scientia Horticulturae**, v. 196, n. 2, p. 109-123, 2015.
- LUGTENBERG, B.; KAMILOVA, F. Plant-growth-promoting rhizobacteria. **Annual review of microbiology**, v. 63, p. 541-556, 2009.
- LUM, M. R.; HIRSCH, A. M. Rots and their symbiotic microbes: Strategies to obtain nitrogen and phosphorus in a nutrient limiting environment. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v. 21, n. 4, p. 368-382, 2003.
- MA, J. F.; MIYAKE, Y.; TAKAHASHI, E. Silicon as a beneficial element for crop plant. In: **Silicon in Agriculture**. Edited by DATNOFF, L. E. KORNDÖRFER, G. H. SNYDER, G. New York: Elsevier Science, p. 17-39, 2001.
- MA, J. F.; YAMAJI, N. Siliconuptake and accumulation in higher plants. **Trends in Plant Science**, v.11, p. 392-397, 2006.
- MA, J. F.; YAMAJI, N.; MITANI, N.; TAMAI, K.; KONISHI, S.; FUJIWARA, T.; KATSUHARA, M.; YANO, M. An efflux transporter of silicion in rice. **Nature**, London, v. 448, p. 209-212, 2007.
- MACDONALD, M. J.; D’CUNHA, G. B. A modern view of phenylalanine ammonia lyase. **Biochemistry and Cell Biology**, v. 85, n. 3, p. 273-282, 2007.
- MARSCHNER H. Mineral nutrition of higher plants. 2ed. London, UK: **Academic Press**; 1995.

- MEHARG, C; MEHARG, A A. Silicon, the silver bullet for mitigating biotic and abiotic stress, and improving grain quality, in rice?. **Environmental and Experimental Botany**, v. 120, p. 8-17, 2015.
- MERINO E; JENSEN R. A; YANOFSKY C. Evolution of bacterial trp operons and their regulation. **Current Opinion in Microbiology**, v.11, p. 78–86, 2008.
- MOORE, J. W.; LOAKE, G. J. & SPOEL, S. H. Transcription dynamics in plant immunity. **The Plant Cell**, v. 23, n. 8, p. 2809-2820, 2011.
- NASIR, F.; TIAN, L.; CHANG, C.; LI, X.; GAO, Y.; TRAN, L. S. P.; & TIAN, C. Current understanding of pattern-triggered immunity and hormone-mediated defense in rice (*Oryza sativa*) in response to *Magnaporthe oryzae* infection. **Seminars in cell & developmental biology**. Academic Press, p. 95-105, 2018.
- NIKI, T.; MITSUHARA, I.; SEO, S.; OHTSUBO, N.; & OHASHI, Y. Antagonistic effect of salicylic acid and jasmonic acid on the expression of pathogenesis-related (PR) protein genes in wounded mature tobacco leaves. **Plant and cell physiology**, v. 39, n. 5, p. 500-507, 1998.
- OLIVEIRA NETO, A. A. A cultura do arroz. Brasília, DF: CONB, 179 p. 2015.
- OU, S.H. **Rice Diseases**. 2nd ed. Kew, UK: Commonwealth Agricultural Bureaux International, 1985. 380p.
- PATEL K.; GOSWAMI D.; DHANDHUKIA P; THAKKER J. **Techniques to study microbial phytohormones**. In: Maheshwari DK (Eds.) Bacterial Metabolites in Sustainable Agroecosystem. Dordrecht: Springer, p: 1-2, 2015.
- PEARSON, J. P.; GRAY, K. M.; PASSADOR, L.; TUCKER, K. D.; EBERHARD, A.; IGLEWSKI, B. H.; GREENBERG, E. P. Structure of the autoinducer required for expression of *Pseudomonas aeruginosa* virulence genes. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 91, n. 1, p. 197-201, 1994.
- PIETERSE, C. M.; VAN DER DOES, D.; ZAMIOUDIS, C.; LEON-REYES, A.; VAN WEES, S. C. Hormonal modulation of plant immunity. **Annual review of cell and developmental biology**, v. 28, p. 489-521, 2012.
- PIETERSE, C. M.; VAN WEES, S. C.; HOFFLAND, E.; VAN PELT, J. A.; & VAN LOON, L. C. Systemic resistance in *Arabidopsis* induced by biocontrol bacteria is independent of salicylic acid accumulation and pathogenesis-related gene expression. **The Plant Cell**, v. 8, n. 8, p. 1225-1237, 1996.
- PINTO, T. T. **A cultura do arroz de sequeiro no extremo oeste de Santa Catarina: diversidade, conhecimentos associados e riscos de erosão genética de variedades locais conservadas pela agricultura familiar**. Universidade Federal de Santa Catarina. Tese, 172p. 2017.
- POZZA, E. A.; POZZA, A. A. A.; & BOTELHO, D. M. D. S. Silicon in plant disease control. **Revista Ceres**, v. 62, n. 3, p. 323-331, 2015.
- PRABHU, A. S.; FILIPPI, M. C. C. Brusone em arroz: controle genético, progresso e perspectivas. Santo Antônio de Goiás: **Embrapa Arroz e Feijão**, 388 p. 2006.

- PRABHU, A. S.; GUIMARÃES, C. M.; BERNI, R. F. Influência da época de plantio no controle da brusone em folhas de arroz de terras altas. Santo Antônio de Goiás: **Embrapa Arroz e Feijão**, 2001. 2 p
- PRADO, L. F. S.; DA COSTA, C. H. M.; DE OLIVEIRA PAZ, R. B.; MOURA, B. D. F. S.; & DA COSTA, F. L. A. Adubação silicatada foliar associada ao nitrogênio em cobertura na cultura do arroz de terras altas. **MAGISTRA**, v. 30, p. 384-390, 2020.
- PARTHASARATHI, T.; VANITHA, K.; LAKSHAMANAKUMAR, P.; KALAIYARASI, D. Aerobic rice-mitigating water stress for the future climate change, v. 3, n. 7, p. 241-254, 2012.
- RODRIGUES, F. Á.; MCNALLY, D. J.; DATNOFF, L. E.; JONES, J. B.; LABBÉ, C.; BENHAMOU, N.; & BÉLANGER, R. R. Silicon enhances the accumulation of diterpenoid phytoalexins in rice: a potential mechanism for blast resistance. **Phytopathology**, v. 94, n. 2, 177-183, 2004.
- RODRIGUES F. A.; JURICK W. M. I. I; DATNOFF L. E.; JONES J. B.; ROLLINS J. A. Silicon influences cytological and molecular events in compatible and incompatible rice-*Magnaporthe grisea* interactions. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 66, n. 4, p.144-159, 2005.
- RODRIGUEZ, H.; FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnology Advances** v. 17, p. 319-339, 1999.
- RODRIGUEZ, H.; FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnology Advances** v. 17, p. 319-339, 1999.7
- SANTOS, G. R. D.; CHAGAS, J. F. R.; CASTRO NETO, M. D. D.; FIDELIS, R.; LEÃO, E. U. Seleção de genótipos de arroz para integrar uma mistura varietal visando o controle da brusone. **Summa Phytopathologica**, v. 43, n. 4, p. 290-296, 2017.
- SCHEUERMANN, K. K.; EBERHARDT, D. S. Avaliação de fungicidas para o controle da brusone de panícula na cultura do arroz irrigado. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v.10, n.1, p.23-28, 2011.
- SHARMA, P.; JHA, A. B.; DUBEY, R. S.; AND PESSARAKLI, M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **J. Bot.** p. 217037, 2012.
- SHI, Y.; WANG, Y.; FLOWERS, T.J.; GONG, H. Silicon decreases chloride transport in rice (*Oryza sativa* L.) in saline conditions. **Journal of Plant Physiology**, v.170, n.9, p.847-853, 2013.
- SILVA, G. B.; RÊGO, M. C. F.; DE FRANÇA, S. K. S. DE SOUSA, T. P. NASCENTE, A. S. LANNA, A. C. ANDRADE, G. B. Uso do *Trichoderma* na cultura do arroz, p. 349, 2019.
- SILVA, M. R.; STRECK, N. A.; FERRAZ, S. E. T.; RIBAS, G. G.; DUARTE JÚNIOR, A. J.; NASCIMENTO, M. F.; ALBERTO, C. M. MACHADO, G. A. Modelagem numérica para previsão de safra de arroz irrigado no Rio Grande do Sul. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.51, n.7, p.791-800, jul. 2016.
- SILVA-LOBO, V. L.; FILIPPI, M. C. C; PRABHU, A. S. **Manejo de doenças: brusone**. Santo Antônio de Goiás, 2007. Disponível em:

<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/arroz/arvore/CONT000fuzvmwzg02wyiv80166sqfmvyttys.html>. Acesso em: 25 nov. 2023

SOUSA, T. P.; DE SOUZA, A. C. A.; DE FILIPPI, M. C. C.; LANNA, A. C.; CORTÊS, M. V.; PINHEIRO, H. A.; & DA SILVA, G. B. Bioagents and silicon promoting fast early upland rice growth. **Environ Sci Pollut Res**, v. 25, p. 3657-3668 2018.

SPENCE, C.; ALFF, E.; JOHNSON, C.; RAMOS, C.; DONOFRIO, N.; SUNDARESAN, V.; BAIS, H. Natural rice rhizospheric microbes suppress rice blast infections. **BMC plant biology**, v. 14, n. 1, p. 1-17, 2014.

SPOEL, S. H. & DONG, X. How do plants achieve immunity? Defence without specialized immune cells. *Nature reviews immunology*, v. 12, n. 2, p. 89-100, 2012.

SREENIVASULU, N.; HARSHAVARDHAN, V. T.; GOVIND, G.; SEILER, C.; & KOHLI, A. Contrapuntal role of ABA: does it mediate stress tolerance or plant growth retardation under long-term drought stress?. **Gene**, v. 506, n. 2, p. 265-273, 2012.

TAHIR H.; GU Q.; WU HJ.; RAZA W.; HANIF A.; WU L.; COLMAN M.; GAO X. Plant growth promotion by volatile organic compounds produced by *Bacillus subtilis* SYST2. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p.1-11, 2017.

TOKURA, A. M.; FURTINI NETO, A. E.; CURI, N.; CARNEIRO, L. F.; ALOVISI, A. A. Silício e fósforo em diferentes solos cultivados com arroz de sequeiro. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 29, p. 9-16, 2007.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE/FOREIGN AGRICULTURAL SERVICE USDA/FAS. Rice outlook: November 2023 (Report No. RCS-23J). Disponível em: <https://www.ers.usda.gov/webdocs/outlooks/107865/rcs-23i.pdf?v=5174.4>. Acesso em: 09 novembro. 2023.

VAGHELA, B.; VASHI, R.; RAJPUT, K.; JOSHI, R. Plant chitinases and their role in plant defense: A comprehensive review. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 159, p. 110055, 2022.

VAUGHAN, D. A.; MORISHIMA, H.; KADOWAKI, K. Diversity in the *Oryza* genus. **Current Opinion in Plant Biology**, Londres, v. 6, n. 2, p. 139-146, 2003.

VEJAN, P.; ABDULLAH, R.; KHADIRAN, T.; ISMAIL, S.; NASRULHAQ BOYCE, A. Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability—a review. **Molecules**, v. 21, n. 5, p. 573, 2016.

VISHWAKARMA, K.; SINGH, V. P.; PRASAD, S. M.; CHAUHAN, D. K.; TRIPATHI, D. K. SHARMA, S. Silicon and plant growth promoting rhizobacteria differentially regulate AgNP-induced toxicity in *Brassica juncea*: Implication of nitric oxide. **Journal of hazardous materials**, v. 390, p. 121806, 2020.

VLEESSCHAUWER, D.; GHEYSEN, G.; HÖFTE, M.. Rede de defesa hormonal em arroz: contos de um mundo diferente. **Tendências em ciência de plantas**, v. 18, n. 10, pág. 555-565, 2013.

VLOT, A. C.; DEMPSEY, D. M. A.; & KLESSIG, D. F. Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease. **Annual review of phytopathology**, v. 47, p. 177-206, 2009.

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

WANG, R.; SHEN, W.; LIU, L.; JIANG, L.; LIU, Y.; SU, N.; WAN, J. A novel lipoxygenase gene from developing rice seeds confers dual position specificity and responds to wounding and insect attack. **Plant molecular biology**, v. 66, p. 401-414, 2008.

WANG, Y.; LIU, M.; WANG, X.; ZHONG, L.; SHI, G.; XU, Y.; CUI, Z. A novel  $\beta$ -1, 3-glucanase Gns6 from rice possesses antifungal activity against *Magnaporthe oryzae*. **Journal of Plant Physiology**, v. 265, p. 153493, 2021.

WANG, Y.; LIU, M.; WANG, X.; ZHONG, L.; SHI, G.; XU, Y.; CUI, Z. A novel  $\beta$ -1, 3-glucanase Gns6 from rice possesses antifungal activity against *Magnaporthe oryzae*. **Journal of Plant Physiology**, v. 265, p. 153493, 2021.

ZANIN, V.; BACCHI, M. R. P.; ALMEIDA, A. T. C. A demanda domiciliar por arroz no Brasil: abordagem por meio do sistema Quads em 2008/2009. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 57, n. 2, p. 234-252, 2019

## CAPÍTULO 1

### Survey and genomic characterization of *Serratia marcescens* on endophytism, biofilm, and phosphorus solubilization in rice plants

Capítulo publicado como artigo no periódico científico Environmental Science and Pollution Research (ESPR)

**Rodrigo Silva de Oliveira**<sup>1</sup>, Akintunde Abiodun<sup>2</sup> Ajulo, Ariany Rosa Gonçalves<sup>3</sup>, Lorena Resendes<sup>2</sup>; Anna Cristina Lanna<sup>4</sup>, Marta Cristina Corsi de Filippi<sup>5</sup>

<sup>1,2</sup>Doutorando, Universidade Federal de Goiás, Goiânia - GO, Brasil.

<sup>3</sup>Doutora em Melhoramento de Planta, Universidade Federal de Goiás - GO, Brasil

<sup>4</sup>Doutora em Fisiologia Vegetal, pesquisadora da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO

<sup>5</sup>Doutora em Plant Pathology and Microbiology- Texas A & M University, pesquisadora da Embrapa da Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO.

DE OLIVEIRA, R. S.; GONÇALVES, A. R.; AJULO, A. A.; OLIVEIRA, L. R.; LANNA, A. C.; DE FILIPPI, M. C. C. Survey and genomic characterization of *Serratia marcescens* on endophytism, biofilm, and phosphorus solubilization in rice plants. **Environmental Science and Pollution Research**. v. 31 , p. 65834–65848, 2024. <https://doi.org/10.1007/s11356-024-35554-2>



# Survey and genomic characterization of *Serratia marcescens* on endophytism, biofilm, and phosphorus solubilization in rice plants

Rodrigo Silva de Oliveira<sup>1,2</sup> · Ariany Rosa Gonçalves<sup>2</sup> · Akintunde Abiodun Ajulo<sup>1,2</sup> · Lorena Resende Oliveira<sup>1,2</sup> · Anna Cristina Lanna<sup>2</sup> · Marta Cristina Corsi de Filippi<sup>2</sup>

Received: 12 January 2024 / Accepted: 7 November 2024 / Published online: 28 November 2024  
© The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2024

## Abstract

*Serratia marcescens*, isolated from the rhizosphere of rice crops, has the potential to improve the acquisition of scarce minerals and provide plant growth. Rice seeds microbiolized with *S. marcescens* and non-microbiolized seeds were sown in a culture medium enriched with non-labile phosphorus, and the roots were analyzed in WinRhizo. The plant segments were documented by scanning electron microscopy (SEM) and incubated in an NBRIP culture medium. DNAs from endophytic colonies were extracted and analyzed by PCR. The genome of *S. marcescens* was annotated using subsystem technology to detect genes involved in phosphorus solubilization, biofilm production, and growth promotion. The root system increased in area, volume, and length by 61.5, 31.5, and 101%, respectively. Halos were formed around segments of microbiolized plants, indicating the solubilization of non-labile phosphorus. SEM detected the presence of biofilms and microcolonies, identified as *S. marcescens* by the molecular markers. Genome annotation found genes with potential functions in plant growth promotion, including genes involved in the biosynthesis of indole-3-acetic acid, phosphate solubilization, and biofilm production. In the low phosphorus crop, the treated plants showed a 181% increase in total biomass. *S. marcescens* solubilizes non-labile phosphorus, colonizes endophytes, modifies the architecture of the root system, and promotes the growth of rice plants, and can be considered a biofertilizer for growing upland rice.

**Keywords** *Oryza sativa* · Bioagents · Endophytism · Insoluble phosphorus · Next-generation sequencing · Genomics

## Introduction

Rice (*Oryza sativa* L.) is one of the world's most grown cereals, a staple food for more than half of the world's population, thus playing an important role as it is considered to be essential in the human diet and accounting for 25–80% of calories in daily diet. It is estimated that for every billion more people in the world population, an additional 100 million tons of rice will be required per year (Kumar et al. 2017;

CGIAR 2021). The cultivation is made under irrigated and upland systems that have, in recent years, shown an important evolution in production due to the reduction of irrigation water availability in plain irrigated rice crops (Araújo et al. 2016; Silva et al. 2016). Both systems face the challenge of increasing productivity with sustainability. The upland cultivation system, produced in the no-till system farming (NTF), stands out, which enables the straw to be maintained on the soil surface in order to reduce soil temperature and improve moisture, as well as the increased content of organic matter and soil biological activity (Nascente et al. 2013).

However, phosphorus (P) availability is among the main factors that limit the productivity of upland rice (Prado et al. 2020). Only 5–25% of P is absorbed by plants, while 75–95% is chemically fixed in the soil becoming insoluble (Batoool and Iqbal 2019). Chemical fertilizers represent the pivotal operating cost for agricultural producers, accounting for approximately 30% of the total expenditure by agribusiness in Brazil. The input increased from 95 to 172% in 2021 due to problems with raw material supply (Carregosa and

Responsible Editor: Gangrong Shi

✉ Marta Cristina Corsi de Filippi  
cristina.filippi@embrapa.br

<sup>1</sup> Agronomy School, Federal University of Goiás, Goiânia, Goiás 74001-970, Brazil

<sup>2</sup> Agricultural Microbiology Laboratory, Brazilian Agricultural Research Corporation Rice and Beans (Embrapa Arroz E Feijão), Rodovia GO-462, Km 12, Fazenda Capivara, Zona Rural, Caixa Postal: 179, Santo Antônio de Goiás, Goiás CEP: 75375-000, Brazil

Barbosa 2022). The unavailability of basic raw materials and logistical, tax, and environmental barriers become bottlenecks for new investments. Therefore, meeting domestic consumption has been occurring mainly via increased imports (Costa and Silva 2012). In addition, the high cost and continuous application of chemical phosphate fertilizers not only reduce its nutrient status but also negatively influence sustainable production (Shakeela et al. 2017).

The exploitation of P, originating from synthetic fertilizers, not available by upland rice plants, requires sustainable biotechnological demands. In this respect, phosphate-solubilizing rhizobacteria (PSR) emerge as an important component of management as biofertilizer agents, biopesticides, and biostimulants. PSR interact with plant roots and they have a vital role in phosphate transformation and bioavailability, improving plant health, soil productivity, and promoting plant growth by direct and/or indirect mechanisms (Majeed et al. 2015; Mishra et al. 2017). The effects can be direct, such as phosphate solubilization, production of phytohormone and siderophores, and nutrient recycling; or indirect, by suppressing several pathogens in the form of biocontrol agents (Nascente et al. 2017).

*Serratia marcescens* are facultative anaerobic gram-negative bacteria that belong to the family Enterobacteriaceae (Su et al. 2016). The isolate BRM32114 is an extracellular enzyme producer (amylase, cellulase, lipase, pectinase, proteinase, chitinase), inorganic phosphorus solubilizer (IS = 1.44), biofilm producer, indoleacetic acid ( $7.38 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), siderophores (siderophores units (SU) = 46.0%), and ACC deaminase enzyme, resistant to water deficiency conditions, induced by polyethylene glycol PEG 0 (0 Mpa) to 328.9 (– 1.2 Mpa)  $\text{g L}^{-1}$  with a growth rate of 0.45 to 0.29 Mpa (Faria 2021). Different strains of *Serratia* sp. are known to promote plant growth through various mechanisms, such as phosphate solubilization, phytohormone synthesis, secretion of extracellular enzymes, and production of siderophores (Mohamed et al. 2018). Advances in sequencing technologies, coupled with bioinformatics tools, allow for the characterization of genome structure, physiology, ecology, and evolution of microbial genomes (Ahmed 2009; Kahlke et al. 2012; Parkhill et al. 2003). Comparative analysis of genome annotations provides a deep understanding of the physiology and microbial morphology of endophytes capable of promoting plant growth. Their ability to solubilize mineral phosphate is attributed to the secretion of a variety of low molecular weight organic acids, mainly gluconic acid, generated through the direct oxidation pathway of glucose via glucose dehydrogenase (GDH) quinoprotein. This enzyme requires pyrroloquinoline quinone (PQQ) as a cofactor, and bacteria that synthesize PQQ have between four and seven genes (*pqq*ABCDEF/G), which are organized in an operon (Choi et al. 2008). These acids can be acetic, lactic, malic,

succinic, tartaric, gluconic, 2-keto-gluconic, oxalic, and citric acid, derived from the metabolism of sugar in root exudates, reducing the pH.

The PSR, when associated with roots or even other parts of the plant, such as leaves, promote plant growth (Tang et al. 2020; Nascente et al. 2017). These bacteria can remain within the host plant, including parts of aerial and underground plants, using it as a protective ecological niche and establishing a mutualistic relationship with the plant, promoting the growth of the host plant and stimulating it to tolerate stress conditions (Chebotar et al. 2015). The colonization process generally starts in the roots and requires the recognition of specific compounds in radicular exudates. However, the aerial parts of the plants, including stems, leaves, flowers, and cotyledons, can also be colonized (Afzal et al. 2019).

The present study searches in the genomic analysis of *S. marcescens* to evidences of its beneficial properties for plant growth and relates some of the genes involved in phosphorus solubilization, biofilm, and growth promotion. Considering the foregoing, this study aimed to register the ability of the rhizobacterium *S. marcescens* to endophytically colonize, solubilize phosphorus, model root system architecture in vitro, and promote plant growth.

## Materials and methods

### Microorganism

The rhizobacterium *Serratia marcescens* (BRM32114) used in the tests is a bacterial strain isolated from the rhizosphere of rice plants and belongs to the Multifunctional Collection of Microorganisms at Embrapa Rice and Beans. The isolate was multiplied in Petri dishes containing nutrient agar (NA) culture medium and incubated for 48 h at 28 °C.

### Sequencing and genome annotation

For the extraction of genomic DNA from the bacterial isolate, we used the protocol provided by Federal Laboratories of Agricultural Defense (LANAGRO), which uses CTAB detergent as extraction buffer (2% CTAB; 2% w:v; 100 mM Tris/HCl, pH 8.0; 25 mM EDTA; 2 M NaCl). The integrity and quality of DNA extracted in the previous step were checked by a 1% agarose gel, and the DNA concentration was determined using a NanoDrop® 2000 Spectrophotometer (Thermo Scientific, Dreieich, Germany). A DNA library was prepared according to the manufacturer's protocol. The bacteria's genome was sequenced on the Illumina HiSeq 4000 platform (Illumina, San Diego, CA), and two pair-end libraries were generated. In total, approximately 37 million reads were generated, with sizes ranging from

35 to 151 bp (for each of the libraries). Low-quality bases and adapter sequences were removed using Trimmomatic software (Bolger et al. 2014). The sequenced reads were de novo assembled using SPAdes v. 3.15.4 software (Bankovich et al. 2012; Prjibelski et al. 2020), with the following parameters: coverage cutoff, 77; k-mers of 91,99,117,127; and isolate mode. The draft genome was annotated using the Prokaryotic Genome Rapid Annotation (PROKKA) v. 1.14.6 (Seemann 2014), rapid annotation using Subsystem Technology (RAST) v. 2.0 (Aziz et al. 2008; Overbeek et al. 2014) software, and NCBI Prokaryotic Genome Annotation Pipeline (PGAP) (Tatusova et al. 2016).

### Seeds microbiolization

Rice seeds of cultivar BRS-Esmeralda (ESM) were previously disinfected in 7.5% (v/v) sodium hypochlorite for 7 min, alcohol at 70% (v/v) for 5 min, and three washes in distilled water (1 min each). At the end, the seeds were spread over a filter paper, within the laminar flow cabinet for drying. Subsequently, the rice seeds were added to the bacterial suspension ( $1 \times 10^8$  CFU/mL) of the BRM32114 alone, grown in nutrient broth (CN) (8 g/L) at 28 °C for 24 h under constant agitation at 150 rpm. Then, the seeds remained under agitation at 150 rpm for an additional period of 24 h at 29 °C. The seeds, from the control treatment, were immersed into CN and kept under agitation and temperature conditions. At the end of the process, the seeds were spread over a filter paper, within the laminar flow cabinet for drying (Filippi et al. 2011).

### Efficiency of BRM32114 in non-labile phosphorus solubilization in in vitro cultivation

In an entirely randomized design, with two treatments and four repetitions, seeds of *S. marcescens* (BRM32114) microbiolized (T1) and non-microbiolized (T2) rice cultivar BRS-Esmeralda were sown in test tubes containing culture medium enriched with culture medium NBRIP with adaptations (KCL, 0.4 g;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 3 g; agar, 5 g; distilled water, 1 L), containing the non-labile phosphorus source (100 mL of  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  solution at 10% and 50 mL of  $\text{CaCl}_2$  solution at 10% and pH 7.0), and kept in a growth chamber, photoperiod of 12 h of light, and temperature of 28 °C.

Twenty days after planting, the roots were removed from the tube, cleaned to remove the excess culture medium, and then scanned, using a *CI-600 Cano Scan* scanner (CID Bio-Science, Version 3.1.19). The images were analyzed with the WinRhizo Pro 2012b program, estimating the values of surface area (SA) and total root volume (RV), thick roots ( $\text{Ø} > 2.0$  mm), thin roots ( $> 0.5 \text{ Ø} < 2.0$  mm), and very thin roots ( $\text{Ø}$  below 0.5 mm), according to Bhom (1979).

### Efficiency of BRM32114 in endophytically colonizing the rice seedling and solubilization of phosphorus in NBRIP medium

Rice seedlings were segmented into root, sheath, and leaf sections of approximately 2.5 cm, and sterilized in sodium hypochlorite solution at 7.5% (v/v) for 7 min, alcohol at 70% (v/v) for 5 min, and three washes in sterile distilled water (for 1 min each). The seedling cuttings were transferred to 60-mm Petri dishes containing NBRIP (National Botanical Research Institute) culture medium (glucose, 10 g;  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 5 g;  $\text{MgSO}_4$ , 0.25 g; KCl, 0.2 g;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 0.1 g; agar, 15 g; distilled water, 1 L; pH 7.0) containing insoluble phosphate (dicalcium phosphate,  $\text{CaHPO}_4$ ), which was separately autoclaved in 100 mL of  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  solution at 10% (2.5 g) and 50 mL of  $\text{CaCl}_2$  solution at 10% (1.25 g) according to Sylvester-Bradley et al. (1982). The plates, in triplicate, were incubated at 28 °C for 48 h.

After the incubation period, the formation of a light halo, in the culture medium, around the seedling segment, indicated the presence of phosphate-solubilizing bacterial cells. The bacterial cells were transferred to a nutrient agar (NA) medium for subsequent morphological identification.

### Scanning electron microscopy (SEM)

Fragments of root, sheath, and leaf of the seedlings were fixed in glutaraldehyde 2.5%, in phosphate-buffered saline for 24 h at 23 °C, in the absence of light. Then, the samples were washed three times in 0.1 M phosphate buffer for 10 min and dehydrated using an ascending series of ethanol concentrations (30, 40, 50, 60, and 70% ethyl alcohol) and kept at 70% until the day of visualization. Subsequently, the samples were subjected to final drying steps, in the  $\text{CO}_2$  critical point (Autosamdri® device, 815, Series A), and transferred to stubs, where they were subjected to metalization with the Denton Vacuum sputter device, VA Dec. Metallized stubs were viewed with SEM-JEOL device, JSM-6610, equipped with EDS, Thermo Scientific NSS Spectral Imaging, to obtain the images.

### Confirmation of *S. marcescens* presence in cuts of rice seedlings

After verifying endophytism in rice seedlings, a PCR (polymerase chain reaction) experiment was conducted using eight pairs of primers that were specifically designed for *S. marcescens* (Table 1), based on the sequencing of the species' genome (available on NCBI under the code KX378747), in order to confirm if the bacteria that colonized the seedlings belonged to the species of interest. The regions tested refer to fragments of the 16S ribosomal RNA gene region, which show nucleotide variation among

**Table 1** Information on the sequences of eight pairs of primers used for endophytic bacteria identification test in cuts of rice seedlings (BRS-Esmeralda). *T<sub>m</sub>*, melting temperature

Primer ID	Sequence	<i>T<sub>m</sub></i>	Product size (bp)
46_1_F	TTGGGCTCCGTTTCCGCC TA	59	166 bp
46_1_R	TGCCCGGATACAACGCCT CA		
46_2_F	AGCGCCCGTTCTCTGTGG AT	58.3	230 bp
46_2_R	CCCGACCCCTTCATGCGT TC		
46_5_F	CGTTCGGCTGTGCGTAG AC	59.2	181 bp
46_5_R	CAGCCAGCCCTGACAAC AG		
46_6_F	TACCCGTGTGACCTGAAC AA	60	221 bp
46_6_R	CCGTTAAGTCGGATGACG TT		
235_4_F	GAGTACATTTCCGCGTG TT	60	237 bp
235_4_R	GAACGCTCTGCGGAAT AC		
235_13_F	GCTGCGCCCTCTTTGGT TG	60	158 bp
235_13_R	GTTGCCGGCACCAGGGAA AC		
235_14_F	CTGCGCCCTCTTTGGTT GC	60	157 bp
235_14_R	GTTGCCGGCACCAGGGAA AC		
235_15_F	CGCCAGGAACAGCAAAGC CC	60	166 bp
235_15_R	CGCCGTGGCTTCCGTCA AC		

different bacterial species. For this purpose, we used non-microbiolized samples (negative control) and microbiolized samples, determined by the following information: 1\_ERC, which corresponds to the root cut of the control sample; 2\_EBC, which corresponds to the sheath cut (also from the control sample); 4\_EBM, corresponding to the sheath cut of the microbiolized sample; and 5\_ERM, which corresponds to the root cut that was also microbiolized. Samples 1 and 2, therefore, were used as negative controls.

Bacterial isolates had their DNA extracted using the CTAB 2% method, as previously described. After extraction, DNA samples were quantified in a spectrophotometer (NanoDrop 2000) and then diluted to a working concentration of 25 ng/μL. PCR reactions were performed using the GoTaq® Master Mix kit from Promega™, following the instructions for use, with a final concentration of 2.5 ng of template DNA and 1.0 μM of each primer in a final volume of 15 μL.

Amplifications of DNA samples via PCR touchdown were conducted following the steps described by Korbie and Mattick (2008), with the following temperature settings: in the annealing step of phase 1, an initial temperature of 70 °C was used, decreasing 1° per cycle, and in phase 2, also in the annealing step, a fixed temperature of 55 °C was used. Amplification of genomic *loci* was confirmed by horizontal electrophoresis on a 3% agarose gel, stained with ethidium bromide, and subjected to UV light.

### Efficiency of BRM32114 in non-labile phosphorus solubilization in greenhouse

The assay was conducted in a greenhouse, in plastic cups containing 500 g of soil, which was collected from the Cerrado area, classified as Dystrophic Red Latosol, tier 0–20 cm of non-cultivated area, which experienced the following chemical characteristics: pH = 5.4; Ca = 2.2 mg/dm<sup>3</sup>; Mg = 0.7 cmol/dm<sup>3</sup>; H<sup>+</sup> + Al<sup>3+</sup> = 2.5 cmol/dm<sup>3</sup>; P = 0.3 mg/dm<sup>3</sup>; K = 79 mg/dm<sup>3</sup>; Cu = 2.3 mg/dm<sup>3</sup>; Zn = 0.9 mg/dm<sup>3</sup>; Fe = 35 mg/dm<sup>3</sup>; Mn = 35 mg/dm<sup>3</sup>; and M.O = 2.4%. The soil was supplemented with urea, ammonium sulfate, and potassium chloride at doses of 80 mg/kg of soil, respectively, and 25 mg/kg of zinc sulfate. Triple superphosphate was used as a phosphorus source, at a high phosphorus rate of 500 mg/kg and a low phosphorus rate of 50 mg/kg of soil. For the control treatment, no fertilization was performed. For the cultivation of upland rice, low phosphorus (P) levels range up to 2.6 mg dm<sup>-3</sup> of P, medium levels are between 3.1 and 6 mg dm<sup>-3</sup> of P, and high levels are above 6 mg dm<sup>-3</sup> of P (Santos et al. 2006).

The assay was conducted in a completely randomized design (CRD), consisting of six treatments with six repetitions. Microbiolized and non-microbiolized seeds from cultivar BRS-Esmeralda were used to compose the following treatments: T1, no phosphate fertilization – Bac (no fertilization with phosphorus and non-microbiolized seeds); T2, no fertilization + Bac (no phosphate fertilization with phosphorus and microbiolized seeds); T3, low phosphorus – Bac (fertilization with low phosphorus and non-microbiolized seeds); T4, low phosphorus + Bac (low phosphorus fertilization and microbiolized seeds); T5, high phosphorus – Bac (high phosphorus fertilization and non-microbiolized seeds); T6, high phosphorus + Bac (high phosphorus fertilization and microbiolized seeds). The microbiolization process was conducted as described in item 2.2 (Filippi et al. 2011).

The plants were kept under controlled conditions, and at 30 days after seeding (DAS), plant height (PH), dry aboveground biomass (65 °C for 72 h) (AGBM), root (RBM), and total (TBM) were determined. The root volume was calculated by the test tube method, in which roots were submerged in a graduated tube with a known volume of distilled water, the volume being determined

by the difference between the initial and final volume of the container. For leaf phosphorus content (LPC), the leaves were collected, washed, dried, and ground according to Oliveira (1979).

## Statistical analysis

We used the SPSS (Statistical Package for the Social Science) program to perform the statistical analyses. The data from both assays were subjected to an analysis of variance, and when the *F*-test was significant, the means from in vitro phosphorus solubilization assay were compared by the *T*-test ( $p < 0.05$ ), and from the greenhouse assay, the means were compared by Tukey's test ( $p < 0.05$ ).

## Results

### Analysis of the BRM32114's draft genome

The sequenced genome of *S. marcescens* strain BRM32114 generated approximately 30 million reads for each library, with an average length of 100 bp and coverage of  $875\times$ . The genome of *S. marcescens* BRM32114 assembled de novo has approximately 5.19 Mbp and comprises 23 contigs, with an overall G + C content of 59.5%. The genome contains 5020 predicted genes, of which 4818 are predicted protein-coding genes (CDS). Furthermore, 105 misc\_RNA genes, 11 rRNA genes, 85 tRNA genes, and one tmRNA were predicted. Among these genes, some are important in the context of phosphorus solubilization (Table S1), biofilm formation (Table S3), and endophytic colonization (Table S4), with particular emphasis on those present in Table 2.

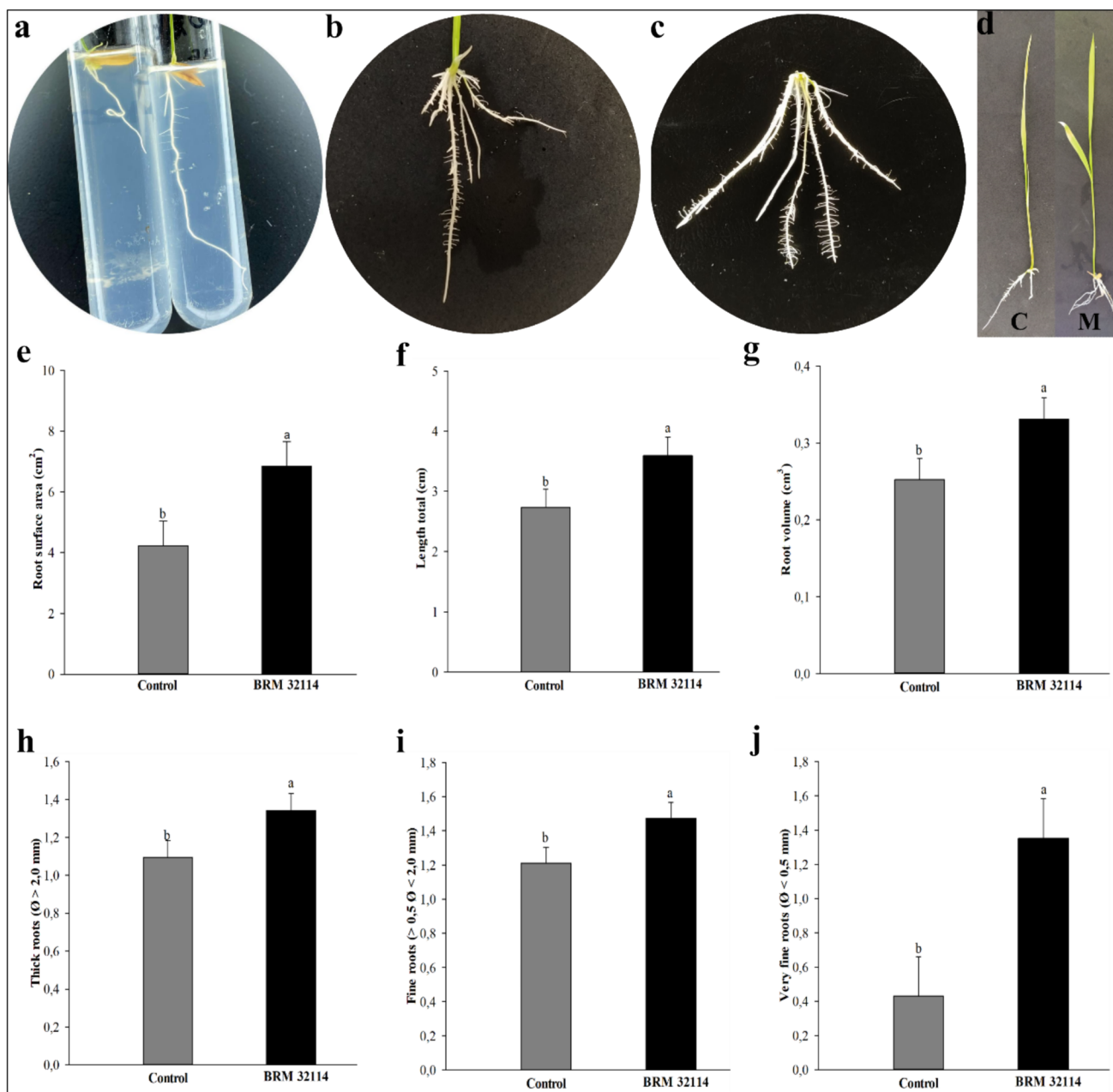
**Table 2** Genes present in the genome of the *S. marcescens* BRM32114 strain involved in phosphate solubilization, quorum sensing, and biofilm formation

<b>Phosphate solubilization</b>					
<b>Metabolic processes</b>	<b>Locus_tag</b>	<b>Gene</b>	<b>EC number</b>	<b>COG</b>	<b>Function descriptions</b>
Pentose phosphate pathway	BRMSMARC_01454	<i>gdhA_1</i>	1.4.1.3	334	Glutamate dehydrogenase
	BRMSMARC_03615	<i>gdhI</i>	1.1.1.47	1028	Glucose 1-dehydrogenase 1
	BRMSMARC_04562	<i>gdhA_2</i>	1.4.1.4	334	NADP-specific glutamate dehydrogenase
Oxidative phosphorylation	BRMSMARC_00236	<i>ppk</i>	2.7.4.1	855	Polyphosphate kinase
	BRMSMARC_03212	<i>ppa</i>	3.6.1.1	221	Inorganic pyrophosphatase
Phosphonate and phosphinate metabolism	BRMSMARC_02581	<i>phnX</i>	3.11.1.1	637	Phosphonoacetaldehyde hydrolase
Organic phosphoester hydrolysis	BRMSMARC_01656	<i>phoA</i>	3.1.3.1	1785	Alkaline phosphatase
Others	BRMSMARC_04939	<i>pqqE</i>	1.21.98.4	535	Pyrroloquinoline quinone biosynthesis protein PqqE
	BRMSMARC_04940	<i>pqqD</i>	-	-	Pyrroloquinoline quinone biosynthesis peptide chaperone PqqD
	BRMSMARC_04941	<i>pqqC</i>	1.3.3.11	5424	Pyrroloquinoline quinone synthase PqqC
	BRMSMARC_04942	<i>pqqB</i>	-	1235	Pyrroloquinoline quinone biosynthesis protein PqqB
	V5791_24350	<i>pqqA</i>	-	-	Pyrroloquinoline quinone precursor peptide PqqA
	V5791_03960	<i>pqqU</i>	-	-	TonB-dependent receptor PqqU
	V5791_24325	<i>pqqF</i>	3.4.24.-	-	Pyrroloquinoline quinone biosynthesis protein PqqF
<b>Quorum sensing and biofilm formation</b>					
<b>Metabolic processes</b>	<b>Locus_tag</b>	<b>Gene</b>	<b>EC number</b>	<b>COG</b>	<b>Function descriptions</b>
Type IV (T4SS)	BRMSMARC_04163	<i>bcsZ</i>	3.2.1.4	3405	Endoglucanase
Quorum sensing and biofilm formation	BRMSMARC_00394	<i>pgaA</i>	-	-	Poly-beta-1,6-N-acetyl-D-glucosamine export protein
	BRMSMARC_00395	<i>pgaB</i>	3.5.1.-	726	Poly-beta-1,6-N-acetyl-D-glucosamine N-deacetylase
	BRMSMARC_00396	<i>pgaC</i>	2.4.1.-	1215	Poly-beta-1,6-N-acetyl-D-glucosamine synthase
	BRMSMARC_00397	<i>pgaD</i>	-	-	Biofilm PGA synthesis protein PgaD

### Efficiency of BRM32114 in non-labile phosphorus solubilization in cultivation in vitro

Plants treated with the BRM32114 alone, *S. marcescens*, experienced changes in radicular system architecture with

significant gains ( $p < 0.05$ ) (Fig. 1). Treated plants experienced increases in root surface area (61.5%), volume (31.5%), total length (101%), thickness ( $\varnothing > 2.0$  mm), and thin roots ( $0.5 > \varnothing < 2.0$  mm) of 22.64 and 21.5%, respectively, and of 214.5% in very thin roots ( $\varnothing < 0.5$  mm).



**Fig. 1** Size and root area of plants from cultivar BRS-Esmeralda, treated and not treated with *S. marcescens* BRM32114, at 20 DAS after cultivation in a culture medium containing non-labile phosphorus in vitro. **a** Rice plant cultivation in a medium supplemented with non-labile phosphorus. Left side: control, right side = microbiolized. **b** Control plant root. **c** Microbiolized plant root. **d** Control and micro-

biolized plant. **e** Root surface area; **f** total length; **g** root volume; **h** thick roots; **i** thin roots; **j** very thin roots. The means followed by different lower-case letters are significantly different at  $P = 0.05$  according to the *T*-test using SPSS v.16.1 software. The experiment was repeated three times

## Endophytic colonization of *Oryza sativa* by *S. marcescens*

The presence of endophytes was noted in seedling cuts. Root and sheath segments of plants treated with BRM32114, deposited in a culture medium indicating phosphorus solubilization, showed the formation of a halo (light zone) (Fig. 2e). Solubilization was only noted in segments of treated plants, indicating the presence of inorganic phosphate-solubilizing bacteria, which remained in interaction with the plant, growing endophytically. Colonies grown around the treated segments (Fig. 2e) were transferred to new Petri dishes containing NA culture medium. We observed the formation of colonies (Fig. 2f–g), with the coloration and morphology of BRM32114, indicating the likely presence of this bacteria inside the segments deposited in the culture medium (Fig. 2e, f, and g).

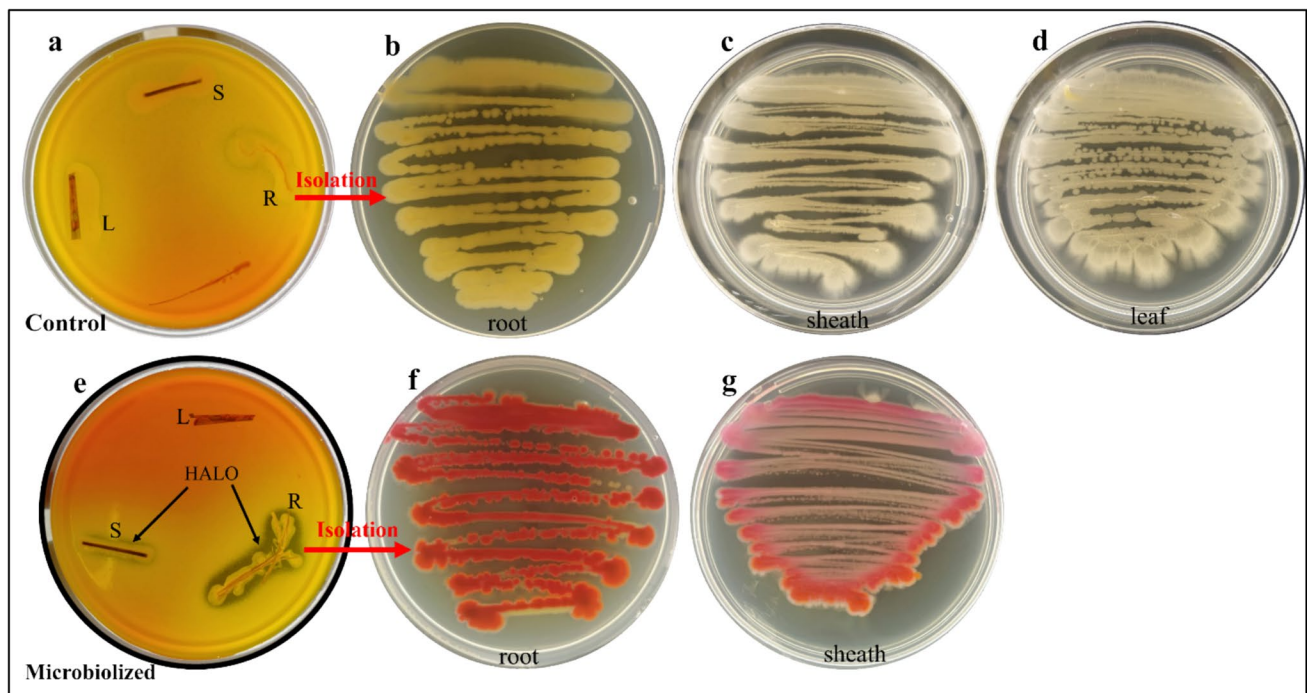
Root and sheath segments of plants not treated with BRM32114, deposited in a culture medium indicating phosphorus solubilization, did not show a halo formation (Fig. 2a). However, the growth of bacterial colonies was noted around the root, stems, and sheath segments. These colonies were transferred to Petri dishes containing NA culture medium. Colony formation can be seen in Fig. 2a, b, c, and d, with coloration and morphology different from that of

BRM32114, indicating the presence of naturally endophytic species in rice.

In the molecular analysis, we observed that for the negative controls (1\_ERC and 2\_EBC; Fig. 2b, c, respectively), there was no amplification of the eight tested loci, whereas the two samples of bacterial isolates (4\_EBM and 5\_ERM; Fig. 2g, f, respectively), with reddish-pink coloration, showed amplification for the same loci (Fig. 3). This indicates that the endophytes found in rice indeed belong to the *S. marcescens*. We can reach this conclusion since the molecular markers designed for the species were amplified for the eight tested loci (4\_EBM and 5\_ERM), whereas for the white-cream-colored bacteria (1\_ERC and 2\_EBC), these same regions did not amplify (Fig. 3).

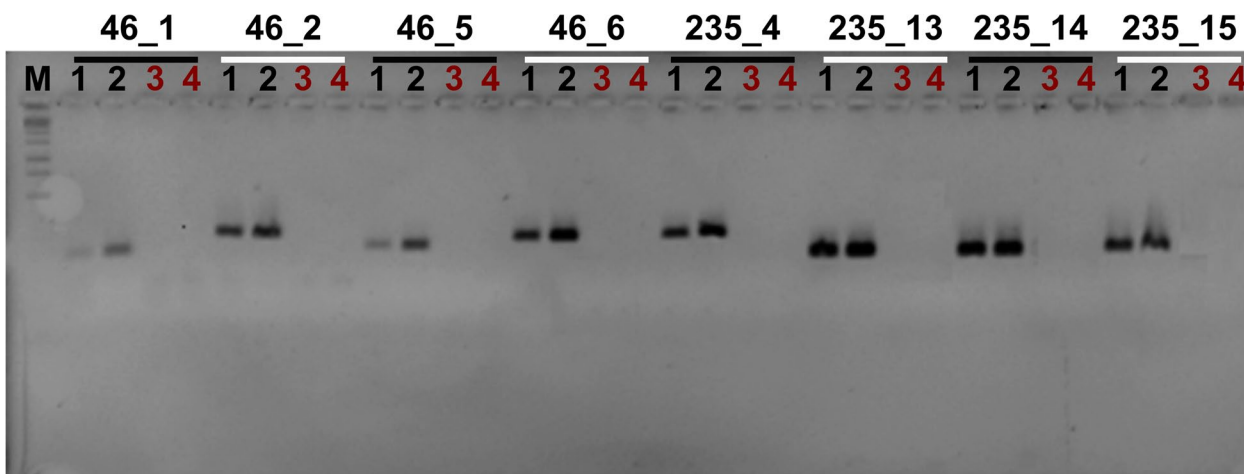
### Scanning electron microscopy (SEM)

The presence of bacterial cells and biofilm was recorded by SEM images (Figs. 4 and 5), by 20 days after inoculation of rhizobacteria *S. marcescens*, in both segments, the root and sheath. Images of the treated root (Fig. 4d, e, and f) and sheath (Fig. 5d, e, and f) cuts show the presence of microcolonies (red arrow) and biofilm (yellow arrow) in higher abundance than in the root (Fig. 4a, b, and c) and sheath (Fig. 5a, b, and c) segments not treated with BRM32114.



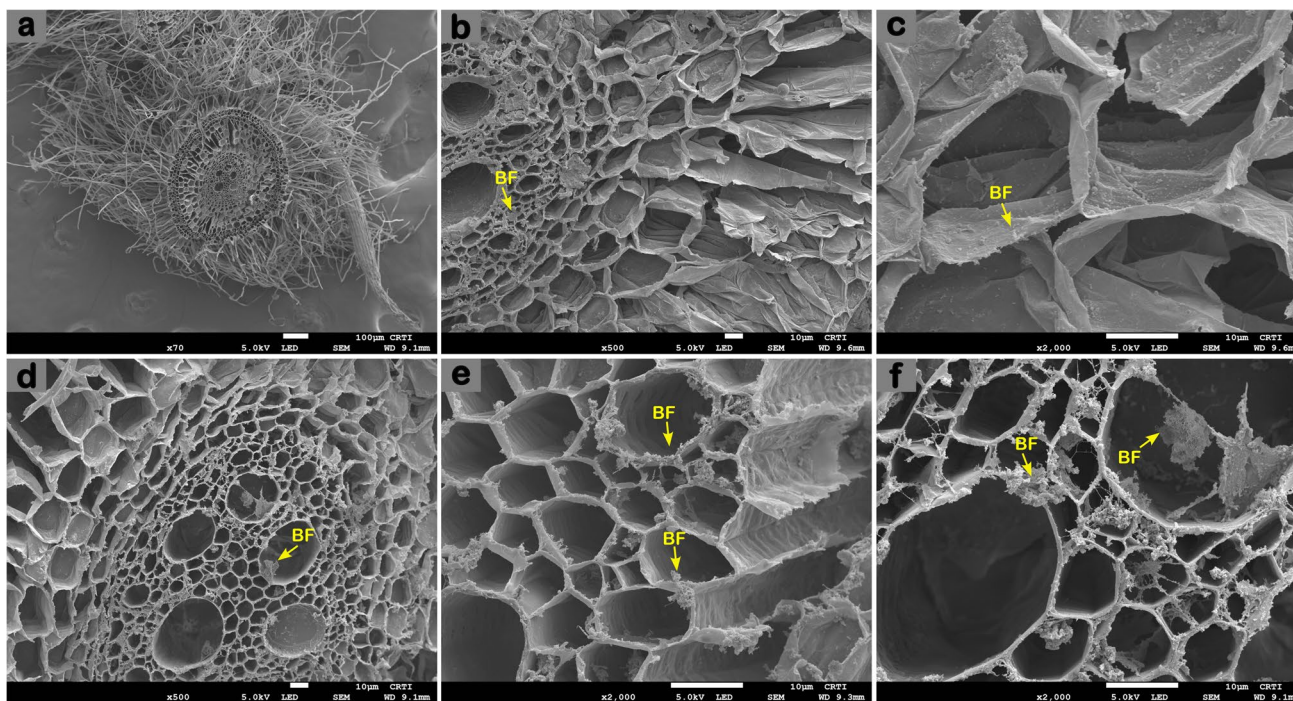
**Fig. 2** Endophytic colonization of rhizobacteria in rice seedlings and phosphate solubilization capability in NBRIP culture medium. **a** Control (root (R), sheath (S), and leaf (L) cut in NBRIP medium); **b, c, d** isolation of endophytes from nutrient agar control

plate. **e** BRM32114 (root (R), sheath (S), and leaf cut (L) in NBRIP medium). **f, g** Isolation of endophytes from the root (**f**) and sheath (**g**) cuts of the plate with microbiolized treatment. The experiment was repeated three times



**Fig. 3** Agarose gel electrophoresis (3%) of the PCR product of eight loci from DNA samples of four bacterial isolates. This gel reveals that samples 4\_EBM and 5\_ERM (represented by numbers 1 and 2, respectively), isolated from rice seedling cuts, correspond to the bacterial species *Serratia marcescens* and confirm its endophytism in the plant. M: molecular marker of known size (1 kb plus, Invitrogen); positive controls: (1) sample 4\_EBM; (2) sample 5\_ERM isolated

from microbiolized rice seedlings BRS-Esmeralda, obtained from root cut; negative controls: (3) sample 1\_ERC isolated from non-microbiolized rice seedlings BRS-Esmeralda, obtained from sheath cut, respectively; (4) sample 2\_EBC, isolated from non-microbiolized rice seedlings BRS-Esmeralda, obtained from root cut. The numbers correspond to the loci ID. The experiment was repeated three times



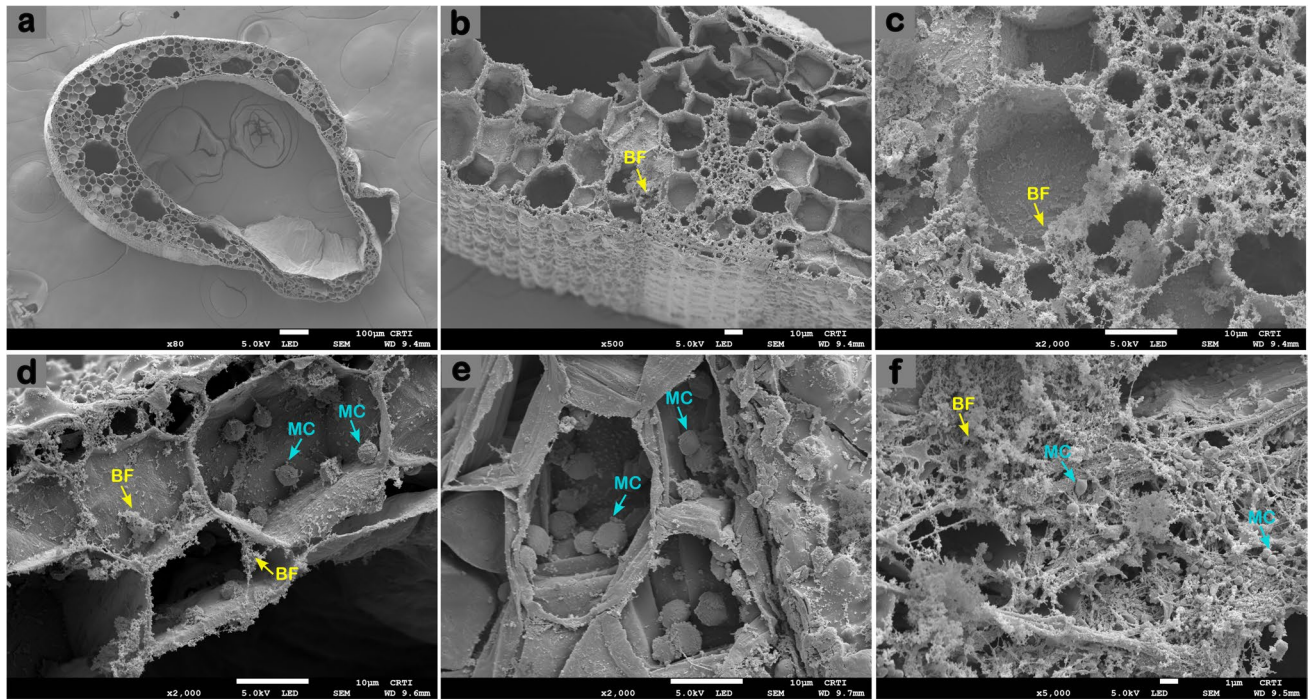
**Fig. 4** Scanning electron microscopy of a cross-section of rice root microbiolized (d, e, f) with *S. marcescens* in seed treatment and control treatment (a, b, c). Biofilm (BF) production by endophytes asso-

ciated with the sheath cell wall. a, b and c = control. d, e and f = microbiolized. BF = Biofilm. The experiment was repeated three times

**Efficiency of BRM32114 in non-labile phosphorus solubilization in vivo cultivation**

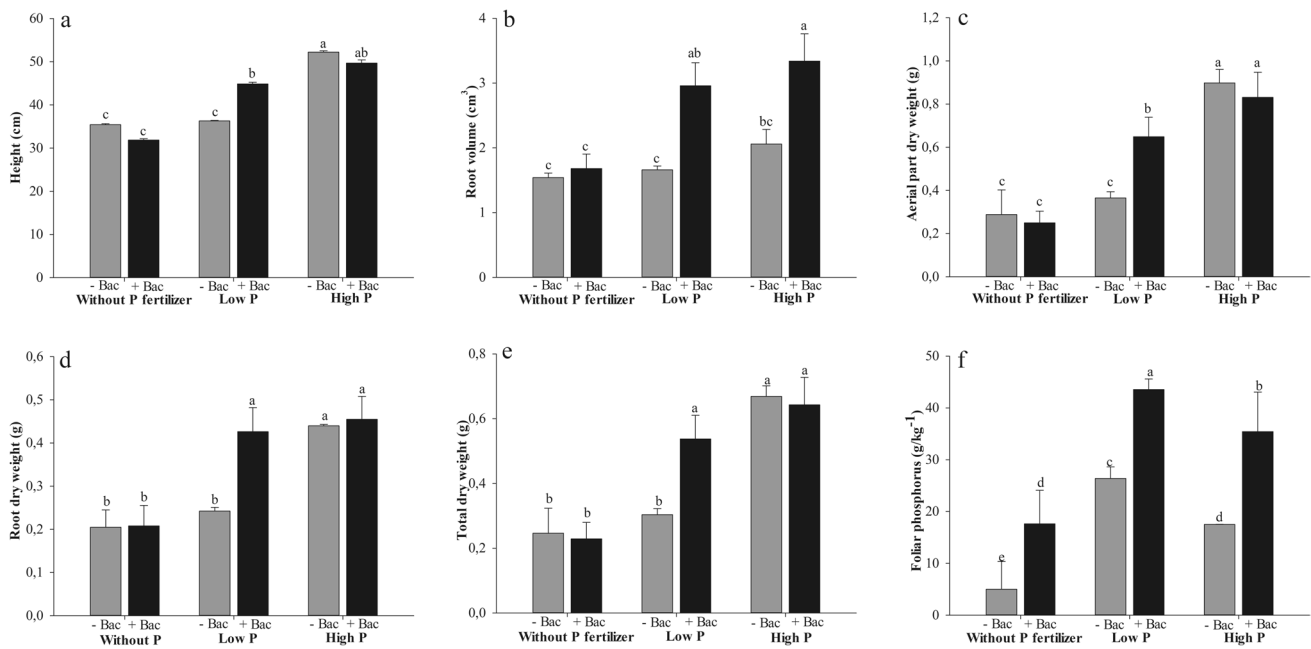
Plants from cultivar Esmeralda treated with BRM32114

showed increases in aboveground and root biomass, even under low phosphorus levels (Fig. 6). The following results were observed for each variable:



**Fig. 5** Scanning electron microscopy of a cross-section of rice sheath microbiolized (**d**, **e**, **f**) with *S. marcescens* in seed treatment and control treatment (**a**, **b**, **c**). Biofilm (BF) production by endophytes associated with the sheath cell wall. Microcolony (MC) formation

in microbiolized treatment with coccoid shape associated with the sheath cell wall. **a**, **b** and **c** = control. **d**, **e** and **f** = microbiolized. BF = Biofilm. MC = Microcolonies. The experiment was repeated three times



**Fig. 6** Height and dry biomass of cv Esmeralda plants treated and not treated with the isolate BRM32114, under different levels of phosphorus fertilization. **a** height; **b** root volume; **c** aboveground dry mass; **d** root dry mass; **e** total dry mass; **f** leaf phosphorus content. –Bac, not microbiolized; +Bac, microbiolized; no phosphate

fertilization; low phosphorus; high phosphorus. The means followed by different lower-case letters are significantly different at  $P=0.05$  according to the Tukey test using the SPSS v.16.1 software. The experiment was repeated three times

**Plant height** Plants grown with no phosphorus fertilization showed no significant difference with and without bacteria. Plants with low phosphorus treated with bacteria grew more than plants without bacteria, an increase of 26.5%. When compared to plants without phosphorus fertilization, only the bacteria treatment at low phosphorus differed statistically, with a 41% increase in height. High phosphorus plants did not differ statistically, but when compared to plants without phosphorus fertilization, there was an increase of up to 56% in height with the bacteria treatment. And as for low phosphorus, plants with high phosphorus bacteria differed only from plants without bacteria, with an increase of 34.5%.

**Root volume** Plants grown with no phosphorus fertilization showed no significant difference with and without bacteria. A 78.5% increase in root volume was observed in plants treated with bacteria compared to untreated plants. When compared to plants treated without phosphorus fertilization, only the bacteria treatment at low phosphorus differed statistically, with an increase of 92% in root volume. In high phosphorus plants, the root volume was superior in plants treated with bacteria with an increase of 62%. It was also noted that the root volume in treated and untreated high phosphorus plants was similar to treated and untreated plants at low phosphorus, respectively. When comparing plants treated without fertilization, high phosphorus-treated plants provided an increase of up to 117%.

**Dry mass of aerial part** Plants treated and untreated with bacteria and grown at low phosphorus conditions were similar in aboveground dry mass. When grown at low phosphorus, the bacteria-treated plants had a higher weight compared to the untreated plants at low and no phosphorus fertilization, an increase of 78% and 159.50%, respectively. In treated and untreated plants cultivated with high phosphorus, there was no statistically significant difference between them, but they were higher compared to low phosphorus plants, with an increase of 28% for treated and 127.5% for untreated. When comparing plants without phosphorus fertilization, the treatment with high phosphorus bacteria provided an increase of up to 232.5%.

**Dry mass of root** Plants grown with no phosphorus fertilization showed no significant difference with and without bacteria. Plants under low phosphorus and treated with bacteria showed a higher dry mass in the roots when compared to plants with no bacteria, with an increase of 76%. When compared to plants without phosphorus fertilization, the bacteria treatment at low phosphorus increased by 108%. Plants treated and untreated with high phosphorus were similar in weight. When compared to low phosphorus, the treated plants were similar, only differing from untreated plants with an increase of 88%. As for plants not fertilized with phosphorus, the increase was up to 122%.

**Total dry mass** Plants treated and untreated with bacteria cultivated with no phosphorus fertilization showed the same total dry mass. Plants under low phosphorus and treated with bacteria showed greater biomass when compared to plants with no bacteria, an increase of 77%. Compared with plants not fertilized with phosphorus, the increase was 118.5%. Plants treated and untreated with high phosphorus were similar in weight. When compared to low phosphorus, the treated plants were similar, differing only from the untreated plants with an increase of 111.5%, and 181% compared to the plants not fertilized with phosphorus.

**Phosphorus content in aerial part tissue** At low phosphorus, the accumulation of leaf phosphorus in bacteria-treated plants was greater than in untreated plants, an increase of 252%. Plants treated with low phosphorus treated with bacteria accumulated more leaf phosphorus than untreated plants, an increase of 65%. When compared to plants without phosphorus fertilization, with low phosphorus, bacteria differed statistically, with an increase of 769.5% in leaf phosphorus content. In high phosphorus plants, the treatment with bacteria increased the leaf phosphorus by 102.5%. In the low phosphorus treatment, plants treated with bacteria showed higher phosphorus content in the leaves, an increase of 149%, when compared to plants not treated with bacteria. Low phosphorus bacteria-treated plants accumulated a greater amount of leaf phosphorus when compared with the other levels, an increase of 829.5% compared to plants untreated with bacteria with no phosphorus fertilization.

## Discussion

In this study, the rhizobacteria *S. marcescens* positively and significantly influenced the architecture of the root system of rice plants cultivated in vitro in a medium with a source of non-labile phosphorus, most significantly in very thin lateral roots, with an increase of 214.5%. In the greenhouse, plants treated with bacteria in an environment with limited phosphorus (low phosphorus) obtained significantly higher increases than untreated plants in the parameters of height and biomass; they also accumulated phosphorus in leaves and were statistically equal to plants cultivated with high phosphorus.

Rhizobacteria can increase the number and/or length of lateral roots (Chamam et al. 2013), stimulate root hair elongation, and consequently, improve the absorption of minerals and water and promote plant growth (Vacheron et al. 2013). In upland rice cultivation, these factors are of critical importance because a well-developed root system explores greater soil volume, thus ensuring plant adaptability to secure sufficient uptake of P and other nutrients (Guimarães et al. 2007).

BRM32114 solubilized the non-labile phosphorus added to the culture medium, which may explain how plants treated with BRM32114 promoted better root development, especially secondary roots, which are important means of nutrient uptake. The solubilization of non-labile phosphorus by rhizobacteria occurs by the action of organic acids, such as acetic, citric, formic, malic, oxalic, and gluconic acids, which are released into the medium through the glycometabolic pathway, accompanied by a fall in pH value (Zeng et al. 2022). Among these, gluconic acid is considered the predominant organic acid in phosphate solubilization (Xie et al. 2021). The production of gluconic acid requires glucose dehydrogenase and its cofactor pyrroloquinoline quinone (PQQ) (Holguin and Glick 2001; Vessey 2003). The genes encoding PQQ-dependent glucose dehydrogenase and the operon consisting of *pqq* ABCDEF, necessary for PQQ biosynthesis, have been identified in the genome of BRM32114. Additionally, other relevant genes involved in the solubilization process, such as those encoding phosphonoacetaldehyde hydrolase (EC 3.11.1.1), inorganic pyrophosphatase (EC 3.6.1.1), glutamate dehydrogenase (EC 1.4.1.3), NADP-specific glutamate dehydrogenase (EC 1.4.1.4), and alkaline phosphatase (EC 3.1.3.1), were also found in the genome of BRM32114.

A study with grass genotypes (Postma, et al. 2014) showed that plants with more lateral roots adapted more to P-limited soils, and root hairs contributed to about 70% of the surface area (Miguel et al. 2015). This value is close to that obtained by this study, which was 61.5%. In Poaceae, root hairs and lateral roots are preferentially colonized by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR), from which they express beneficial factors for the plant through the production of phytohormones, secondary metabolites, and enzymes. PGPR also contribute to plant nutrition through the mechanisms of nitrogen fixation, phosphorus solubilization, indole-3-acetic acid (IAA), and siderophore production and by modifying root physiology (Vacheron et al. 2013). The production of phytohormones is a characteristic shared by bacterial endophytes. It is believed that host plants selectively choose endophytes that possess the ability to produce indole-3-acetic acid (IAA). These endophytes, when associated with plants, utilize tryptophan as a precursor for IAA biosynthesis. The IAA production by the isolate BRM32114 ( $7.38 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) has been previously detected in our genome analysis (Faria et al. 2023). We identified the presence of genes involved in IAA biosynthesis and the precursor tryptophan. BRM32114 successfully colonized root (R) and sheath (S) sections, forming halos around these segments. The isolates were then transferred to the National Botanical Research Institute (NBRIP) medium, and species-specific molecular markers were detected.

The verification of phosphorus solubilization potential was performed in NBRIP medium, and the color change of

phenol red indicator ( $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{O}_5\text{S}$ ) represents the medium pH change, caused by the secretion of organic acids or phosphatases that allow phosphorus solubilization. In Petri dishes containing indicator culture medium (NBRIP), colonies were found growing around the root and sheath segments along with halo formation (clear zone). Halo formation is generally caused by the release of organic acids, which chelate calcium associated with phosphate and thus make phosphorus more available (Zeng et al. 2022). Acidification of the medium ( $\text{pH} = 1.94$ ) during phosphate solubilization by organic acids produced by *S. marcescens* has already been recorded (Mohamed et al. 2018; Chen et al. 2006). Phosphate-solubilizing bacteria were selected based on halo zone formation with a solubilization index (3.0–4 SI). Studies have shown the presence of genes such as *pqq* (pyrroloquinoline quinone) and *gdh* (glucose dehydrogenase) that encode phosphatase activity in *S. marcescens* (Shakeela et al. 2017; Ben Farhat et al. 2013).

However, in the control treatment, even after seed decontamination, other endophytic bacteria, different from BRM32114, were noted, and they did not show potential to solubilize phosphorus and were not detected by the species-specific primers. Endophytic bacteria are characterized as isolates from sterilized plant tissues that do not cause any noticeable damage to host plants, and they can be found within the plant including aerial parts, roots, and seeds, positively affecting plant development (Santoyo et al. 2016; Afzal et al. 2019).

Twenty days after treating seeds with the rhizobacteria *S. marcescens*, the presence of colonies and biofilm was observed in abundance by the images captured by SEM. In previous experiments, endophytic colonization of *S. marcescens* was observed in roots 5 days after inoculation (DAI), stem, and leaves 7 DAI of rice plants (Gyaneshwar et al. 2001). In the stem, the highest concentration was seen within the aerenchyma, intercellular spaces, and spaces between leaf sheaths. In maize plants, bacterial endophytic colonization was stronger in the lower stem compared to the stem closer to the apex of the aerial part (Fisher et al. 1992). The interaction process between bacteria and host plants usually begins in the roots, where the exudation of compounds specific to each plant species occurs, which will be recognized by certain species of bacteria, which may or may not be endophytic (Afzal et al. 2019). Only bacteria adapted to the endophytic niche migrate to other tissues, such as the aerial part. This bacterial movement within the plant is performed by bacterial flagella and the plant's transpiration flow (Compart et al. 2005).

The migration of endophytic bacteria along intercellular spaces also requires the secretion of cell wall-degrading enzymes, such as cellulase and pectinase. Then, the bacteria can colonize, by forming microcolonies and/or biofilms (Afzal et al. 2019). Biofilms are extracellular matrices

consisting of exopolysaccharides, proteins, and nucleic acids (Zboralski and Filion 2020). Rhizobacteria, with good bio-film production, enhance plant growth-promoting activities, especially plants under biotic and abiotic stress conditions (Santoyo et al. 2021). The images captured by SEM (Figs. 4 and 5) indicate that biofilm production was more intense in the sheath cut in both treatments. The microbiolized treatment with *S. marcescens* produced a larger amount of bio-film, and its presence was visualized in the NBRIP medium sections and confirmed by PCR.

Gamalero et al. (2003) reported that bacteria did not uniformly colonize the host plant root system. Factors, such as root exudation, bacterial quorum sensing, bacterial growth rate, and production of antagonistic substances, can influence the root colonization process (Compant et al. 2010). These factors may explain the less expressive presence of endophyte clusters in the root cut in the present study. We did not observe the presence of microcolonies in roots, as found in the sheath cut, indicating that the rhizobacteria *S. marcescens* resides in a more pronounced way in the plant sheath, which is noticeable by the formation of microcolony clusters and biofilm arrangements.

The root exudates can activate bacterial genes involved in plant adhesion and colonization, including those encoding fimbriae, flagella, and plant cell wall-degrading enzymes such as endoglucanases, quorum sensing systems, and secretion systems (Gómez-Godínez et al. 2023; Kandel et al. 2017; Afzal et al. 2019). It is known that secretion systems (SS) are complex, and in the interaction between bacteria and plants, secretion systems such as Type II (T2SS), Type III (T3SS), and Type IV (T4SS) play roles in symbiosis, such as bacteria entering plant cells (Green and Mecsas 2016; Gupta et al. 2024), and secretion of multiple biochemical substances. In the genome of BRM32114, genes predicted to be involved in Type II, III, and IV secretion systems were found. Reinhold-Hurek and Hurek (2011) reported that Type I and Type II secretion systems were observed in the genomes of 11 endophytes and various Rhizobia strains. Tsyganova et al. (2021) highlight the importance of these systems in symbiotic interaction with host plants, including Type III and IV. For example, through the T3SS, called the injectosome, effector proteins are injected through bacterial membranes into the cytosol of host cells, from where they can modulate a variety of host cell functions, including immune and defense responses.

Our results in the greenhouse confirmed that *S. marcescens* influenced the root system of plants and increased plant height by 41% and 56%, root volume by 92% and 117%, root biomass by 108% and 122%, and total biomass by 119% and 181%, values referring to low phosphorus and high phosphorus, respectively. Similar increases were obtained by bacterial isolates from the rhizosphere of rice plants, promoting increases of 22% in plant height, 46% in root biomass, and 60% in total biomass in the greenhouse (Filippi et al. 2011).

Previous studies conducted at Embrapa Rice and Beans also demonstrated the efficiency of the isolate BRM32114 in cultures comprising the cultivation system such as soybean, corn, and bean (Martins 2015; Martins et al. 2020; Nascente et al. 2017; Sperandio et al. 2017; Rezende et al. 2021; Silva et al. 2022; Frasca et al. 2022; Cruz et al. 2022).

Seeds of the cultivar BRS-Esmeralda treated with *S. marcescens* and grown on low phosphorus developed in size, biomass, and accumulated phosphorus in leaves, statistically equal to high phosphorus-grown plants. The results confirmed that BRM32114 promoted plant growth under limited P availability. This may be related to the higher prevalence of *S. marcescens* in the low-P environment. According to Mander et al. (2012), the prevalence and diversity of rhizobacteria in the low-P environment are higher than in soil with a high level of P available, regardless of the rhizosphere, and their solubilization capacity is severely reduced at high phosphorus, which is caused by selection pressure and deprivation of P ions for phosphate solubilization. Phosphate-solubilizing rhizobacteria can dissolve phosphate organic compounds through phosphatase and phytase enzymes, making P available and promoting plant growth (Quinn et al. 2007). *Serratia* sp. is described as a diazotrophic endophytic rhizobacterium producing indole-3-acetic acid, cellulase, phosphatase, siderophore, and ACC deaminase (Sarathambal et al. 2015; Martins et al. 2020).

This study showed that rice plants treated with the rhizobacteria *S. marcescens* showed increases in leaf tissue phosphorus content by 65% and 102.5% at low phosphorus and high phosphorus, respectively. A study with *S. marcescens* (BRM32114) showed that the cultivation of upland rice in low nitrogen (N) soil was more effective than in high N soil. Rice treated with BRM32114 experienced an increase in N (7%), Ca (11%), and Mg (9%) content (Nascente et al. 2019). Chea et al. (2021) noted that rhizobacteria *Variovorax paradoxus*, *Azoarcus* sp., *Azospirillum* sp., *Bacillus subtilis*, and *Pseudomonas* sp. significantly improved root and above-ground biomass, total root length, and root surface area by 32–45% in potato plants grown at low P levels (P0, P1, P2) mg PL<sup>-1</sup> and increased P concentration in all plant parts in the P30 solution (30 mg PL<sup>-1</sup>), corroborating our results.

## Conclusion

*Serratia marcescens* isolate BRM32114 solubilizes non-labile P and endophytically colonizes upland rice plants. We showed that this interaction led to changes in the architecture of the plant's root system, a benefit highlighted in this study and attributed to this rhizobacterium's ability to solubilize phosphorus, making it possible to grow crops with lower phosphorus levels.

**Supplementary Information** The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1007/s11356-024-35554-2>.

**Author contribution** All the authors contributed to the conception and design of the study. The in vitro and in vivo analyses were carried out by Rodrigo Silva de Oliveira and Akintunde Abiodun Ajulo. The genomic part was carried out by Ariany Rosa Gonçalves. The molecular characterization stage, which includes PCR and electrophoresis, was carried out by Ariany Rosa Gonçalves and Lorena Resende Oliveira. Data analysis was carried out by Anna Cristina Lanna and Marta Cristina Corsi de Filippi. All the authors have read and approved the final manuscript.

**Funding** The authors thank the Brazilian Agricultural Research Corporation (Embrapa) (SustentArroz Project: number 20.19.03.012.00.00) for the financial support and for providing the necessary infrastructure to carry out this research.

**Data availability** The study's raw data is temporarily unavailable to the public. Data requests can be made to the corresponding author by email: [cristina.filippi@embrapa.br](mailto:cristina.filippi@embrapa.br) (Marta Cristina Corsi de Filippi).

## Declarations

**Ethical approval** Not applicable.

**Consent to participate** Not applicable.

**Consent for publication** All authors were allowed to read and approve the final manuscript.

**Competing interests** The authors declare no competing interests.

## References

- Afzal I, Shinwari ZK, Sikandar S, Shahzad S (2019) Plant beneficial endophytic bacteria: mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. *Microbiol Res* 221:36–49. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.02.001>
- Ahmed N (2009) A flood of microbial genomes—do we need more? *PLoS One* 4:5831. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005831>
- Araújo L, Paschoalino RS, Rodrigues FA (2016) Microscopic aspects of silicon mediated rice resistance to leaf scald. *Phytopathology* 106:132–141. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-04-15-0109-R>
- Aziz RK, Bartels D, Best AA, DeJongh M, Disz T, Edwards RA (2008) The RAST Server: rapid annotations using subsystems technology. *BMC Genomics* 9:75. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-75>
- Bankevich A, Nurk S, Antipov D, Gurevich AA, Dvorkin M, Kulikov AS, Lesin VM, Nikolenko SI, Pham S, Prjibelski AD, Pyshkin AV, Sirotkin AV, Vyahhi N, Tesler G, Alekseyev MA, Pevzner PA (2012) SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J Comput Biol* 19(5):455–477. <https://doi.org/10.1089/cmb.2012.0021>
- Batool S, Iqbal A (2019) Phosphate solubilizing rhizobacteria as alternative of chemical fertilizer for growth and yield of *Triticum aestivum* (Var. Galaxy 2013). *Saudi J Biol Sci* 26:1400–1410. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.05.024>
- Ben Farhat M, Fourati A, Chouayekh H (2013) Coexpression of the pyrroloquinoline quinone and glucose dehydrogenase genes from *Serratia marcescens* CTM 50650 conferred high mineral phosphate-solubilizing ability to *Escherichia coli*. *Appl Biochem Biotechnol* 170:1738–1750. <https://doi.org/10.1007/s12010-013-0305-0>
- Bhom W (1979) *Methods of studying root systems*. Springer-Verlag, New York, p 188
- Bolger AM, Lohse M, Usadel B (2014) Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics* 30(15):2114–2120. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>
- Carregosa L, Barbosa M (2022) Fertilizantes representam até 30% dos custos agrícolas. <https://www.poder360.com.br/economia/fertilizantes-representam-ate-30-dos-custos-agricolas/>. Acesso em 05/12/2023
- CGIAR The global staple (2021) [cited 2021 Apr 27]. <https://ricepedia.org/rice-asfood/theglobal-staple-rice-consumers>. Acesso: 07/11/2022
- Chamam A, Sanguin H, Bellvert F, Meiffren G, Comte G, Wisniewski-Dyé F, Prigent-Combaret C (2013) Plant secondary metabolite profiling evidences strain-dependent effect in the *Azospirillum-Oryza sativa* association. *Phytochemistry* 87:65–77. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2012.11.009>
- Chea L, Pfeiffer B, Schneider D, Daniel R, Pawelzik E, Naumann M (2021) Morphological and metabolite responses of potatoes under various phosphorus levels and their amelioration by plant growth-promoting rhizobacteria. *Int J Mol Sci* 2:5162. <https://doi.org/10.3390/ijms22105162>
- Chebotař VK, Malfanova NV, Shcherbakov AV, Ahtemova GA, Borisov AY, Lugtenberg B, Tikhonovich IA (2015) Endophytic bacteria in microbial preparations that improve plant development. *Appl Biochem Microbiol* 51:271–277. <https://doi.org/10.1134/S0003683815060174>
- Chen YP, Rekha PD, Arun AB, Shen FT, Lai W, Young CC (2006) Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Appl Soil Ecol* 34:33–41. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2005.12.002>
- Choi O, Kim J, Kim JG, Jeong Y, Moon JS, Park CS, Hwang I (2008) Pyrroloquinoline quinone is a plant growth promotion factor produced by *Pseudomonas fluorescens* B16. *Plant Physiol* 146:657–668. <https://doi.org/10.1104/pp.107.112748>
- Compant S, Duffy B, Nowak J, Clément C, Barka EA (2005) Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. *Appl Environ Microbiol* 71:4951–4959. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.9.4951-4959.2005>
- Compant S, Clément C, Sessitsch A (2010) Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. *Soil Biol Biochem* 42:669–678. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.11.024>
- Costa ML, Silva OFM (2012) A indústria química e o setor de Fertilizantes. [https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/bitstream/1408/2025/1/A%20ind%C3%BAstria%20qu%C3%ADmica%20e%20o%20setor%20de%20fertilizantes\\_P\\_A.pdf](https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/bitstream/1408/2025/1/A%20ind%C3%BAstria%20qu%C3%ADmica%20e%20o%20setor%20de%20fertilizantes_P_A.pdf). Acesso: 03/12/2022
- Cruz DRC, Nascente AS, Silva MA, Neto JB (2022) Root and shoot development of corn seedlings as affected by rhizobacteria. *Colloq Agrariae* 18:53–63. <https://doi.org/10.5747/ca.2022.v18.n1.a479>
- Faria DR, Mendonça SM, De Sousa Oliveira MI, Lanna AC, De Filippi MCC (2023) Rhizobacteria and silicon mitigate multiple stresses in upland rice. *Trop Plant Pathol* 48:508–522. <https://doi.org/10.1007/s40858-023-00593-6>
- Faria DR (2021) Rhizobacteria and silicon in the intensification of upland rice: mitigation of water deficit and blast. Dissertation, Federal University of Goiás
- Filippi MCC, Da Silva GB, Silva-Lobo VL, Côrtes MVC, Moraes AJG, Prabhu AS (2011) Supressão da brusone (*Magnaporthe oryzae*) e promoção do crescimento por rizobactérias em arroz aeróbico no

- Brasil. *Controle Biológico* 58:160–166. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2011.04.016>
- Fisher PJ, Petrini O, Scott HML (1992) The distribution of some fungal and bacterial endophytes in maize (*Zea mays* L.). *New Phytol* 122:299–305. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1992.tb04234.x>
- Frasca LLD, Nascente AS, Rezende CC, Silva MA, Lanna AC, De Brito Ferreira EP, De Mello Duarte JR (2022) Consortium of multifunctional microorganisms in soybean culture. *Colloq Agrariae* 18:61–67. <https://doi.org/10.5747/ca.2022.v18.n4.a508>
- Gamalerio E, Fracchia L, Cavaletto M, Garbaye J, Frey-Klett P, Varese GC, Martinotti MG (2003) Characterization of functional traits of two fluorescent pseudomonads isolated from basidiomes of ectomycorrhizal fungi. *Soil Biol Biochem* 35(1):55–65. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(02\)00236-5](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(02)00236-5)
- Gómez-Godínez LJ, Aguirre-Noyola JL, Martínez-Romero E, Arteaga-Garibay RI, Ireta-Moreno J, Ruvalcaba-Gómez JM (2023) A look at plant-growth-promoting bacteria. *Plants* 12(8):1668. <https://doi.org/10.3390/plants12081668>
- Green ER, Meccas J (2016) Bacterial secretion systems: an overview, Virulence mechanisms of bacterial pathogens, 213–239. <https://doi.org/10.1128/9781555819286.ch8>
- Guimarães CM, Stone LF, Neves PC (2007) Resposta fenotípica de arroz de terras altas ao estresse de fósforo no solo. *Rev Bras De Engenharia Agríc e Ambiental* 11:578–584
- Gupta G, Chauhan PS, Jha PN, Verma RK, Singh S, Yadav VK, Patel A (2024) Moléculas secretoras de sistemas de secreção ajustam a interação hospedeiro-bactérias benéficas (PGPRs). *Front Microbiol* 15:1355750
- Gyaneshwar P, Ek J, Mathan N, Reddy PM, Reinhold-Hurek B, Ladha JK (2001) Endophytic colonization of rice by a diazotrophic strain of *Serratia marcescens*. *J Bacteriol* 183:2634–2645. <https://doi.org/10.1128/JB.183.8.2634-2645.2001>
- Holguin G, Glick BR (2001) Expression of the ACC deaminase gene from *Enterobacter cloacae* UW4 in *Azospirillum brasilense*. *Microb Ecol* 41:281–288. <https://doi.org/10.1007/s002480000040>
- Kahlke T, Goesmann A, Hjerde E, Willassen NP, Haugen P (2012) Unique core genomes of the bacterial family vibrionaceae: insights into niche adaptation and speciation. *BMC Genom* 13:1–12. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-179>
- Kandel SL, Joubert PM, Doty SL (2017) Bacterial endophyte colonization and distribution within plants. *Microglucisms* 5:77. <https://doi.org/10.3390/microorganisms5040077>
- Korbie DJ, Mattick JS (2008) Touchdown PCR for increased specificity and sensitivity in PCR amplification. *Nat Protoc* 3:1452–1456
- Kumar H, Ahmad S, Zacharia S, Kumar S, Ali A (2017) Impact of different fungicides combination against brown leaf spot (*Drechslera oryzae*) of rice under the *in vitro* and *in vivo*. *J Pharmacogn Phytochemistry* 6(1):341–344
- Majeed A, Abbasi MK, Hameed S, Imran A, Rahim N (2015) Isolation and characterization of plant growth-promoting rhizobacteria from wheat rhizosphere and their effect on plant growth promotion. *Front Microbiol* 6:198. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00198>
- Mander C, Wakelin S, Young S, Condrón L, O’Callaghan M (2012) Incidence and diversity of phosphate-solubilising bacteria are linked to phosphorus status in grassland soils. *Soil Biol Biochem* 44:93–101. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.09.009>
- Martins BE (2015) Morphological, biochemical, and molecular characterization of antagonistic bacterial isolates of *magnaporthe oryzae*. Dissertation, Federal University of Goiás
- Martins BEDM, Chaibub AA, Cortês MVCB, Lobo VLDS, Filippi MCCD (2020) Characterization of bacterial isolates for sustainable rice blast control. *Rev Caatinga* 33(3):702–712. <https://doi.org/10.1590/1983-21252020v33n313rc>
- Miguel MA, Postma JA, Lynch JP (2015) Phene synergism between root hair length and basal root growth angle for phosphorus acquisition. *Plant Physiol* 167:1430–1439. <https://doi.org/10.1104/pp.15.00145>
- Mishra J, Singh R, Arora NK (2017) Plant growth-promoting microbes: diverse roles in agriculture and environmental sustainability, Probiotics and plant health, Springer, Singapore, pp 71–111. [https://doi.org/10.1007/978-981-10-3473-2\\_4](https://doi.org/10.1007/978-981-10-3473-2_4)
- Mohamed EA, Farag AG, Youssef SA (2018) Phosphate solubilization by *Bacillus subtilis* and *Serratia marcescens* isolated from tomato plant rhizosphere. *J Environ Prot* 9:266. <https://doi.org/10.4236/jep.2018.93018>
- Nascente AS, Crusciol CAC, Cobucci T (2013) The no-tillage system and cover crops-Alternatives to increase upland rice yields. *Eur J Agron* 45:124–131. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2012.09.004>
- Nascente AS, De Filippi MCC, Lanna AC, De Sousa TP, De Souza ACA, Da Silva Lobo VL, Da Silva GB (2017) Effects of beneficial microorganisms on lowland rice development. *Environ Sci Pollut Res* 24:25233–25242. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0212-y>
- Nascentes S, Lanna AC, De Sousa TP, Chaibub AA, De Souza ACA, De Filippi MCC (2019) N fertilizer dose-dependent efficiency of *Serratia spp.* for improving growth and yield of upland rice (*Oryza sativa* L.). *Int J Plant Prod* 13:217–226. <https://doi.org/10.1007/s42106-019-00049-5>
- Oliveira LB (1979) Manual de métodos de análise de solo. Embrapa-SNLRS, Rio de Janeiro
- Overbeek R, Olson R, Pusch GD, Olsen GJ, Davis JJ, Disz T (2014) The SEED and the Rapid Annotation of microbial genomes using Subsystems Technology (RAST). *Nucleic Acids Res* 42:D206–D214. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1226>
- Parkhill J, Sebailia M, Preston A, Murphy LD, Thomson N, Harris DE, Maskell DJ (2003) Comparative analysis of the genome sequences of *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* and *Bordetella bronchiseptica*. *Nat Genet* 35(1):32–40. <https://doi.org/10.1038/ng1227>
- Postma JA, Dathe A, Lynch JP (2014) The optimal lateral root branching density for maize depends on nitrogen and phosphorus availability. *Plant Physiol* 166:590–602. <https://doi.org/10.1104/pp.113.233916>
- Prado LFS, Da Costa CHM, De Oliveira Paz RB, Moura BDF, Da Costa FLA (2020) Adubação silicatada foliar associada ao nitrogênio em cobertura na cultura do arroz de terras altas. *Magistra* 30:384–390
- Prijbelski A, Antipov D, Meleshko D, Lapidus A, Korobeynikov A (2020) Using SPAdes De Novo Assembler. *Curr Protocol Bioinform* 70(1). <https://doi.org/10.1002/cpbi.102>
- Quinn JP, Kulakova AN, Cooley NA, Mcgrath JW (2007) New ways to break an old bond: the bacterial carbon–phosphorus hydrolases and their role in biogeochemical phosphorus cycling. *Environ Microbiol* 9:2392–2400. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2007.01397.x>
- Reinhold-Hurek B, Hurek T (2011) Living inside plants: bacterial endophytes. *Curr Opin Plant Biol* 14(4):435–443. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2011.04.004>
- Rezende CC, Nascente AS, Silva MA, De Mello Frasca LL, Pires RAC, De Filippi MCC, Arruda JF (2021) Physiological and agronomic performance of common bean treated with multifunctional microorganisms. *Rev Bras De Ciências Agrárias* 16:1–9. <https://doi.org/10.5039/agraria.v16i4a838>
- Santos AB, Stone LF, Vieira NDA (2006) Rice cultivation in Brazil. Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás
- Santoyo G, Moreno-Hagelsieb G, Del Carmen O-M, Glick BR (2016) Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiol Res* 183:92–99. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.11.008>
- Santoyo G, Urtis-Flores CA, Loeza-Lara PD, Orozco-Mosqueda MDC, Glick BR (2021) Rhizosphere colonization determinants by plant

- growth-promoting rhizobacteria (PGPR). *Biology* 10:475. <https://doi.org/10.3390/biology10060475>
- Sarathambal C, Ilamurugu K, Balachandar D, Chinnadurai C, Gharde Y (2015) Characterization and crop production efficiency of diazotrophic isolates from the rhizosphere of semi-arid tropical grasses of India. *Ecologia Do Solo Apl* 87:1–10. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2014.11.004>
- Seemann T (2014) Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. *Bioinformatics* 30:2068–2069. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu153>
- Shakeela S, Padder SA, Bhat ZA (2017) Isolation of phosphate solubilizing rhizobacteria and endorhizobacteria from medicinal plant *Picrorhiza kurroa* and their optimization for tricalcium phosphate solubilization. *Pharma Innov* 6:160–170
- Silva MR, Streck NA, Ferraz SET, Ribas GG, Duarte Júnior AJ, Nascimento MF, Alberto CM, Machado GA (2016) Modelagem numérica para previsão de safra de arroz irrigado no Rio Grande do Sul. *Pesqui Agrop Bras, Brasília* 51:791–800. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2016000700001>
- Silva M, Cruz RDC, Frasca LDM, Filippi MCC, Ferreira AL, Nascente AS (2022) Inoculation and co-inoculation with multifunctional rhizobacteria for the initial development of soybean. *Pesqui Agrop Trop* 52:1–7. <https://doi.org/10.1590/1983-40632022v5273558>
- Sperandio EM, Do Vale HMM, De Souza Reis M, De Carvalho Barros Cortes MV, Lanna AC, De Filippi MCC (2017) Evaluation of rhizobacteria in upland rice in Brazil: growth promotion and interaction of induced defense responses against leaf blast (*Magnaporthe oryzae*). *Acta Physiologiae Plantarum* 39:1–11. <https://doi.org/10.1007/s11738-017-2547-x>
- Su C, Xiang Z, Liu Y, Zhao X, Sun Y, Li Z, Zhao F (2016) Analysis of the genomic sequences and metabolites of *Serratia surfactantifaciens* sp. nov, YD25T that simultaneously produces prodigiosin and serrawettin W2. *BMC Genomics* 17:1–19. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-3171-7>
- Sylvester-Bradley R, Asakawa N, Torraca SL, Magalhães FM, Oliveira LA, Pereira RM (1982) Levantamento quantitativo de microrganismos solubilizadores de fosfatos na rizosfera de gramíneas e leguminosas forrageiras na Amazônia. *Acta Amaz* 12(1):15–22. <https://doi.org/10.1590/1809-43921982121015>
- Tang A, Haruna AO, Majid NMA, Jalloh MB (2020) Potential PGPR properties of cellulolytic, nitrogen-fixing, phosphate-solubilizing bacteria in rehabilitated tropical forest soil. *Microorganisms* 8:442. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8030442>
- Tatusova T, DiCuccio M, Badretdin A, Chetvernin V, Nawrocki EP, Zaslavsky L, Lomsadze A, Pruitt KD, Borodovsky M, Ostell J (2016) NCBI prokaryotic genome annotation pipeline. *Nucleic Acids Res* 44(14):6614–24. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw569>
- Tsyganova AV, Brewin NJ, Tsyganov VE (2021) Structure and development of the legume-rhizobial symbiotic interface in infection threads. *Cells* 10:1050. <https://doi.org/10.3390/cells10051050>
- Vacheron J, Desbrosses G, Bouffaud ML, Touraine B, Moëgne-Loccoz Y, Muller D, Prigent-Combaret C (2013) Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. *Front Plant Sci* 4:356. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00356>
- Vessey JK (2003) Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil* 255:571–586. <https://doi.org/10.1023/A:1026037216893>
- Xie J, Yan Z, Wang G, Xue W, Li C, Chen X, Chen D (2021) A bacterium isolated from soil in a Karst rocky desertification region has efficient phosphate-solubilizing and plant growth-promoting ability. *Front Microbiol* 11:625450. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.625450>
- Zboralski A, Filion M (2020) Genetic factors involved in rhizosphere colonization by phytobeneficial *Pseudomonas* spp. *Comput Struct Biotechnol J* 18:3539–3554. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2020.11.025>
- Zeng Q, Ding X, Wang J, Han X, Iqbal H, Bilal M (2022) Insight into soil nitrogen and phosphorus availability and agricultural sustainability by plant growth-promoting rhizobacteria. *Environ Sci Pollut Res* 29:45089–45106. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-20399-4>

**Publisher's Note** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Springer Nature or its licensor (e.g. a society or other partner) holds exclusive rights to this article under a publishing agreement with the author(s) or other rightsholder(s); author self-archiving of the accepted manuscript version of this article is solely governed by the terms of such publishing agreement and applicable law.

## Capítulo 1

### Levantamento e caracterização genômica de *Serratia marcescens* sobre endofitismo, biofilme e solubilização de fósforo em plantas de arroz

#### Supplementary material

#### Tables

**Table S1.** Summary of genes present in the genome of *Serratia marcescens* strain BRM32114 involved in the availability of phosphorus.

Metabolic processes	Locus_tag	Gene	EC number	COG	Function descriptions
Pyruvate metabolism	BRMSMARC_02526	<i>ppsA</i>	2.7.9.2	574	Phosphoenolpyruvate synthase
	BRMSMARC_02527	<i>ppsR</i>	2.7.11.33	1806	Phosphoenolpyruvate synthase regulatory protein
	BRMSMARC_02870	<i>ppsC</i>	2.3.1.41		Phthiocerol synthesis polyketide synthase type I PpsC
	BRMSMARC_01132	<i>pykA</i>	2.7.1.40	469	Pyruvate kinase II
	BRMSMARC_02512	<i>pykF</i>	2.7.1.40	469	Pyruvate kinase I
	BRMSMARC_02619	<i>pckA_1</i>	4.1.1.49	1866	Phosphoenolpyruvate carboxykinase (ATP)
	BRMSMARC_04650	<i>pckA_2</i>	4.1.1.49	1866	Phosphoenolpyruvate carboxykinase (ATP)
	BRMSMARC_04861	<i>ppc</i>	4.1.1.31	2352	Phosphoenolpyruvate carboxylase
Pentose phosphate pathway	BRMSMARC_01454	<i>gdhA_1</i>	1.4.1.3	334	Glutamate dehydrogenase
	BRMSMARC_03615	<i>gdhI</i>	1.1.1.47	1028	Glucose 1-dehydrogenase 1
	BRMSMARC_04562	<i>gdhA_2</i>	1.4.1.4	334	NADP-specific glutamate dehydrogenase
	BRMSMARC_00804	<i>gcd</i>	1.1.5.2	4993	Quinoprotein glucose dehydrogenase
	BRMSMARC_00410	<i>pgl_1</i>	3.1.1.31		6-phosphogluconolactonase
	BRMSMARC_01890	<i>pgl_2</i>	3.1.1.31	2706	6-phosphogluconolactonase

	BRMSMARC_04445	<i>pgl_3</i>	3.1.1.31	2706	6-phosphogluconolactonase
	BRMSMARC_04319	<i>gntK_1</i>	2.7.1.12	3265	Thermoresistant gluconokinase
	BRMSMARC_04612	<i>gntK_2</i>	2.7.1.12	3265	Thermoresistant gluconokinase
	BRMSMARC_01574	<i>gnd</i>	1.1.1.44	362	6-phosphogluconate dehydrogenase, decarboxylating
	BRMSMARC_03860	<i>rpiA</i>	5.3.1.6	120	Ribose-5-phosphate isomerase A
	BRMSMARC_02715	<i>prs_1</i>	2.7.6.1	462	Ribose-phosphate pyrophosphokinase
	BRMSMARC_04636	<i>prs_2</i>			Putative ribose-phosphate pyrophosphokinase
	BRMSMARC_03450	<i>deoB</i>	5.4.2.7	1015	Phosphopentomutase
Phosphotransferase system	BRMSMARC_00344	<i>ptsI</i>	2.7.3.9	1080	Phosphoenolpyruvate-protein phosphotransferase
	BRMSMARC_00345	<i>ptsH</i>		1925	Phosphocarrier protein HPr
Oxidative phosphorylation	BRMSMARC_00236	<i>ppk</i>	2.7.4.1	855	Polyphosphate kinase
	BRMSMARC_03212	<i>ppa</i>	3.6.1.1	221	Inorganic pyrophosphatase
Phosphonate and phosphinate metabolism	peg.503/peg.2376	<i>ppd</i>	4.1.1.1	3961	Phosphoenolpyruvate carboxylase
	BRMSMARC_02581	<i>phnX</i>	3.11.1.1	637	Phosphonoacetaldehyde hydrolase
	BRMSMARC_03279	<i>phnG</i>	2.7.8.37	3624	Alpha-D-ribose 1-methylphosphonate 5-triphosphate synthase subunit PhnG
	BRMSMARC_03278	<i>phnH</i>	2.7.8.37	3625	Alpha-D-ribose 1-methylphosphonate 5-triphosphate synthase subunit PhnH
	BRMSMARC_03277	<i>phnI</i>	2.7.8.37	3626	Alpha-D-ribose 1-methylphosphonate 5-triphosphate synthase subunit PhnI
	BRMSMARC_03275	<i>phnK</i>		4107	Putative phosphonates utilization ATP-binding protein PhnK
	BRMSMARC_03274	<i>phnL</i>	2.7.8.37	4778	Alpha-D-ribose 1-methylphosphonate 5-triphosphate synthase subunit PhnL
	BRMSMARC_03273	<i>phnM</i>	3.6.1.63	3454	Alpha-D-ribose 1-methylphosphonate 5-triphosphate diphosphatase
	BRMSMARC_03276	<i>phnJ</i>	4.7.1.1	3627	Alpha-D-ribose 1-methylphosphonate 5-phosphate C-P lyase
	BRMSMARC_03270	<i>phnP</i>	3.1.4.55	1235	Phosphoribosyl 1,2-cyclic phosphate phosphodiesterase
	BRMSMARC_03272	<i>phnN</i>	2.7.4.23	3709	Ribose 1,5-bisphosphate phosphokinase PhnN
	BRMSMARC_02582	<i>phnW</i>	2.6.1.37	75	2-aminoethylphosphonate--pyruvate transaminase
	BRMSMARC_01841	<i>phnO</i>	2.3.1.280		Aminoalkylphosphonate N-acetyltransferase
Two-component system	BRMSMARC_04277	<i>phoU</i>		704	Phosphate-specific transport system accessory protein PhoU
	BRMSMARC_02199	<i>phoR</i>	2.7.13.3		Phosphate regulon sensor protein PhoR
	BRMSMARC_02200	<i>phoB</i>		745	Phosphate regulon transcriptional regulatory protein PhoB

	BRMSMARC_02684	<i>phoP</i>			Transcriptional regulatory protein PhoP
Transporters	BRMSMARC_02198	<i>pstS_1</i>		226	Phosphate-binding protein PstS
	BRMSMARC_04281	<i>pstS_2</i>		226	Phosphate-binding protein PstS
	BRMSMARC_04280	<i>pstC</i>		573	Phosphate transport system permease protein PstC
	BRMSMARC_04279	<i>pstA</i>		581	Phosphate transport system permease protein PstA
	BRMSMARC_04278	<i>pstB</i>	7.3.2.1	1117	Phosphate import ATP-binding protein PstB
	BRMSMARC_00239	<i>pstB3</i>	7.3.2.1	1117	Phosphate import ATP-binding protein PstB 3
	BRMSMARC_01369	<i>pitA_1</i>		306	Low-affinity inorganic phosphate transporter 1
	BRMSMARC_04570	<i>pitA_2</i>		306	Low-affinity inorganic phosphate transporter 1
	BRMSMARC_04082	<i>ugpB</i>		1653	sn-glycerol-3-phosphate-binding periplasmic protein UgpB
	BRMSMARC_04081	<i>ugpA</i>		1175	sn-glycerol-3-phosphate transport system permease protein UgpA
	BRMSMARC_01353	<i>ugpC_1</i>	7.6.2.10	3839	sn-glycerol-3-phosphate import ATP-binding protein UgpC
	BRMSMARC_01859	<i>ugpC_2</i>	7.6.2.10	3839	sn-glycerol-3-phosphate import ATP-binding protein UgpC
	BRMSMARC_04079	<i>ugpC_3</i>	7.6.2.10	3839	sn-glycerol-3-phosphate import ATP-binding protein UgpC
	BRMSMARC_02584	<i>phnS</i>		1840	Putative 2-aminoethylphosphonate-binding periplasmic protein
	BRMSMARC_02587	<i>phnV_1</i>		1177	Putative 2-aminoethylphosphonate transport system permease protein PhnV
	BRMSMARC_04327	<i>phnV_2</i>		1177	Putative 2-aminoethylphosphonate transport system permease protein PhnV
	BRMSMARC_02586	<i>phnU</i>		555	Putative 2-aminoethylphosphonate transport system permease protein PhnU
	BRMSMARC_02585	<i>phnT</i>		3842	Putative 2-aminoethylphosphonate import ATP-binding protein PhnT
	BRMSMARC_04110	<i>glpT</i>		2271	Glycerol-3-phosphate transporter
	Organic phosphoester hydrolysis	BRMSMARC_01656	<i>phoA</i>	3.1.3.1	1785
BRMSMARC_04252		<i>phoC_1</i>	3.1.3.2		Major phosphate-irrepressible acid phosphatase
BRMSMARC_04479		<i>phoC_2</i>	3.1.3.2		Major phosphate-irrepressible acid phosphatase
BRMSMARC_02621		<i>phy</i>	3.7.1.4		Phloretin hydrolase
BRMSMARC_01042		<i>appA</i>			Oligopeptide-binding protein AppA
BRMSMARC_04078		<i>ugpQ</i>	3.1.4.46	584	Glycerophosphodiester phosphodiesterase, cytoplasmic
BRMSMARC_04111		<i>glpQ</i>	3.1.4.46	584	Glycerophosphodiester phosphodiesterase, periplasmic
Others	BRMSMARC_02583	<i>phnR_1</i>		2188	Putative transcriptional regulator of 2-aminoethylphosphonate degradation operons

	BRMSMARC_04323	<i>phnR_2</i>		2188	Putative transcriptional regulator of 2-aminoethylphosphonate degradation operons
	BRMSMARC_03280	<i>phnF_1</i>		2188	putative transcriptional regulator PhnF
	BRMSMARC_03711	<i>phnF_2</i>		2188	putative transcriptional regulator PhnF
	BRMSMARC_00989	<i>phoH</i>		1702	Protein PhoH
	BRMSMARC_04939	<i>pqqE</i>	1.21.98.4	535	PqqA peptide cyclase
	BRMSMARC_04940	<i>pqqD</i>			PqqA binding protein
	BRMSMARC_04941	<i>pqqC</i>	1.3.3.11	5424	Pyrroloquinoline-quinone synthase
	BRMSMARC_04942	<i>pqqB</i>		1235	Coenzyme PQQ synthesis protein B
	BRMSMARC_00119	<i>purL</i>	6.3.5.3	46	Phosphoribosylformylglycinamide synthase
	BRMSMARC_00265	<i>purN</i>	2.1.2.2	299	Phosphoribosylglycinamide formyltransferase
	BRMSMARC_00266	<i>purM</i>	6.3.3.1	150	Phosphoribosylformylglycinamide cyclo-ligase
	BRMSMARC_00287	<i>purC</i>	6.3.2.6	152	Phosphoribosylaminoimidazole-succinocarboxamide synthase
	BRMSMARC_00469	<i>purF</i>	2.4.2.14	34	Amidophosphoribosyltransferase
	BRMSMARC_01091	<i>purT</i>	2.1.2.-	27	Formate-dependent phosphoribosylglycinamide formyltransferase
	BRMSMARC_01193	<i>purU</i>	3.5.1.10	788	Formyltetrahydrofolate deformylase
	BRMSMARC_02060	<i>purE</i>	5.4.99.18	41	N5-carboxyaminoimidazole ribonucleotide mutase
	BRMSMARC_02061	<i>purK</i>	6.3.4.18	26	N5-carboxyaminoimidazole ribonucleotide synthase
Purine metabolism	BRMSMARC_02501	<i>purR_1</i>		1609	HTH-type transcriptional repressor PurR
	BRMSMARC_02653	<i>purR_2</i>			HTH-type transcriptional repressor PurR
	BRMSMARC_02678	<i>purB</i>	4.3.2.2	15	Adenylosuccinate lyase
	BRMSMARC_03185	<i>purA</i>	6.3.4.4	104	Adenylosuccinate synthetase
	BRMSMARC_04878	<i>purH</i>		138	Bifunctional purine biosynthesis protein PurH
	BRMSMARC_04879	<i>purD</i>	6.3.4.13	151	Phosphoribosylamine--glycine ligase
	BRMSMARC_00170	<i>guaB</i>	1.1.1.205	516	Inosine-5'-monophosphate dehydrogenase
	BRMSMARC_00171	<i>guaA</i>	6.3.5.2	518	GMP synthase [glutamine-hydrolyzing]
	BRMSMARC_04789	<i>gmk</i>	2.7.4.8	194	Guanylate kinase
	BRMSMARC_02107	<i>ushA</i>		737	Protein UshA
	BRMSMARC_00153	<i>ndk</i>	2.7.4.6	105	Nucleoside diphosphate kinase

	BRMSMARC_04787	<i>spoT</i>		317	Bifunctional (p)ppGpp synthase/hydrolase SpoT
	BRMSMARC_00235	<i>ppx</i>	3.6.1.11	248	Exopolyphosphatase
	BRMSMARC_02115	<i>adk</i>	2.7.4.3	563	Adenylate kinase
	BRMSMARC_01593	<i>pyrE_1</i>	2.4.2.10		Orotate phosphoribosyltransferase
	BRMSMARC_04796	<i>pyrE_2</i>	2.4.2.10	461	Orotate phosphoribosyltransferase
	BRMSMARC_01271	<i>pyrF</i>	4.1.1.23	284	Orotidine 5'-phosphate decarboxylase
	BRMSMARC_02107	<i>ushA</i>		737	Protein UshA
	BRMSMARC_03038	<i>cmk</i>	2.7.4.25		Cytidylate kinase
	BRMSMARC_04013	<i>pyrH</i>	2.7.4.22	528	Uridylate kinase
	BRMSMARC_00153	<i>ndk</i>	2.7.4.6	105	Nucleoside diphosphate kinase
	BRMSMARC_03580	<i>pyrG_1</i>	6.3.4.2	504	CTP synthase
	BRMSMARC_04388	<i>pyrG_2</i>	6.3.4.2		CTP synthase
Pyrimidine metabolism	BRMSMARC_03290	<i>nrdD</i>	1.1.98.6	1328	Anaerobic ribonucleoside-triphosphate reductase
	BRMSMARC_00534	<i>nrdA</i>	1.17.4.1	209	Ribonucleoside-diphosphate reductase 1 subunit alpha
	BRMSMARC_00029	<i>nrdE</i>	1.17.4.1	209	Ribonucleoside-diphosphate reductase subunit alpha
	BRMSMARC_00533	<i>nrdB</i>	1.17.4.1	208	Ribonucleoside-diphosphate reductase 1 subunit beta
	BRMSMARC_00028	<i>nrdF</i>	1.17.4.1	208	Ribonucleoside-diphosphate reductase 2 subunit beta
	BRMSMARC_01608	<i>dcd</i>	3.5.4.13	717	dCTP deaminase
	BRMSMARC_04798	<i>dut</i>	3.6.1.23	756	Deoxyuridine 5'-triphosphate nucleotidohydrolase
	BRMSMARC_03972	<i>thyA</i>	2.1.1.45	207	Thymidylate synthase
	BRMSMARC_00635	<i>tmk_1</i>	2.7.4.9		Thymidylate kinase
	BRMSMARC_00636	<i>tmk_2</i>	2.7.4.9		Thymidylate kinase
	BRMSMARC_00637	<i>tmk_3</i>	2.7.4.9	125	Thymidylate kinase
	BRMSMARC_02846	<i>tmk_4</i>	2.7.4.9	125	Thymidylate kinase

**Table S2.** Identification of genes present in the genome of *Serratia marcescens* strain BRM32114 involved in the plant hormones production.

Metabolic processes	Locus_tag	Gene	EC number	COG	Function descriptions
Secondary Metabolism/ Auxin Biosynthesis	peg.1374	<i>trpD</i>	2.4.2.18	547	Anthranilate phosphoribosyltransferase
	peg.985	DDC	4.1.1.28	76	Aromatic-L-amino-acid decarboxylase ( )
	peg.1373	<i>trpC/trpI</i>	4.1.1.48/5.3.1.24	134/135	Indole-3-glycerol phosphate synthase (EC 4.1.1.48) / Phosphoribosylanthranilate isomerase (EC 5.3.1.24)
	BRMSMARC_01236	<i>trpA</i>	4.2.1.20	159	Tryptophan synthase alpha chain
	BRMSMARC_01237	<i>trpB</i>	4.2.1.20	133	Tryptophan synthase beta chain

**Table S3.** Identification of genes present in the genome of *Serratia marcescens* strain BRM32114 involved Quorum sensing and biofilm formation.

Metabolic processes	Locus_tag	Gene	EC number	COG	Function descriptions
Quorum sensing and biofilm formation	BRMSMARC_00394	<i>pgaA</i>	-		Poly-beta-1,6-N-acetyl-D-glucosamine export protein
	BRMSMARC_00395	<i>pgaB</i>	3.5.1.-	726	Poly-beta-1,6-N-acetyl-D-glucosamine N-deacetylase
	BRMSMARC_00396	<i>pgaC</i>	2.4.1.-	1215	Poly-beta-1,6-N-acetyl-D-glucosamine synthase
	BRMSMARC_00397	<i>pgaD</i>	-		Biofilm PGA synthesis protein PgaD

**Table S4.** Identification of genes present in the genome of *Serratia marcescens* strain BRM32114 involved systems of secretion in plants of rice.

System of Secretion	Locus_tag	Gene	EC number	COG	Product
Type II (T2SS)	BRMSMARC_00575	<i>yeiR</i>	3.6.-.-	523	Zinc-binding GTPase YeiR
	BRMSMARC_02447	<i>coaE_1</i>	2.7.1.24	-	Dephospho-CoA kinase
	BRMSMARC_03560	<i>coaE_2</i>	2.7.1.24	237	
	BRMSMARC_03557	<i>mutT</i>	3.6.1.-	494	Mutator mutT protein (7,8-dihydro-8-oxoguanine-triphosphatase)
Type III (T3SS)	BRMSMARC_00987	<i>efeB</i>	1.11.1.-	2837	Deferrochelataase/peroxidase EfeB
	BRMSMARC_04876	<i>btuB_3</i>	-	4206	Vitamin B12 transporter BtuB
	BRMSMARC_02221	<i>cntO_2</i>	-	1629	Metal-pseudopaline receptor CntO
	BRMSMARC_02350	<i>ywnA_1</i>	-	1959	Putative HTH-type transcriptional regulator YwnA
	BRMSMARC_00242	<i>shlB_1</i>	-	-	Hemolysin transporter protein ShlB

	BRMSMARC_01142	<i>Slp</i>	-	3065	Outer membrane protein Slp
	BRMSMARC_01217	<i>xypA_1</i>	-	1879	Xylitol-binding protein
	BRMSMARC_01292	<i>sapA</i>	-	4166	Peptide transport periplasmic protein SapA
	BRMSMARC_01548	<i>fimH</i>	-	-	Type 1 fimbrin D-mannose specific adhesin
	BRMSMARC_01820	<i>argT_3</i>	-	834	Lysine/arginine/ornithine-binding periplasmic protein
	BRMSMARC_02141	<i>ybaY</i>	-	3126	putative lipoprotein YbaY
	BRMSMARC_02461	-	3.4.21.26	-	Prolyl endopeptidase
	BRMSMARC_02747	<i>xypA_3</i>	-	1879	Xylitol-binding protein
	BRMSMARC_03203	<i>cpdB</i>	3.1.3.6	737	2',3'-cyclic-nucleotide 2'-phosphodiesterase/3'-nucleotidase
	BRMSMARC_03364	<i>cynR_4</i>	-	-	HTH-type transcriptional regulator CynR
	BRMSMARC_00270	<i>Rny</i>	3.1.-.-	-	Ribonuclease Y
	BRMSMARC_00792	<i>lpfA_1</i>	-	-	putative major fimbrial subunit LpfA
	BRMSMARC_01261	<i>rbsB_2</i>	-	1879	Ribose import binding protein RbsB
	BRMSMARC_01309	<i>mppA</i>	-	4166	Periplasmic murein peptide-binding protein
Type IV (T4SS)	BRMSMARC_01356	<i>yesO</i>	-	1653	Putative ABC transporter substrate-binding protein YesO
	BRMSMARC_01930	<i>tolB_1</i>	-	823	Tol-Pal system protein TolB
	BRMSMARC_02014	<i>rlpA</i>	4.2.2.-	797	Endolytic peptidoglycan transglycosylase RlpA
	BRMSMARC_04040	<i>nlpE</i>	-	3015	Lipoprotein NlpE
	BRMSMARC_04163	<i>bcsZ</i>	3.2.1.4	3405	Endoglucanase
	BRMSMARC_01042	<i>appA</i>	-	-	Oligopeptide-binding protein AppA

## CAPÍTULO 2

### **Combinação de rizobactérias e silício aumenta a tolerância ao estresse hídrico induzido por polietilenoglicol (PEG) em plantas de arroz fertilizadas com fósforo não-lábil cultivadas *in vitro***

Capítulo elaborado conforme as normas do periódico científico: *Planta*

**Rodrigo Silva de Oliveira**<sup>1</sup>, Akintunde Abiodun<sup>1</sup> Ajulo, Anna Cristina Lanna<sup>3</sup>, Marta Cristina Corsi de Filippi<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Doutorando, Universidade Federal de Goiás, Goiânia - GO, Brasil.

<sup>3</sup>Doutora em Fisiologia Vegetal, pesquisadora da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO

<sup>4</sup>Doutora em Plant Pathology and Microbiology- Texas A & M University, pesquisadora da Embrapa da Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO.

## RESUMO

### **Combinação de rizobactérias e silício aumenta a tolerância ao estresse de seca induzido polietilenoglicol (PEG) em plantas de arroz fertilizadas com fósforo não-lábil cultivadas *in vitro***

Este estudo objetivou avaliar o efeito do consórcio de rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (PGPR), *Serratia marcescens* e *Bacillus toyonensis*, combinado com silício (Si) sobre a saúde de plantas de arroz de terras altas submetidas à deficiência hídrica e nutricional. O experimento foi dividido em três ensaios independentes (E1, E2 e E3), sendo cada ensaio foi constituído por quatro tratamentos e quatro repetições em delineamento inteiramente casualizado. O ensaio 1 (E1), ensaio (E2) e ensaio 3 (E3) diferiram na pressão osmótica imposta ao meio de cultivo: 0 MPa (0,0 g L<sup>-1</sup> PEG-6000), - 2 MPa (121,1 g L<sup>-1</sup> PEG-6000) e - 4 MPa (180,2 g L<sup>-1</sup> PEG-6000), respectivamente. Enquanto os outros componentes seguiram o seguinte desenho: T1 - ausência de ácido monossilícico (H<sub>4</sub>SiO<sub>4</sub>), fósforo não-lábil (CaHPO<sub>4</sub>) e sementes de arroz sem inoculação com *S. marcescens* e *B. toyonensis*; T2 - ausência de H<sub>4</sub>SiO<sub>4</sub>, CaHPO<sub>4</sub> e sementes de arroz microbiolizadas com *S. marcescens* e *B. toyonensis*; T3 - presença de H<sub>4</sub>SiO<sub>4</sub>, CaHPO<sub>4</sub>, e sementes de arroz sem inoculação com *S. marcescens* e *B. toyonensis* e T4 - presença de H<sub>4</sub>SiO<sub>4</sub>, CaHPO<sub>4</sub> e sementes de arroz microbiolizadas com *S. marcescens* e *B. toyonensis*. Imagens de raízes de plantas de arroz de terras altas foram fotografadas e analisadas no software WinRhizo. E, segmentos de raiz, colmo e folhas de plantas de arroz de terras altas, incubados em meio de cultura NBRIP, foram avaliadas quanto à formação de halo e documentados por microscopia eletrônica de varredura (MEV) para verificação da formação de produtos microbianos. Plantas de arroz de terras altas inoculadas com *S. marcescens* e *B. toyonensis*, na presença de H<sub>4</sub>SiO<sub>4</sub> e CaHPO<sub>4</sub> apresentaram aumento na(o): área de 27,5% (0Mpa), 20% (-2 Mpa) e 18,5% (-4 Mpa).; volume 150% (0 Mpa), 58% (-2 Mpa) e 55% (-4 Mpa); comprimento total 67,5% (0 Mpa), 116,5% (-2 Mpa); raízes grossas 158,5% (-2 Mpa), 25,5% (-4 Mpa); raízes muitas finas 18,5% (-2 Mpa) e 30% (-4 Mpa). Halos foram formados ao redor de segmentos de folhas, bainha e raiz de plantas microbiolizadas na presença e ausência de H<sub>4</sub>SiO<sub>4</sub> e CaHPO<sub>4</sub>, confirmando a solubilização de fósforo não lábil. Imagens da MEV mostraram: presença de biofilmes e microcolônias em todos os tratamentos; glicocálice em todas as pressões osmóticas, exceto (0 -Mpa); estruturas silicificadas em todas as pressões osmóticas com H<sub>4</sub>SiO<sub>4</sub> e CaHPO<sub>4</sub>. A combinação de *S. marcescens* e *B. toyonensis*, associada ao silício (H<sub>4</sub>SiO<sub>4</sub>) e fósforo não-lábil (CaHPO<sub>4</sub>), melhorou o desenvolvimento radicular do arroz de terras altas sob estresse hídrico e nutricional. Houve aumento na área, volume e comprimento das raízes, além da solubilização de fósforo confirmada pela formação de halos. A microscopia evidenciou biofilmes, microcolônias e estruturas silicificadas, destacando a interação benéfica entre microrganismos, silício e planta. Assim, essa combinação se mostra promissora para aumentar a resiliência do arroz em condições adversas.

**Palavras-chave:** *Oryza sativa*, bioagentes, endofitismo, potencial osmótico, fósforo insolúvel

## ABSTRACT

### **Combination of rhizobacteria and silicon increases drought stress tolerance induced by polyethyleneglycol (PEG) in rice plants fertilized with non-labile phosphorus grown in vitro**

This study aimed to evaluate the effect of the consortium of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR), *Serratia marcescens* and *Bacillus toyonensis*, combined with silicon (Si) on the health of upland rice plants subjected to water and nutrient (phosphorus) deficiency. The experimental assay was divided into three groups, each consisting of four treatments and four replicates in a completely randomized design. Group 1 (E1), Group 2 (E2), and Group 3 (E3) differed in the osmotic pressure imposed on the culture medium: 0 MPa (0.0 g L<sup>-1</sup> PEG-6000), -2 MPa (121.1 g L<sup>-1</sup> PEG-6000), and -4 MPa (180.2 g L<sup>-1</sup> PEG-6000), respectively. The other components followed the following design: T1 - Absence of monosilicic acid (H<sub>4</sub>SiO<sub>4</sub>), non-labile phosphorus (CaHPO<sub>4</sub>), and rice seeds without inoculation with *S. marcescens* and *B. toyonensis*; T2 - Absence of H<sub>4</sub>SiO<sub>4</sub>, CaHPO<sub>4</sub>, and rice seeds microbiolized with *S. marcescens* and *B. toyonensis*; T3 - Presence of H<sub>4</sub>SiO<sub>4</sub>, CaHPO<sub>4</sub>, and rice seeds without inoculation with *S. marcescens* and *B. toyonensis*; T4 - Presence of H<sub>4</sub>SiO<sub>4</sub>, CaHPO<sub>4</sub>, and rice seeds microbiolized with *S. marcescens* and *B. toyonensis*. Images of upland rice plant roots were photographed and analyzed using the WinRhizo software. Additionally, root, stem, and leaf segments of upland rice plants incubated in NBRIP culture medium were evaluated for halo formation and documented through scanning electron microscopy (SEM) to verify microbial product formation. Upland rice plants inoculated with *S. marcescens* and *B. toyonensis* in the presence of H<sub>4</sub>SiO<sub>4</sub> and CaHPO<sub>4</sub> showed an increase in: Root area: 27.5% (0 MPa), 20% (-2 MPa), and 18.5% (-4 MPa); Root volume: 150% (0 MPa), 58% (-2 MPa), and 55% (-4 MPa); Total root length: 67.5% (0 MPa), 116.5% (-2 MPa); Thick roots: 158.5% (-2 MPa), 25.5% (-4 MPa); Very fine roots: 18.5% (-2 MPa) and 30% (-4 MPa). Halos were formed around segments of leaves, sheaths, and roots of microbiolized plants in the presence and absence of H<sub>4</sub>SiO<sub>4</sub> and CaHPO<sub>4</sub>, confirming the solubilization of non-labile phosphorus. SEM images revealed the presence of: Biofilms and microcolonies in all treatments; Glycocalyx at all osmotic pressures, except 0 MPa; Silicified structures at all osmotic pressures with H<sub>4</sub>SiO<sub>4</sub> and CaHPO<sub>4</sub>. The combination of *S. marcescens* and *B. toyonensis*, associated with silicon (H<sub>4</sub>SiO<sub>4</sub>) and non-labile phosphorus (CaHPO<sub>4</sub>), improved the root development of upland rice under water and nutrient stress. There was an increase in root area, volume, and length, along with phosphorus solubilization confirmed by halo formation. Microscopy revealed biofilms, microcolonies, and silicified structures, highlighting the beneficial interaction between microorganisms, silicon, and the plant. Thus, this combination shows promise for increasing rice resilience under adverse conditions.

**Keywords:** *Oryza sativa*, bioagents, endophytism, osmotic potential, insoluble phosphorus

## 1 INTRODUÇÃO

As mudanças climáticas estão impactando gravemente a produtividade das culturas alimentares em escala global, com projeções indicando aumento da temperatura, alteração dos padrões de precipitação e maior frequência de eventos extremos (Eckstein, 2019; Khan et al. 2017), o que certamente contribuirá para o agravamento da insegurança alimentar (Romero-Munar et al. 2023).

O arroz (*Oryza sativa* L.) é um dos cereais mais importantes da cadeia alimentar humana e o maior consumidor de água doce do setor agrícola, quando se trata do arroz cultivado sob inundação. No Brasil, o cultivo do arroz é feito basicamente em dois agroecossistemas, irrigado e terras altas, sendo que o arroz cultivado em terras altas representa um sistema mais sustentável, uma vez que utiliza a água da chuva e emite menos gases de efeito estufa (Araújo et al. 2016). O rendimento de grãos do arroz de terras altas é afetado por fatores bióticos e abióticos, e ambos os estresses desencadeiam alterações fisiológicas e bioquímicas nas plantas (Osakabe et al. 2014).

O déficit hídrico é um dos estresses abióticos que afeta negativamente o crescimento e a produtividade das culturas agrícolas cultivadas (Bodner et al. 2015), provocando alterações fisiológicas, morfológicas, bioquímicas e moleculares nas plantas, uma vez que diminui a difusão e o fluxo de massa de nutrientes solúveis em água como nitrato, sulfato, Ca, Mg e Si (Jaleel et al. 2009) e induz a formação de radicais livres em excesso, como radicais ânion superóxido, hidroxila, alcóxila; além de peróxido de hidrogênio, resultando em estresse oxidativo (Selvakumar et al. 2012). Ocorrências de deficiência hídrica em fases cruciais do crescimento das plantas podem resultar em uma diminuição significativa na produtividade e, em alguns casos, até na perda total da colheita (Bouremani et al. 2024). Prevê-se que o estresse causado pela seca, agravado pelas mudanças climáticas, que intensificam sua frequência e gravidade à medida que os anos decorrem, trará sérios problemas de crescimento das plantas em mais de 50% das terras aráveis até 2050 no mundo (Vinocur & Altman, 2005).

Outro estresse abiótico é a disponibilidade de fósforo (P), que se destaca como um dos principais limitadores da produtividade do arroz em terras altas. Em solos do bioma Cerrado, apenas 5-25% do P aplicado é efetivamente absorvido pelas plantas, enquanto 75-95% é quimicamente fixado no solo, tornando-se insolúvel e indisponível para as culturas (Batoool e Iqbal, 2019; Prado et al. 2020). O fósforo é encontrado no solo em formas minerais e orgânicas. A maior parte do P orgânico (20 a 80%) é considerada inerte (Abdi et al. 2014).

O P mineral nos solos pode se tornar indisponível por meio de fixação ou adsorção. Por exemplo, o P mineral pode ficar indisponível devido a reações de precipitação com cátions como  $\text{Ca}^{+2}$  e  $\text{Mg}^{+2}$  em solos alcalinos ou  $\text{Fe}^{+3}$  e  $\text{Al}^{+3}$  em solos ácidos (Yadav et al. 2017).

Nesse sentido, o uso de microrganismos benéficos, como as PGPRs (rizobactérias promotoras do crescimento vegetal), é considerado prática sustentável na agricultura, por melhorarem a tolerância das plantas a estresses abióticos como a seca, devido ao aumento da robustez do sistema radicular, à eficiência do uso da água e à absorção de nutrientes; promover a saúde do solo ao facilitar as interações entre as raízes das plantas e os microrganismos presentes no solo, contribuindo significativamente para o crescimento e a produtividade vegetal (Kloepper et al. 1989; Lugtenberg et al. 2002). Além disso, rizobactérias benéficas têm a capacidade de aumentar a disponibilidade de P para as plantas por meio da mineralização orgânica de P por meio de enzimas como as fosfatases, e da dissolução de fosfatos minerais insolúveis por meio de ácidos orgânicos que acidificam o solo (Etesami, 2020; Sharma et al. 2013).

A aplicação de silício (Si) em campos de produção de alimentos é outra alternativa promissora e sustentável, uma vez que o Si é um elemento benéfico não apenas para o crescimento e desenvolvimento das plantas, mas também para a resistência das plantas contra vários estresses bióticos e abióticos (Etesami & Jeong, 2018; Chen et al. 2019). O Si, na solução do solo, encontra-se disponível para as plantas na forma de ácido monossilícico ( $\text{H}_4\text{SiO}_4$ ), sendo um elemento móvel e absorvido pelas plantas por fluxo de massa (Zhu & Gong, 2014; Meharg, 2015).

A cultura do arroz é caracterizada como acumuladora de silício e responsiva a adubação silicatada (Shi et al. 2013). O transporte de silício (Si) é um processo complexo, marcado pela seletividade no transporte e pelo acúmulo em tecidos específicos, o que resulta em diferentes padrões de aquisição entre espécies e genótipos. Em arroz, os genes *Lsi1* e *Lsi2*, que codificam transportadores de Si, desempenham um papel crucial na alta capacidade de absorção de Si pelas raízes laterais a partir da solução do solo. O silício é captado pelas raízes na forma de ácido monossilícico ( $\text{H}_4\text{SiO}_4$ ) e transportado para a parte aérea por meio do fluxo transpiratório (Ma e Yamaji, 2006). O acúmulo de silício nas plantas auxilia na formação de plantas mais eretas diminuindo o acamamento, melhora a eficiência fotossintética, resultando em maior produtividade da cultura (Prado et al. 2020).

Diante do exposto, o presente trabalho buscou investigar o efeito da combinação de rizobactérias promotoras do crescimento vegetal (PGPRs) e silício na tolerância ao estresse

hídrico induzido por PEG em plantas de arroz fertilizadas com fósforo não lábil, cultivadas *in vitro*, visando compreender os mecanismos envolvidos na mitigação do estresse e na melhoria da absorção de nutrientes.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 MICRORGANISMOS

Duas rizobactérias foram usadas para condução dos ensaios, sendo *Serratia marcescens* (BRM32114) (NCBI: KX378747) e *Bacillus toyonensis* (BRM 32110) (NCBI: KX378746) selecionadas de acordo com a taxa de crescimento e o número de células viáveis em condições de alta pressão osmótica, e solubilização de fosforo (Faria et al. 2023; Faria, 2021). As rizobactérias são de origem endofíticas de plantas de arroz e pertencente à Coleção Multifuncional de Microrganismos da Embrapa Arroz e Feijão. Os isolados foram multiplicados em placas de Petri contendo meio de cultura Agar Nutriente (AN) e incubado por 48 h a 28 °C.

### 2.2 MICROBIOLIZAÇÃO DE SEMENTES

Sementes de arroz, cultivar BRS-Esmeralda foram previamente desinfetadas em hipoclorito de sódio 7,5 % (v/v) por 7 min, álcool a 70% (v/v) durante 5 min, e 3 lavagens em água destilada (1 min cada). Ao final, as sementes foram espalhas sob papel filtro, dentro da câmara de fluxo laminar para secagem.

Os isolados BRM 32114 e BRM 32110 foram cultivados separadamente em caldo nutriente (CN) (8 g L<sup>-1</sup>) a 28 °C por 24 h sob agitação constante a 150 rpm. Em espectrofotômetro ajustado para 540 nm de densidade óptica, a absorbância das suspensões bacterianas de cada um dos isolados foi ajustada (0,5 ABS), de modo que, a concentração atingisse 1x10<sup>8</sup> UFC mL<sup>-1</sup>. Em seguidas, foram misturados em volume iguais, e adicionado as sementes onde permaneceram sob agitação a 150 rpm por um período adicional de 24 horas, a 29 °C. As sementes dos tratamentos não microbiolizados, foram imersas em CN e mantidas nas mesmas condições de agitação e temperatura. Ao final do processo, foram espalhadas em papel filtro, dentro da câmara de fluxo laminar para secagem (Filippi et al. 2011).

### 2.3 CULTIVO *IN VITRO*, ENRIQUECIDO COM ÁCIDO MONOSSILÍCICO E FÓSFORO NÃO-LÁBIL, DE PLÂNTULAS DE ARROZ DE TERRAS ALTAS INOCULADAS COM RIZOBACTÉRIAS E SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA INDUZIDA POR PEG-6000

Foram realizados três ensaios independentes em delineamento inteiramente casualizados (DIC) para avaliar o sistema radicular de plântulas de arroz submetidas à

deficiência hídrica utilizando polietilenoglicol (PEG-6000) com a presença e ausência de rizobactérias e silício. A condição de deficiência hídrica no meio de cultura foi induzida pela presença de PEG-6000, nas concentrações de 121,1 g/L (- 2 MPa) e 180,2 g/L (- 4 MPa), sendo o tratamento controle com ausência de PEG-6000 (0 MPa). Em cada ensaio, utilizando DIC, com quatro tratamentos e quatro repetições, sementes da cultivar de arroz BRS Esmeralda, microbiolizadas (+BAC) com o consórcio *S. marcescens* (BRM 32114) e *B. toyonensis* (BRM 32110), e não microbiolizadas (-BAC) foram semeadas em tubos de ensaio contendo meio de cultura NBRIP com adaptações (De Oliveira et al. 2025): (KCL: 0,4 g, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: 3 g, ágar: 5 g, água destilada: 1 L); suplementado com (+P) e sem (-P) fonte de fósforo não-lábil (100 mL de solução de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> a 10% e 50 mL de solução de CaCl<sub>2</sub> a 10% e pH 7,0), com (+SI) e sem (-SI) silício (ácido monossilícico 0,5 g L<sup>-1</sup>). Os tratamentos de cada ensaio consistiram em: Ensaio 1 (0 MPa): T1 (0 PEG -P -SI -BAC), T2 (0 PEG -P -SI +BAC); T3 (0 PEG +P +SI -BAC); T4 (0 PEG +P +SI +BAC). Ensaio 2 (- 2 MPa): T1 (- 2 PEG -P -SI -BAC); T2 (-2 PEG -P -SI +BAC); T3 (-2 PEG +P +SI -BAC); T4 (-2 PEG +P +SI +BAC). Ensaio 3 (- 4 MPa): T1 (-4 PEG -P -SI -BAC); T2 (-4 PEG -P -SI +BAC); T3 (-4 PEG +P +SI -BAC); T4 (-4 PEG +P +SI +BAC). Os tubos foram mantidos em câmara de crescimento com fotoperíodo de 12 h e temperatura de 28 °C.

Aos 20 dias após o plantio, as raízes foram retiradas do tubo, higienizadas para retirar o excesso do meio de cultura e em seguida escaneadas, utilizando-se um scanner CI - 600 Cano Scan (CID Bio-Ciência, Versão 3.1.19). As imagens foram analisadas com o auxílio do programa WinRhizo Pro 2012b, estimando-se os valores de área superficial (AS) e volume de raiz (VR) total, das raízes grossas ( $\varnothing > 2.0$  mm), raízes finas ( $> 0,5 \varnothing < 2.0$  mm) e raízes muito finas ( $\varnothing$  inferior a 0,5 mm), conforme Bhom (1979).

#### 2.4 EFICIÊNCIA DOS ISOLADOS BRM 32114 E BRM 32210 EM SOLUBILIZAR FÓSFORO NÃ-LÁBIL E EM COLONIZAR ENDOFITICAMENTE AS PLÂNTULAS DE ARROZ EM MEIO DE CULTURA

As plântulas de arroz, cultivadas em meio de cultura, foram segmentadas em cortes de raiz, bainha e folha (tamanho aproximadamente 2.5 cm) e esterilizadas em solução de hipoclorito de sódio 7.5 % (v/v) por 7 min, álcool a 70% (v/v) durante 5 min, e 3 lavagens em água destilada estéril (por 1 min cada). Os cortes foram transferidos para placas de Petri de 60 mm, contendo meio de cultivo NBRIP (National Botanical Research Institute) (glicose: 10g, MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O: 5g, MgSO<sub>4</sub>: 0.25g, KCl: 0.2g, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: 0.1g, ágar: 15g, água

destilada: 1L; pH 7.0) contendo fosfato insolúvel (fosfato bicálcico:  $\text{CaHPO}_4$ ), o qual foi autoclavado separadamente em 100 mL de solução de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  a 10% (2.5 g) e 50 mL de solução de  $\text{CaCl}_2$  a 10% (1.25 g) de acordo com Sylvester-Bradley et al. (1982). As placas, em triplicatas, foram incubadas a 28 °C por 48 h.

Após o período de incubação, a formação de um halo claro, no meio de cultura, ao redor do segmento de plântula de arroz de terras altas, indicou a presença de células bacterianas solubilizadoras de fosfato. As células bacterianas foram isoladas em meio ágar nutriente (NA).

#### **2.4.1 Microscopia Eletrônica De Varredura – MEV**

Fragmentos de raiz, bainha e folha das plântulas de arroz de terras altas utilizadas para verificação da colonização endofítica no item 2.2, foram fixados em glutaraldeído 2.5%, em solução tamponada com fosfato por 24 h a 23 °C, na ausência de luz. Em seguida, as amostras foram lavadas três vezes em tampão fosfato 0.1 M por 10 min e desidratadas através de uma série ascendente de concentração de etanol (álcool etílico a 30, 40, 50, 60 e 70 %) e mantidas em 70% até o dia da visualização no MEV. Posteriormente, as amostras foram conduzidas a etapas finais de secagem, em ponto crítico de  $\text{CO}_2$  (dispositivo Autosamdri®, 815, Série A), e transferidas para stubs, onde foram submetidas à metalização com o dispositivo Denton Vacuum sputter, VA Dec. Os stubs metalizados foram visualizados com o SEM - Aparelho JEOL, JSM-6610, equipado com EDS, Thermo Scientific NSS Spectral Imaging, para obter as imagens.

### **3 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

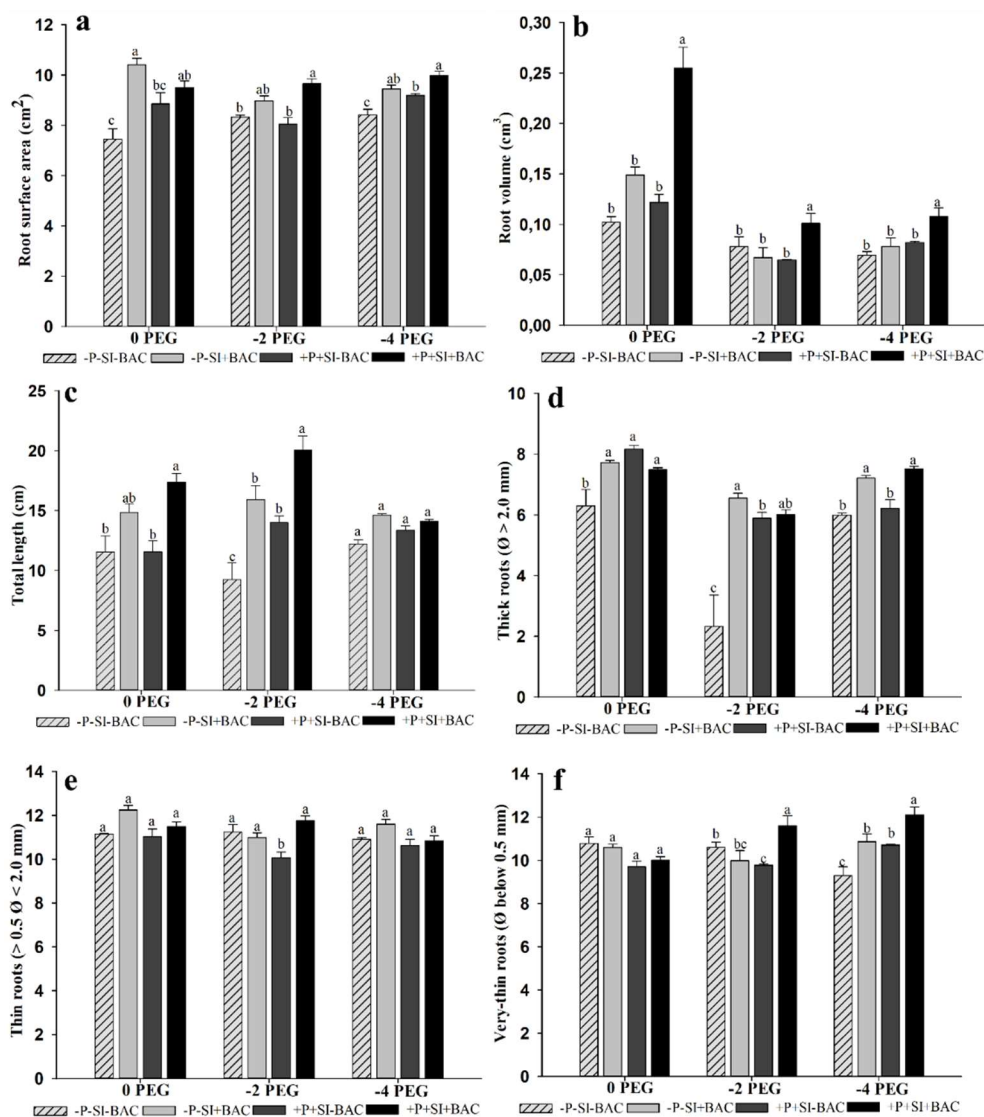
O programa SISVAR foi utilizado para realizar as análises estatísticas. Os dados de área superficial, volume e comprimento de raiz foram submetidos a uma análise de variância e, quando o teste  $F$  se mostrou significativo, as médias foram comparadas pelo Scott-Knott ( $p < 0.05$ ). Os gráficos foram realizados utilizando software Sigma Plot 12.0.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 CULTIVO *IN VITRO*, ENRIQUECIDO COM ÁCIDO MONOSSILÍCICO E FÓSFORO NÃO-LÁBIL, DE PLÂNTULAS DE ARROZ DE TERRAS ALTAS INOCULADAS COM RIZOBACTÉRIAS E SUBMETIDAS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA INDUZIDA POR PEG-6000

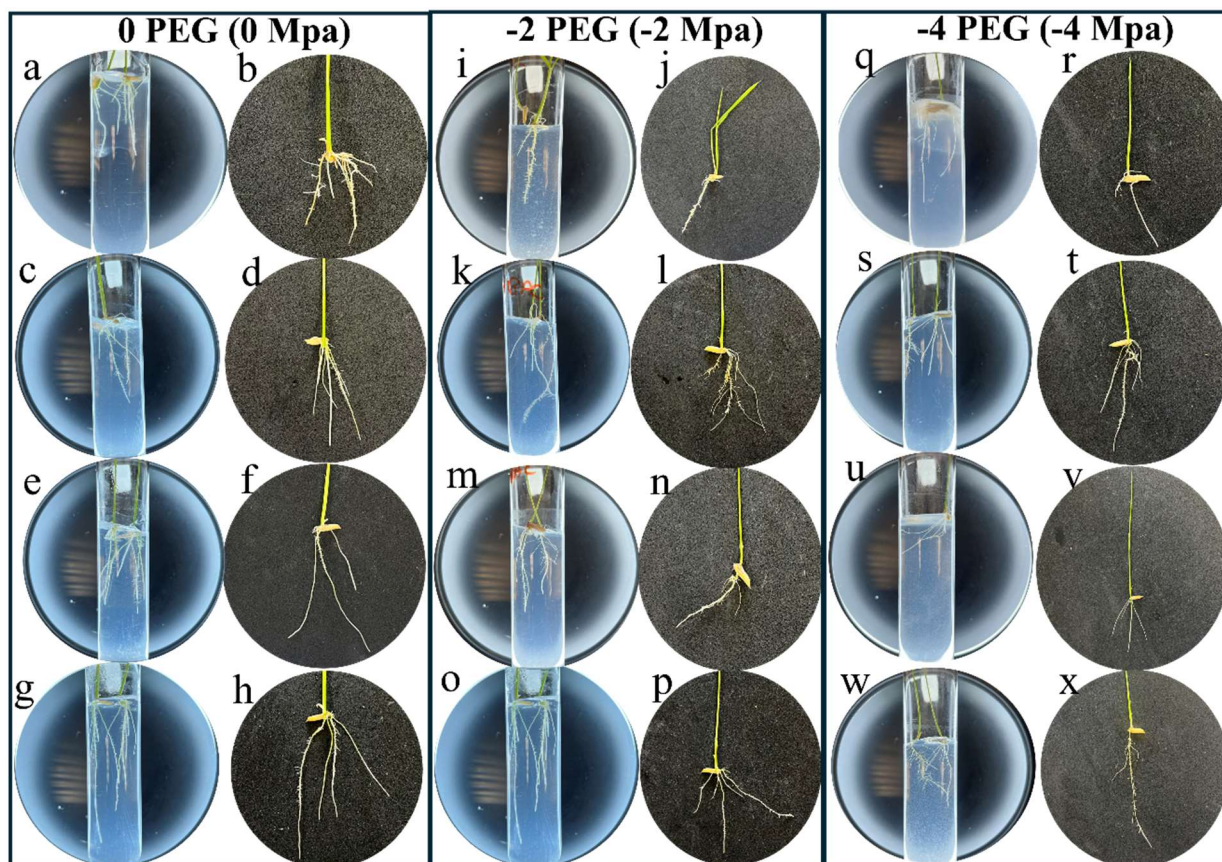
A cultivar de arroz de terras altas, BRS Esmeralda, cultivadas *in vitro* (Figura 2), apresentou mudanças significativas ( $p < 0.05$ ) na arquitetura do sistema radicular em função de presença das rizobactérias *S. marcescens* (BRM 32114) e *B. toyonensis* (BRM 32110), ácido monossilícico (H<sub>4</sub>SiO<sub>4</sub>), fósforo não-lábil (CaHPO<sub>4</sub>), sob diferentes pressão osmótica (PEG-6000) (Figura 1).

Constatou-se os seguintes resultados para cada variável:



**Figura 1.** Tamanho e área da raiz de plantas da cultivar BRS-Esmeralda, tratadas (+Bac) e não tratadas (-Bac) com a combinação das rizobactérias *S. marcescens* (BRM32114) e

*Bacillus toyonensis* (32110), aos 20 DAS após o cultivo em meio de cultura com (+P) e sem (-P) fósforo não lábil *in vitro*, na presença (+SI) e ausência (-SI) de ácido monossilícico, em condições de deficiência hídrica induzida por diferentes dosagens de polietilenoglicol (PEG-6000). Ensaio 0 Mpa (0 PEG): T1 controle (0 PEG -P -SI -BAC), T2 (0 PEG -P -SI +BAC); T3 (0 PEG +P +SI -BAC); T4 (0 PEG +P +SI +BAC). Ensaio -2 Mpa (-2 PEG): T1 controle (-2 PEG -P -SI -BAC); T2 (-2 PEG -P -SI +BAC); T3 (-2 PEG +P +SI -BAC); T4 (-2 PEG +P +SI +BAC). Ensaio -4 Mpa (-4 PEG): T1 controle (-4 PEG -P -SI -BAC); T2 (-4 PEG -P -SI +BAC); T3 (-4 PEG +P +SI -BAC); T4 (-4 PEG +P +SI +BAC). **a** = área superficial da raiz; **b** = volume da raiz; **c** = comprimento total; **d** = raízes grossas; **e** = raízes finas; **f** = raízes muito finas. As médias seguidas por diferentes letras minúsculas, dentro de cada dose de PEG, são significativamente diferentes em  $P = 0,05$  de acordo com o teste Scott-Knott usando o software SISVAR.



**Figura 2.** Desenvolvimento do sistema radicular de plântulas de arroz cultivado *in vitro*, com deficiência hídrica induzida por diferentes níveis de pressão osmótica, simulada por polietilenoglicol (PEG-6000), em meio de cultura suplementado com fósforo não-lábil e rizobactérias. **a, b, i, j, q e r** = sem fósforo não-lábil (-P), sem ácido monossilícico (-SI) e não microbiolizado (-BAC), tratamentos T1 das respectivas pressões osmótica. **c, d, k, l, s, e t** = sem fósforo não-lábil (-P), sem ácido monossilícico (-SI), e microbiolizado (+BAC), tratamentos T2 das respectivas pressões osmótica. **e, f, m, n, u e v** = com fósforo não-lábil (+P), com ácido monossilícico (+SI), não microbiolizado (-BAC), tratamentos T3 das respectivas pressões osmótica. **g, h, o, p, w e x** = com fósforo não-lábil (+P), com ácido monossilícico (+SI) e microbiolizado (+BAC), tratamentos T4 das respectivas pressões osmótica.

*Área superficial:* os tratamentos T2 e T4, apresentaram ganho significativos em relação ao controle em todos os ensaios. Aumentou em 39,5 e 27,5% no ensaio sem pressão

osmótica (0 Mpa), 11,5 e 20% com pressão osmótica -2 Mpa, 12 e 18,5% pressão osmótica -4 Mpa.

*Volume de raiz:* as plantas microbiolizadas com *S. marcescens* + *Bacillus toyonienses* e cultivadas com fósforo não-lábil e ácido monossilícico (T4), apresentaram maior volume de raiz em comparação aos demais tratamentos nos diferentes ensaios com pressão osmótica. Quando comparado com o controle, aumentou em 150% (0 Mpa), 58% (-2 Mpa) e 55% (-4 Mpa).

*Comprimento total:* as plantas microbiolizadas e cultivadas com fósforo não-lábil e ácido monossilícico (T4), apresentaram maior comprimento total na pressão osmótica 0 Mpa e -2 Mpa, aumento de 67,5 e 116,5%, respectivamente, em relação ao controle. No ensaio com pressão osmótica -4 Mpa, os resultados foram semelhantes entre os tratamentos.

*Raízes grossas:* os tratamentos T2, T3 e T4 foram semelhantes entre-si e superiores ao controle (0 Mpa). Sob os níveis de pressão osmótica -2 Mpa e -4 Mpa, T2 e T4 apresentaram aumento nas raízes grossas, incremento de 182 e 158,5%, 20,5% e 25,5%, respectivamente.

*Raízes finas:* os tratamentos foram semelhantes para as raízes finas em todos os níveis de pressão osmótica, exceto em sob o nível -2 Mpa T1, T2 e T4 foram superiores ao T3.

*Raízes muitas finas:* os tratamentos foram semelhantes para o número das raízes muito finas, sob pressão osmótica (-0 Mpa). Sob a pressão -2 Mpa e -4 Mpa, as plantas microbiolizadas e cultivadas com fósforo não-lábil e ácido monossilícico (T4), apresentaram aumento de raízes muito finas, incremento de 18,5 e 30%, respectivamente, em relação ao controle.

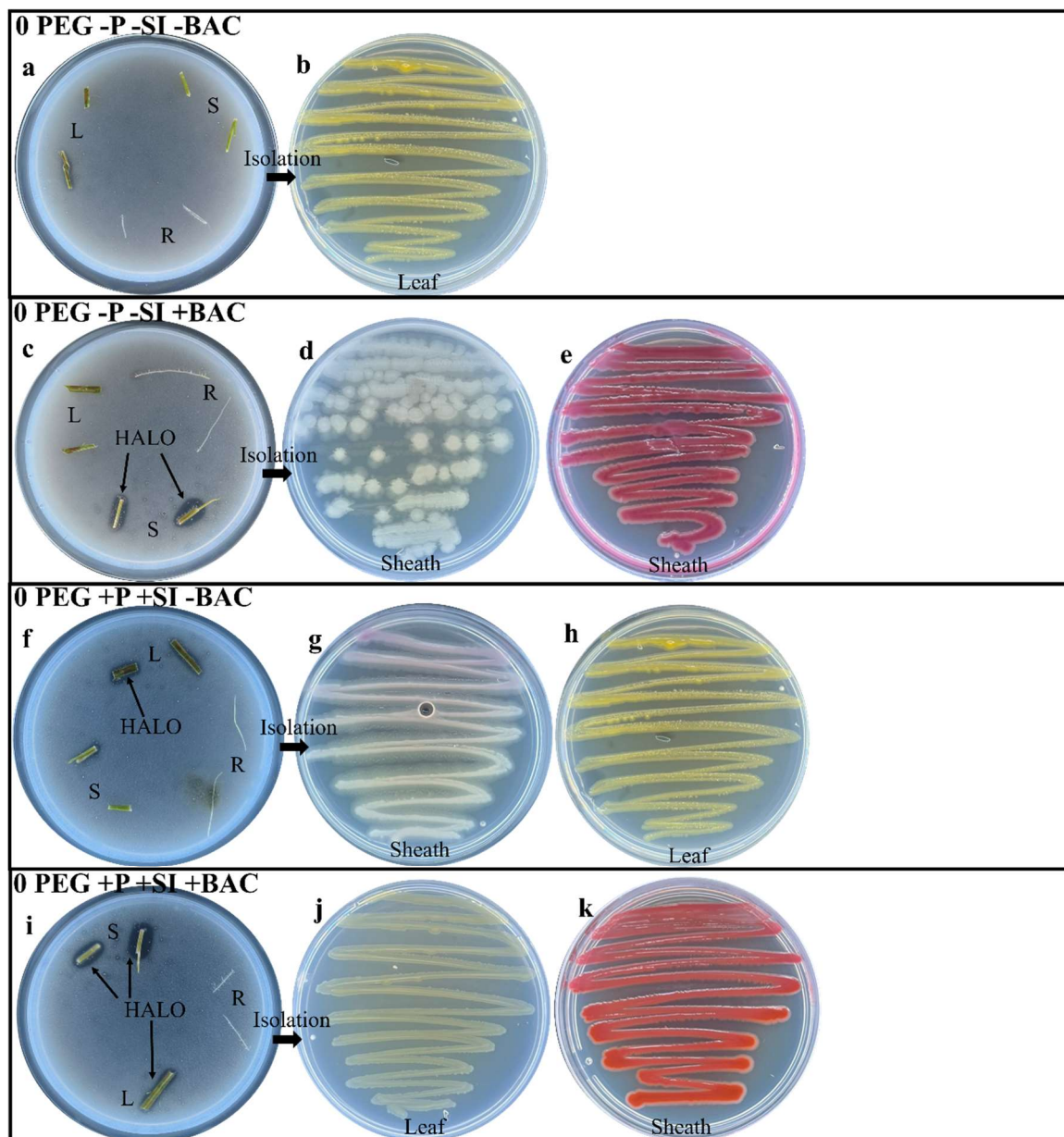
## 4.2 COLONIZAÇÃO ENDOFÍTICA DE *Oryza sativa* por *S. marcescens* (BRM 32114) E *B. toyonensis* (BRM 32110)

### 4.2.1 Ensaio 0 Mpa (0 PEG)

No ensaio sem adição de PEG-6000, as plantas microbiolizadas e não microbiolizadas, cultivadas na presença e ausência de P não-lábil e silício. foi observado a presença de colônias bacterianas endofíticas tanto em cortes de folhas das plântulas microbiolizadas como não microbiolizadas, sob a ausência de pressão osmótica. Não foram detectadas colônias de bactérias endofíticas nos segmentos das raízes das plântulas. No tratamento controle (T1) foi observada o crescimento de um endofítico no segmento de folha, mas não apresentou potencial de solubilização de fósforo (PS) (Figura 3, a).

Nos segmentos de bainha e folha das plantas tratadas *S. marcescens* (BRM 32114) e *B. toyonensis* (BRM 32110) (T2 e T4), depositadas em meio de cultivo indicador de PS, apresentaram a formação de halo (zona clara) (Figura 3, f e i). Em T2, houve o crescimento de endofíticos apenas nos segmentos de bainha. Já em T4, os endofíticos cresceram nos segmentos de bainha e folha. Em ambos os tratamentos que receberam microbiolização, e após o isolamento, apresentaram aspectos de coloração e morfologia semelhantes a *S. marcescens* (Figura 3, e and k) e *B. toyonensis* (Figura 3, d) utilizados no ensaio, indicando a provável presença desta bactéria no interior dos segmentos depositados no meio de cultura.

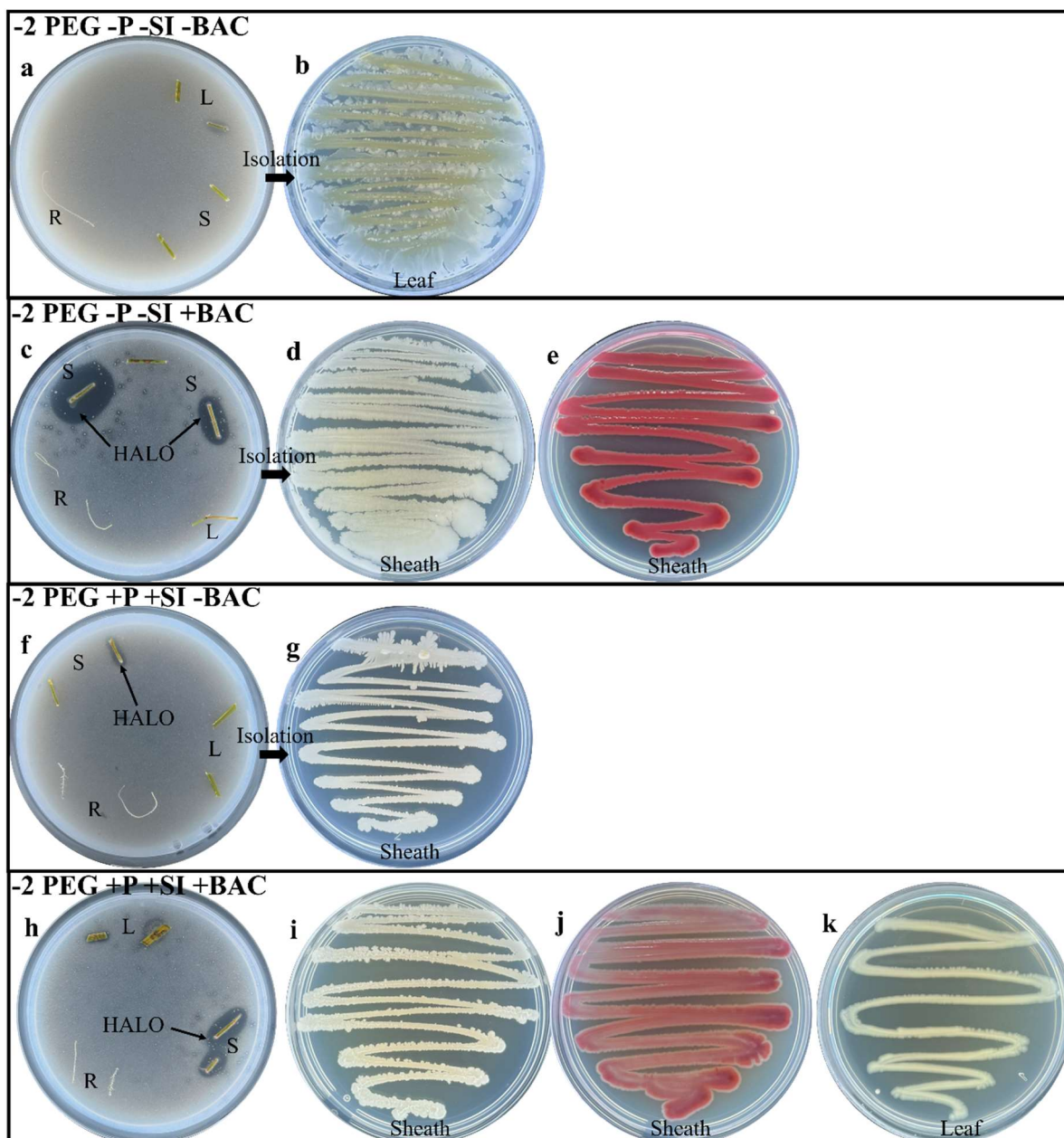
Observou-se também, o crescimento de dois endofíticos na folha e bainha do T3 (não microbiolizado) (Figura 3, f), deste, um apresentou leve potencial de PS, e após o isolamento, apresentaram coloração e morfologia diferentes (Figura 3, g e h) isolados utilizado no ensaio.



**Figura 3.** Solubilização de Fósforo em meio de cultura NBRI, por isolados bacterianos endofíticos P de plântulas de arroz, cultivada sem polietilenoglicol (PEG-6000), na presença e ausência de ácido monossilícico. 0 PEG = (0 Mpa), +P = com fósforo não lábil, -P = sem fósforo não lábil. +SI = com ácido monossilícico, -SI = sem ácido monossilícico. BAC = microbiolizado, -BAC = não microbiolizado. R = raiz, S = bainha, L = folha. **a, c, f e i** = cortes de raiz, bainha e folha incubado em meio NBRIP dos tratamentos T1 (0 PEG -P -SI -BAC), T2 (0 PEG -P -SI +BAC), T3 (0 PEG +P +SI -BAC) e T4 (0 PEG +P +SI +BAC). **b, d, e, g, h, j e k** = isolamento dos endofíticos crescidos no corte de raiz, bainha ou folha dos respectivos tratamentos

#### 4.2.2 Ensaio -2 Mpa (-2 PEG)

No ensaio com pressão osmótica -2 MPa, plantas microbiolizadas e não microbiolizadas, cultivadas na presença e ausência de P não-lábil e silício, foi observado a presença de endofíticos nos cortes das plântulas, exceto no segmento de raiz (Figura 4).

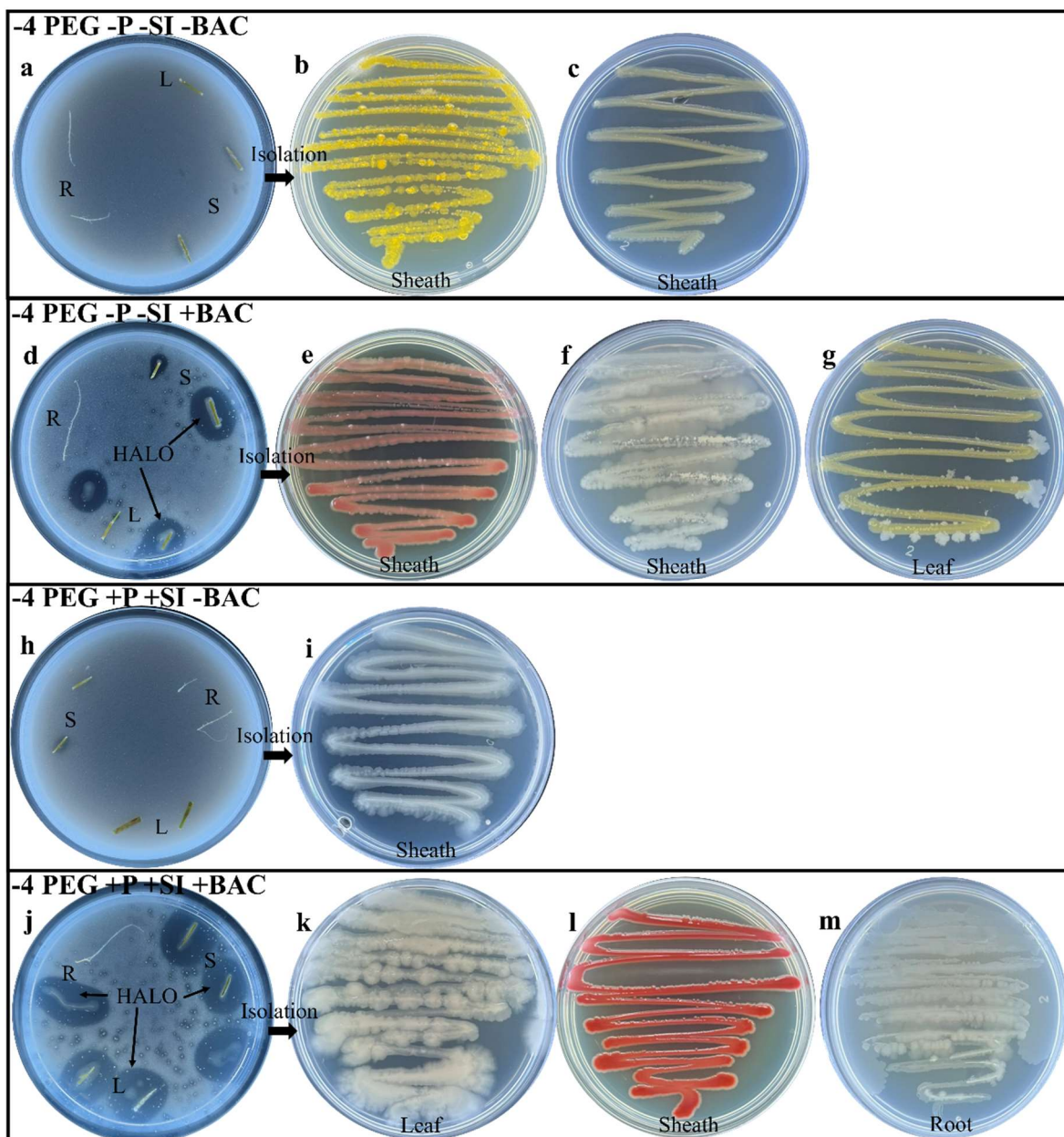


**Figura 4.** Solubilização de Fósforo em meio de cultura NBRI, por isolados bacterianos endofíticos de plântulas de arroz, cultivada sob pressão osmótica (-2 Mpa), simulada por polietilenoglicol (PEG-6000), com (+SI) ou sem (-SI), com (+P) ou sem (-P) (fósforo não lábil). = com ácido monossilícico, = sem ácido monossilícico. BAC = microbiolizado, -BAC = não microbiolizado. R = raiz, S = bainha, L = folha. **a, c, f e h** = cortes de raiz, bainha e folha incubado em meio NBRIP dos tratamentos T1 (-2 PEG -P -SI -BAC), T2 (-2 PEG -P -SI +BAC), T3 (-2 PEG +P +SI -BAC) e T4 (-2 PEG +P +SI +BAC). **b, d, e, g, i, j e k** = isolamento dos endofíticos crescidos no corte de raiz, bainha ou folha dos respectivos tratamentos

No tratamento controle (T1) foi observada o crescimento de uma única colônia endofítica em segmentos de folhas, mas sem atividade de solubilização do P (Figura 4, a). Nos segmentos de bainha das plantas do tratamento T2, observou-se o crescimento de colônias endofíticas solubilizadoras de P, identificada pela formação de halo (Figura 4, c), e com as características morfológicas semelhantes a *S. marcescens* e *B. toyonensis* (Figura 4, d e e). Em T3, em segmentos de bainha, identificou-se a presença de uma colônia endofítica, com baixa atividade solubilizadora, uma vez que o halo formado pequeno, em relação aos demais halos formados (Figura 4, f). Já nos segmentos de de bainha e folha das plantas do tratamento microbiolizado T4, detectou-se crescimento de colônias endofítica, com atividade de solubilização expressiva, de acordo com a formação de halos (Figura 4, h). As colônias apresentaram morfologia semelhantes a *S. marcescens* (Figura 4, j) e *B. toyonensis* (Figura 4, i e k).

#### 4.2.3 Ensaio -4 Mpa (-4 PEG)

Detectou-se a presença de colônias endofíticas nos segmentos de plantas microbiolizadas e não microbiolizadas, cultivadas na presença e ausência de P não-lábil e silício, sob pressão osmótica -4 Mpa, (Figura 5). Em T1 (controle), os segmentos das plantas em T1, observou-se crescimento de colônias endofíticas no segmento de bainha das plantulas, porém sem atividade de solubilização de P (Figura 5, a). Em T2, observou-se o crescimento de colônias endofíticas com atividade de solubilização de P nos segmentos de bainha e folhas, das plantulas microbiolizadas, (Figura 5, d). Apenas as colônias crescidas dos segmentos da bainha, apresentaram morfologia semelhantes a *S. marcescens* e *B. toyonensis* (Figura 5, e e f). Em T3, as colônias endofíticas observadas, nos segmentos de bainha, não apresentara atividade de solubilização de P (Figura 5, h). Em T4, observou-se o crescimento de colônias endofíticas em todos os segmentos de raiz, bainha e folha, e todas com atividade de solubilização de P (Figura 5, j). A colônia isolada do segmento da bainha apresentou morfologia semelhante a *S. marcescens* no segmento de bainha (Figura 5, l). Já as colônias isoladas dos segmentos de folhas e raízes, apresentaram morfologia semelhante ao *B. toyonensis* no segmento de (Figura 5, k e m).

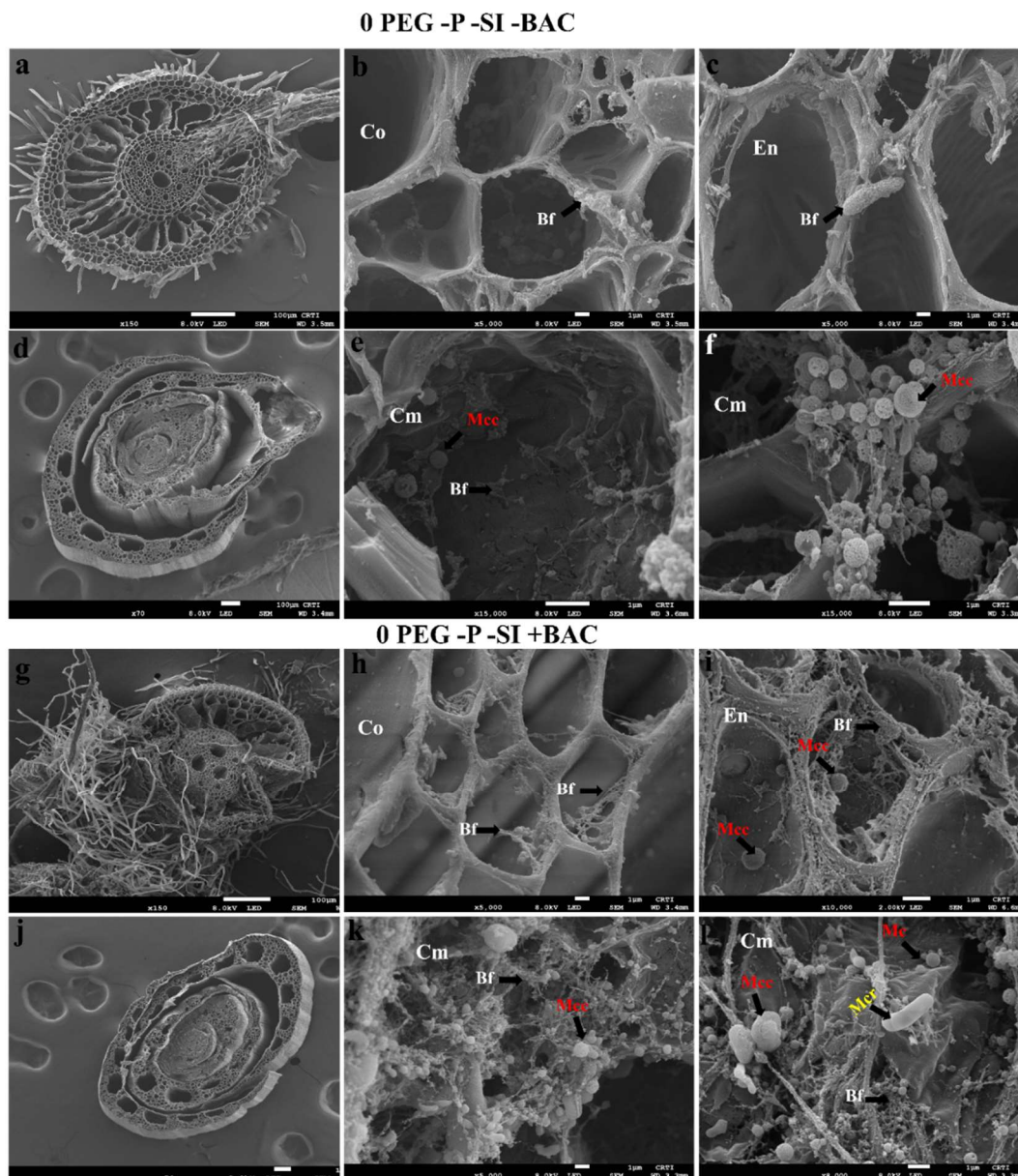


**Figura 5.** Colonização endofítica de rizobactérias e capacidade de solubilização de fosfato em meio de cultura NBRIP de plântulas de arroz, cultivada sob pressão osmótica simulada por diferentes concentrações de polietilenoglicol (PEG-6000), na presença e ausência de ácido monossilícico. -4 PEG = (-4 Mpa), +P = com fósforo não lábil, -P = sem fósforo não lábil. +SI = com ácido monossilícico, -SI = sem ácido monossilícico. BAC = microbiolizado, -BAC = não microbiolizado. R = raiz, S = bainha, L = folha. **a, d, h e j** = cortes de raiz, bainha e folha incubado em meio NBRIP dos tratamentos T1 (-4 PEG -P -SI -BAC), T2 (-4 PEG -P -SI +BAC), T3 (-4 PEG +P +SI -BAC) e T4 (-4 PEG +P +SI +BAC). **b, c, e, f, g, i, k, l e m** = isolamento dos endofíticos crescidos no corte de raiz, bainha ou folha dos respectivos tratamentos

### 4.3 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA – MEV

#### 4.3.1 Ensaio 0 PEG (0 Mpa)

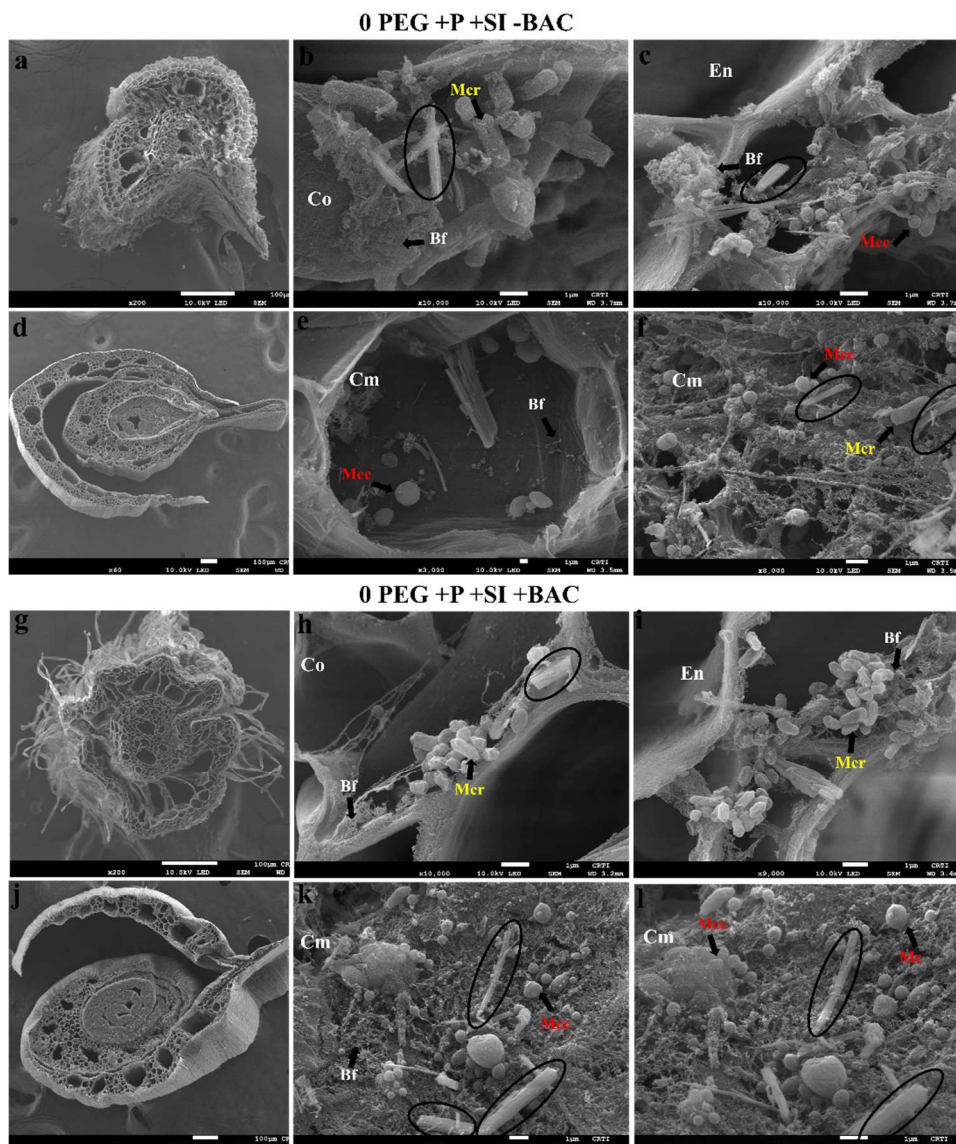
A presença de células bacterianas e biofilme foram registrados pelas imagens de MEV (Figuras 6 e 7), aos 20 dias após a inoculação da rizobactéria BRM 32114 (*S. marcescens*) e BRM 32110 (*B. toyonensis*), tanto nos segmentos de raiz quanto de bainha.



**Figura 6.** Microscopia eletrônica de varredura (MEV) de corte transversal de raiz e bainha de plântula de arroz do ensaio 1, cultivado sem deficiência hídrica, sem fósforo não-lábil, e na ausência ácido monossilícico. 0 PEG = 0 Mpa. -P = sem fósforo não lábil. -SI = sem ácido monossilícico. -BAC = não microbiolizado. +Bac = microbiolizado. **a, b, c, g, h e i** = MEV do corte de raiz do T1 (0 PEG -P -SI -BAC); **d, e, f, j, k, e l** = MEV do corte de bainha do T2 (0 PEG -P -SI +BAC). Co = córtex, En = endordeme, Cm = célula do mesófilo, Mcc = microcolônias em forma cocoide, Mcr = microcolônias em forma de bastão, Bf = Biofilme bacteriano.

Na Figura 6, as MEV das plantas dos tramentos T1 (não microbiolizado), e T2 (microbiolizado), cultivadas sem a presença de fósforo não-lábil e silício, observou-se a presença de biofilme (Bf) nos segmentos de raiz e bainha (Figura 6). Constatou-se também, a formação de microcolônias no segmento de bainha em T1 (Figura 6, e and f), bainha e raiz em T2 (Figura 6, e, f, i, k, l). No segmento de bainha, foi observado a formação de microcolônias no formato cocoide (Mcc) e bastão (Mcr) (Figura 6, l).

Na Figura 7, a MEV das plantas dos tramentos T3 (não microbiolizado), e T4 (microbiolizado), cultivadas na presença de fósforo não-lábil e silício, observou-se a formação Bf nos segmentos de raiz e bainha (Figura 7). Constatou-se também, a formação de microcolônias nos formatos Mcc e Mcr dos segmento de raiz e bainha em T3 (Figura 7, b, c, e and f) e T4 (Figura 7, h, i, k and l). As estruturas circuladas (Figura 7), possível estruturas silicificadas, foram observadas apenas nas plantas cultivadas na presença de silício no T3 e T4.

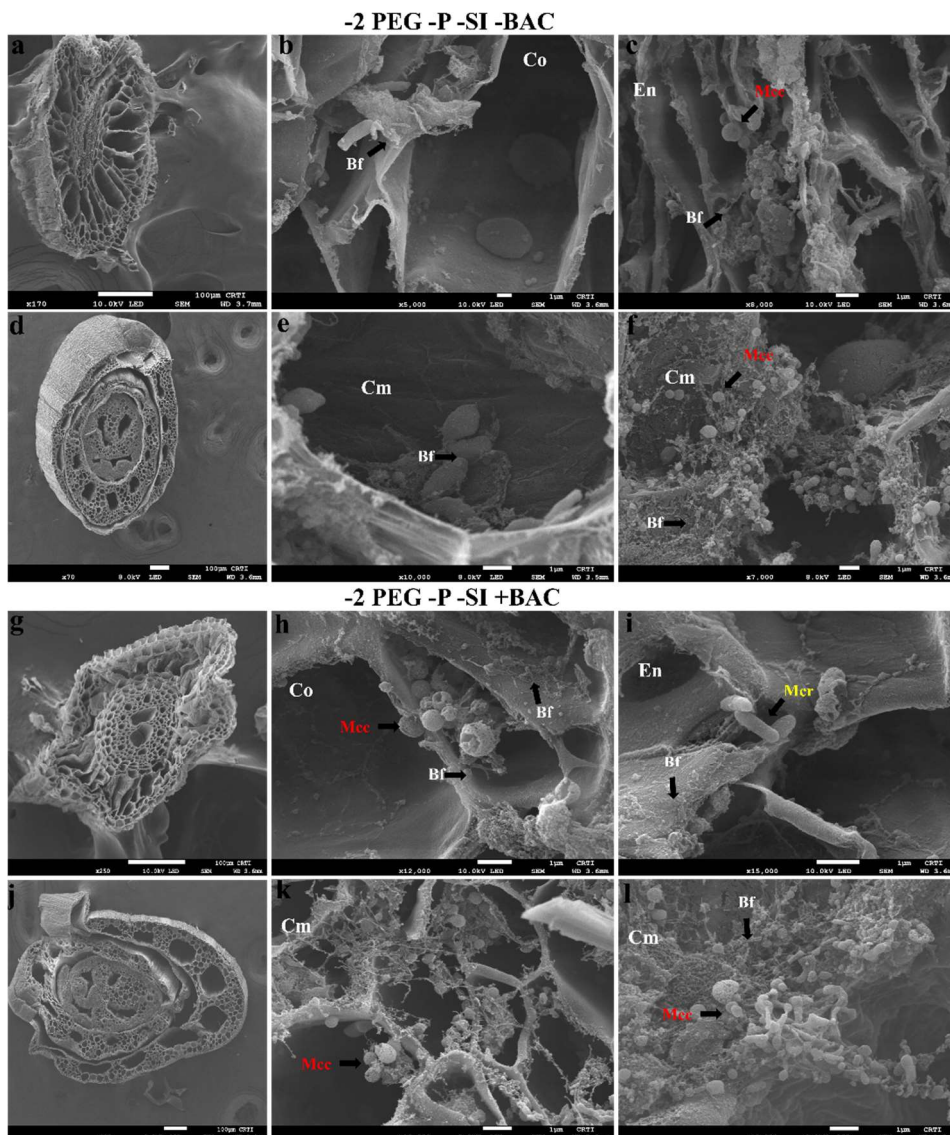


**Figura 7.** Microscopia eletrônica de varredura (MEV) de corte transversal de raiz e bainha de plântula de arroz do ensaio 1, cultivado sem deficiência hídrica, na presença de ácido monossilícico e com fonte de fósforo não-lábil. 0 PEG = 0 Mpa. +P = com fósforo não-lábil. +SI = com ácido monossilícico. -BAC = não microbiolizado. +Bac = microbiolizado. **a, b, c, g, h e i** = MEV do corte de raiz do T3 (0 PEG +P +SI -BAC); **d, e, f, j, k, e l** = MEV do corte de bainha do T4 (0 PEG +P +SI +BAC). Estruturas circuladas = possível estruturas silicificadas. Co = córtex, Em = endodermis, Cm = célula do mesófilo, Mcc = microcolônias em forma cocoide, Mcr = microcolônias em forma de bastão, Bf = Biofilme bacteriano.

#### 4.3.2 Ensaio -2 PEG (-2 Mpa)

A presença de células bacterianas e biofilme foram registrados pelas imagens de MEV (Figuras 8 e 9), 20 dias após a inoculação da rizobactéria BRM 32114 (*S. marcescens*) e BRM 32110 (*B. toyonensis*), nos segmentos de raiz quanto de bainha.

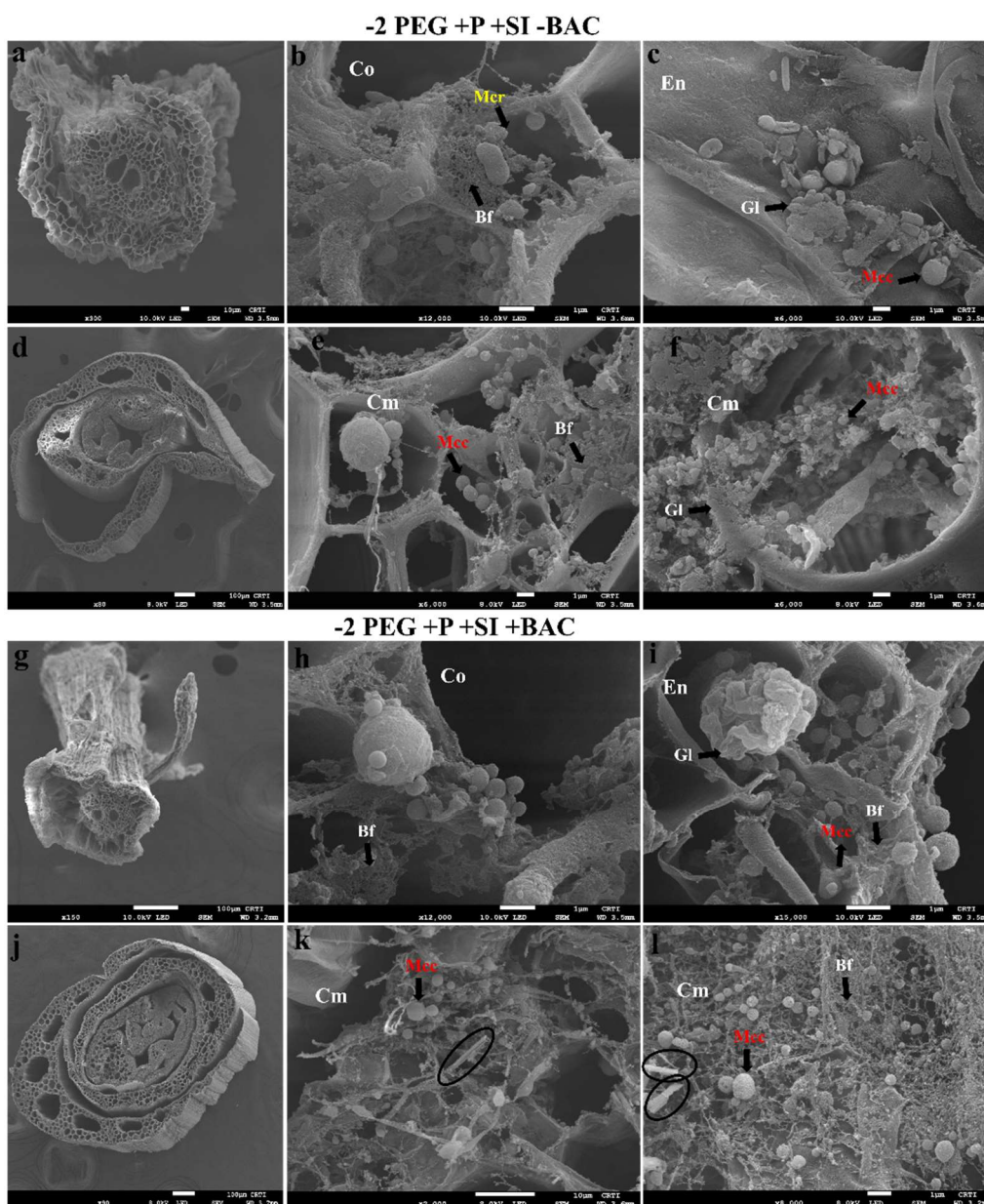
Em T1 e T2, nos segmentos das plantas cultivadas sem a presença de silício, observou-se Bf e formação de microlônias Mcc e Mcr, em maior abundância do que nos segmentos de bainha no tratamento microbiolizado (Figura 8, k and l).



**Figura 8.** Microscopia eletrônica de varredura (MEV) de corte transversal de raiz e bainha de plântula de arroz do ensaio 2, cultivado em deficiência hídrica induzida por polietilenoglicol (PEG-6000), sem fósforo não-lábil, e na ausência ácido monossilícico. -2 PEG = -2 Mpa; -P = sem fósforo não-lábil; -SI = sem ácido monossilícico. -BAC = não microbiolizado. +Bac = microbiolizado. **a, b, c, g, h e i** = MEV do corte de raiz do T1 (-2 PEG -P -SI -BAC); **d, e, f, j, k, e l** = MEV do corte de bainha do T2 (-2 PEG -P -SI +BAC). Co = córtex, Em = endodermis, Cm = célula do mesófilo, Mcc = microcolônias em forma cocoide, Mcr = microcolônias em forma de bastão, Bf = Biofilme bacteriano.

Na Figura 9, a MEV das plantas dos tratamentos T3 (não microbiolizado), e T4 (microbiolizado), cultivadas na presença de fósforo não-lábil e silício, observou-se a formação Bf nos segmentos de raiz e bainha (Figura 9). Constatou-se também, a formação de microcolônias nos formatos Mcc e Mcr dos segmentos de raiz e bainha em T3 (Figura 9, b, c, e and f) e T4 (Figura 9, h, i, k and l). A MEV mostrou a formação de glicocálice aderentes na parede celular dos segmentos de raiz e bainha em T3 e T4 (Figura 9, c, f and i). As estruturas circulares (Figura 9), possível estruturas silicificadas, foram observadas

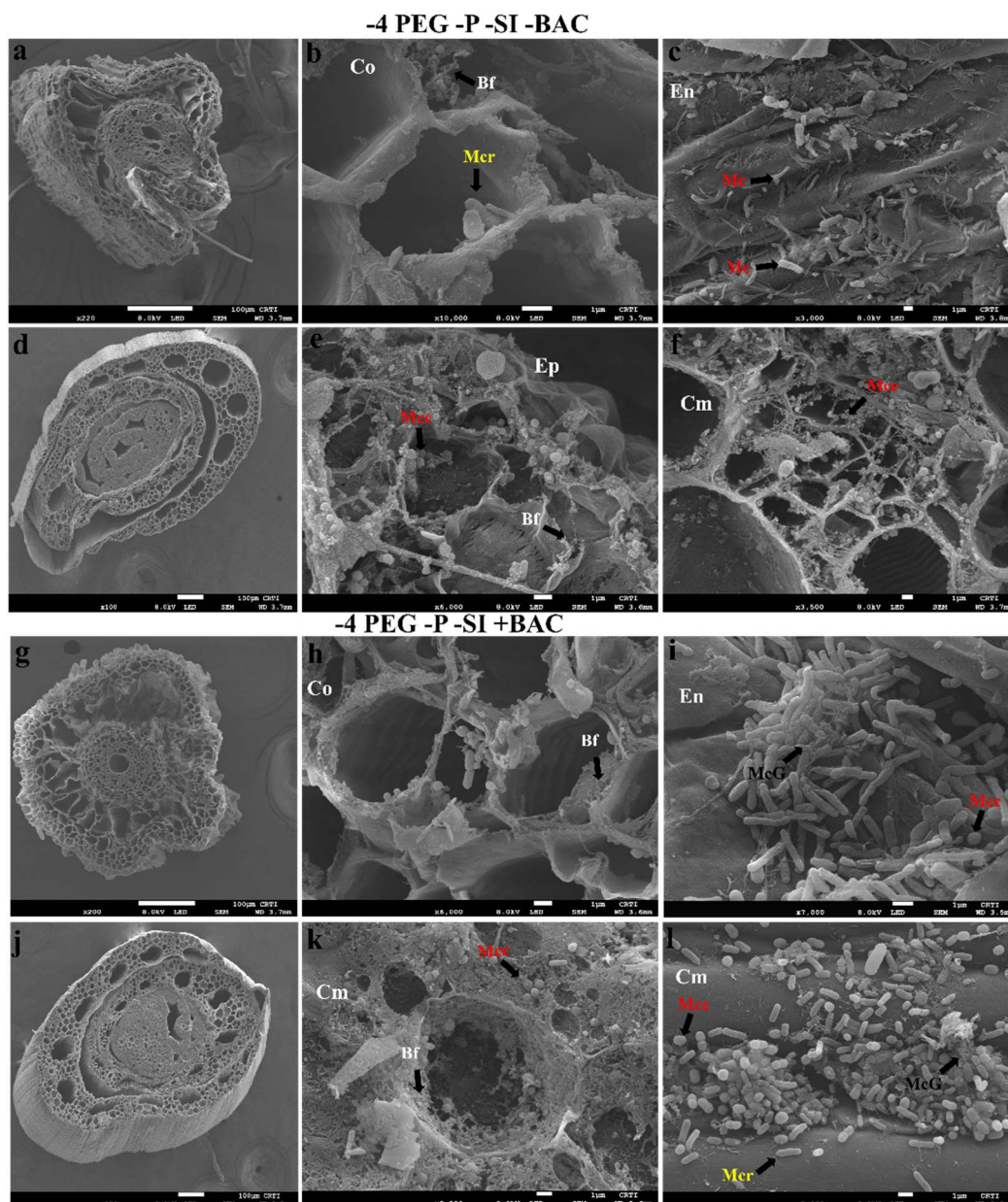
apenas nas plantas cultivadas na presença de silício no T4. A presença de Bf e microcolônias foi observado em maior intensidade nos segmento de bainha, principalmente em T4 (Figura 9, 1).



**Figura 9.** Microscopia eletrônica de varredura (MEV) de corte transversal de raiz e bainha de plântula de arroz do ensaio 2, cultivado com deficiência hídrica induzida por polietilenoglicol (PEG-6000), presença de ácido monossilícico e fonte de fósforo não-lábil. -2 PEG = -2 Mpa. +P = com fósforo não-lábil. +SI = com ácido monossilícico. -BAC = não microbiolizado. +Bac = microbiolizado. **a, b, c, g, h e i** = MEV do corte de raiz do T3 (-2 PEG +P +SI -BAC); **d, e, f, j, k, e l** = MEV do corte de bainha do T4 (-2 PEG +P +SI +BAC). Estruturas circulares = possível estruturas silicificadas. Co = córtex, Em = endodermis, Cm = célula do mesófilo, Mcc = microcolônias em forma cocoide, Bf = Biofilme bacteriano. Gl = glicocalice.

### 4.3.3 Ensaio -4 PEG (-4 Mpa)

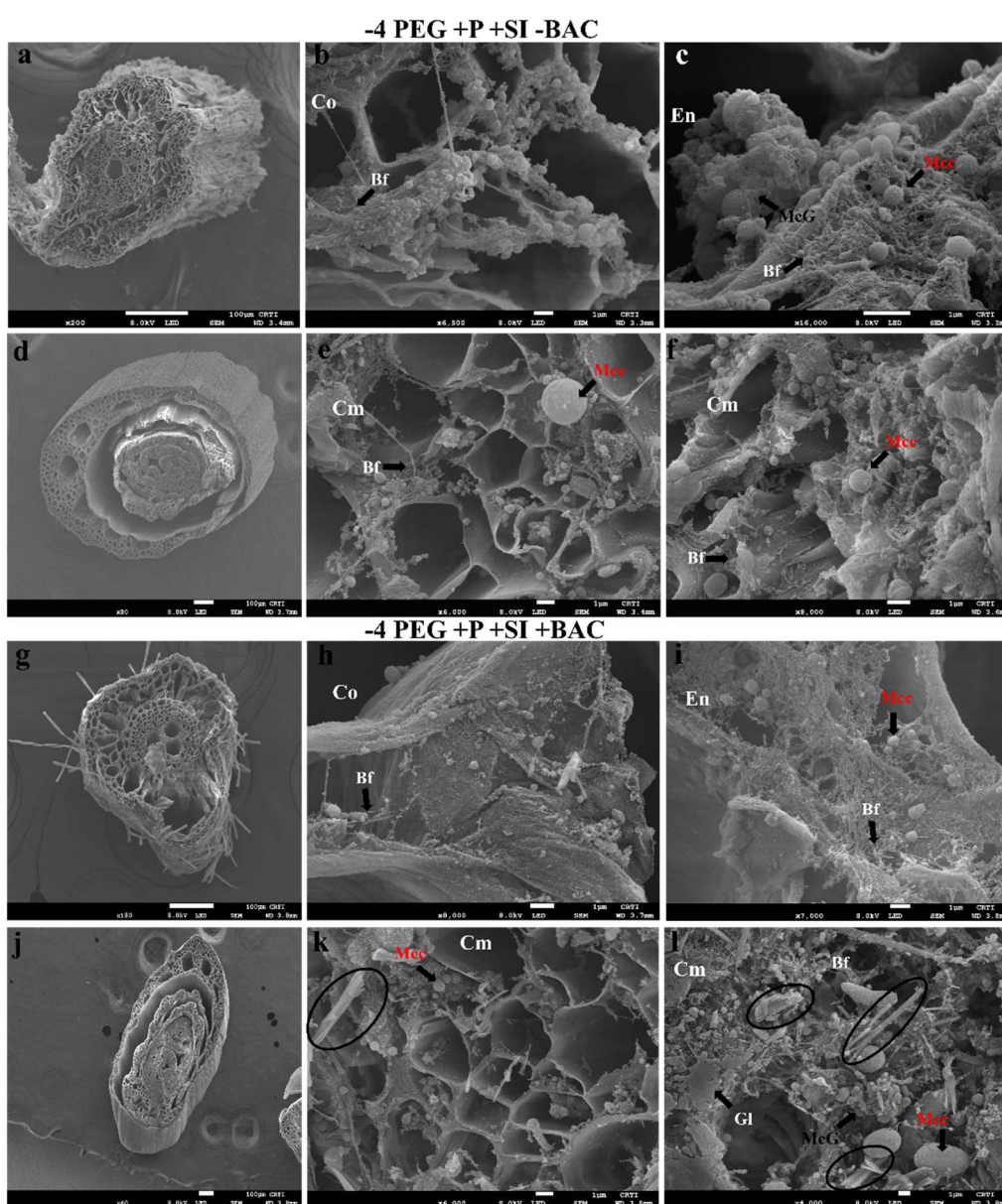
A MEV das plantas dos tramentos T1 (não microbiolizado), e T2 (microbiolizado), observou-se a formação Bf e microcolônias nos segmentos de raiz e bainha (Figura 10). Observou-se microcolônias em formatos distintos alojados na superfície celular cobertos com glicocálice (McG) e aderente à superfície dos segmentos de raiz e bainha do tratamento microbiolizado (T4) (Figura 10, i and l).



**Figura 10.** Microscopia eletrônica de varredura (MEV) de corte transversal de raiz e bainha de plântula de arroz do ensaio 3, cultivado com deficiência hídrica induzida por polietilenoglicol (PEG-6000), ausência de ácido monossilícico e fonte de fósforo não-lábil. -4 PEG = (-0,4 Mpa). -P = sem fósforo não lábil. -SI = sem ácido monossilícico. -BAC = não microbiolizado. +Bac = microbiolizado. **a, b, c, g, h e i** = MEV do corte de raiz do T1 (-4 PEG -P-SI -BAC); **d, e, f, j, k, e l** = MEV do corte de bainha do T2 (-4 PEG -P-SI +BAC). Co = córtex, Ep = epiderme. En

= endordeme, Cm = célula do mesófilo. Mcc = microcolônias em forma cocoide, Mcr = microcolônias em forma de bastão, McG = microcolônias cobertas com glicocálice, Bf = Biofilme bacteriano, Gl = glicocálice.

Na Figura 11, a MEV das plantas dos tratamentos T3 (não microbiolizado), e T4 (microbiolizado), cultivadas na presença de fósforo não-lábil e silício, observou-se a formação Bf e microcolônias (Mcc e Mcr) nos segmentos de raiz e bainha (Figura 11) cobertas com glicocálice (McG) e aderente à superfície dos segmentos de raiz (Figura 11, c) e bainha (Figura 11, l). As estruturas circuladas (Figura 11), são possíveis estruturas silificadas, e foram observadas apenas nas plantas cultivadas na presença de silício no T4.



**Figura 11.** Microscopia eletrônica de varredura (MEV) de corte transversal de raiz e bainha de plântula de arroz do ensaio 3, cultivado com deficiência hídrica induzida por polietilenoglicol (PEG-6000), presença de ácido monossilícico e fonte de fósforo não-lábil. -4 PEG = (-0,4 Mpa). +P = com fósforo não lábil. +SI = com ácido monossilícico. -BAC =

não microbiolizado. +Bac = microbiolizado. **a, b, c, g, h e i** = MEV do corte de raiz do T3 (-4 PEG +P +SI -BAC); **d, e, f, j, k, e l** = MEV do corte de bainha do T4 (-4 PEG +P +SI +BAC). Estruturas circuladas = possível estruturas silicificadas. Co = córtex, En = endordeme, Cm = célula do mesófilo, Mcc = microcolônias em forma cocoide, Gl = glicocálice. McG = microcolônias cobertas com glicocálice, Bf = Biofilme bacteriano, Gl = glicocálice.

## 5 DISCUSSÃO

O sistema de cultivo de arroz de terras altas é afetado por fatores bióticos e abióticos (Marschner, 1995). Entre os estresses abióticos destacam-se a baixa precipitação que resulta em estresse hídrico, e a deficiência nutricional, devido a baixa fertilidade natural do solo nas regiões de cultivo (Enebe & Babalola, 2018). A seca é um dos fatores abióticos mais críticos, uma vez que afeta muitos processos fisiológicos, bioquímicos e moleculares e, conseqüentemente, reduz o rendimento de grãos (Hodson & Bryant 2012).

Tanto as rizobactérias como o silício são ferramentas sustentáveis na mitigação dos efeitos deletérios da seca (Aznar & Dellagi, 2015; Chen et al. 2019). No presente estudo, observamos que as plantas de arroz de terras altas, tratadas *S. marcescens* e *B. toyonensis*, na presença de silício e cultivadas sobre diferentes pressões osmótica, simulando déficit hídrico, e, apresentaram mudanças na arquitetura de sistema radicular com ganhos significativos em área superficial (20%), volume (58%), comprimento total (126,5%), raízes grossas (158,5%) e raízes muito finas (30%). Estes isolados, foram selecionados com base na bioprospeção realizado por Faria et al. (2023) e Faria (2021), em que o isolado BRM 32110 (*B. toyonensis*) destacou-se pela taxa de crescimento superior em diferentes condições de deficiência hídrica: 0,66 (0 MPa), 0,60 (-2 MPa) e 0,56 (-4 MPa), sob as diferentes níveis de pressão osmótica. Já o isolado BRM 32114 (*S. marcescens*) apresentou melhor IS (índice de solubilização de fósforo) (IS = 1,44) em meio NBRIP. A relevância desses isolados na solubilização de fósforo (PS) e no crescimento bacteriano sob condições de estresse hídrico com silício motivou este estudo, a combinar, e avaliar o sinergismo desses tratamentos em planta de arroz em cultivo *in vitro*.

Sem pressão osmótica (0 MPa) e sob -2 MPa e -4 MPa, com fonte de fósforo não lábil, observou-se que a combinação de rizobactérias e silício modulou significativamente o sistema radicular em comparação com plantas sem silício e sem bactérias. Os pelos radiculares, estruturas essenciais para a aquisição de nutrientes, desempenham papel fundamental na contribuição para o comprimento total e a área de superfície da raiz. Sob condições de estresse, a planta utiliza a plasticidade dos pelos radiculares para aumentar a área de superfície, que no

presente estudo foi superior nos tratamentos microbiolizado e com Si, e assim, aprimorar a absorção de água e nutrientes (Hannan et al. 2020). No cultivo de arroz em terras altas, esses fatores são cruciais, pois um sistema radicular bem desenvolvido explora um maior volume de solo, favorecendo a adaptabilidade da planta e garantindo a absorção eficiente de água e nutrientes (Guimarães et al. 2020).

Associado às rizobactérias, utilizamos o Si no meio nutritivo para avaliar a mitigação do estresse hídrico e observamos que a área superficial, volume e comprimento de raiz, raízes grossas e muitas finas aumentaram em relação as plantas não microbilizadas e sem a presença do silício, sugerindo que essa combinação pode ser um caminho disponível para melhorar o crescimento e o desenvolvimento do arroz de terras altas em regiões com baixa precipitação. O Si é capaz de promover o crescimento e o desenvolvimento de plantas sob estresses abióticos e bióticos, incluindo estresse de seca (Chen et al. 2019). Nas folhas é capaz de diminuir a transpiração e aumentar o potencial hídrico foliar (Avila et al. 2021). O Si influencia o desenvolvimento da área radicular, o diâmetro, o volume e o comprimento da raiz principal e da biomassa radicular em plantas cultivada em estresse salino (Lee et al. 2010; Zia et al. 2021). observaram que plantas de trigo inoculadas com rizobactérias apresentaram tolerância à seca de até 20% de polietilenoglicol, sob uma pressão osmótica de (-0,6 MPa), melhorando significativamente o crescimento da planta, a área foliar e a biomassa sob estresse hídrico. Ming et al. (2012) mostraram que a adição de Si à solução de cultura com PEG na pressão osmótica de -0,15 Mpa, melhorou os teores de água total nas folhas e raízes, aumentou o potencial hídrico ( $\Psi_w$ ), potencial osmótico ( $\Psi_\pi$ ) nas raízes e folhas, mantendo uma pressão de turgor mais alta ( $\Psi_p$ ), em comparação com as plantas sem aplicação de Si em plantas de arroz.

A arquitetura do sistema radicular do arroz de terras altas, caracterizada pelo arranjo espacial das raízes, é fundamental para o uso eficiente dos recursos disponíveis. No presente estudo, verificou-se que, no tratamento sem rizobactérias e silício (-P -Si -BAC), as plantas de arroz apresentaram menor área superficial, volume e tamanho dos pelos radiculares. Faria et al. (2023), ao avaliarem o efeito da combinação do silício e as rizobactérias *B. toyonensis* (BRM 32110) e *S. marcenses* (BRM 32114) – os mesmos isolados utilizados no presente estudo –, em cultivos *in vitro* de plantas de arroz, sob estresse hídrico induzido por PEG, e sem suplementação de fósforo não lábil, observaram um aumento de até 126,56% no comprimento total da raiz e de 180,82% na área total da superfície radicular. Um outro resultado que corrobora com nossos dados, foram os apresentados por Costa et al. (2023),

esses isolados em pré-tratamentos sob estresse hídrico em uma variedade nativa de arroz de terras altas, Samambaia Branco, constataram melhorias na robustez do sistema radicular de plantas sob déficit hídrico, com aumentos de 40,9% na área de superfície, 11,5% no diâmetro, 53,8% no volume e incrementos de 30,8% e 45% no número de raízes grossas, além de 25% nas raízes finas, em diferentes profundidades do solo.

Além da deficiência hídrica induzida por PEG, a plantas de arroz foram cultivadas sob fonte de fósforo não-lábil. As rizobactérias *B. toyonensis* e *S. marcenses* influenciaram positivamente e significativamente a arquitetura do sistema radicular das plantas de arroz cultivadas *in vitro* em meio com fonte de fósforo não-lábil, de forma mais significativa, esse aumento pode ser observado nas raízes laterais grossas, com aumento de até 158,5% (-2 Mpa) e 25,5% (-4 Mpa), e raízes muito finas, com incremento de 18,5% (-2 Mpa) e 30% (-4 Mpa). Os isolados BRM 32114 e BRM 32110 são solubilizadores de fósforo inorgânico, apresentaram índice de solubilização (IS) de 1.44 e 1.11, respectivamente (Faria, 2021), o que pode explicar como as plantas do tratamentos tratadas com esses isolados promoveram melhores desenvolvimento das raízes, principalmente das raízes secundárias, que são importantes meio de absorção de nutrientes (Vacheron et al. 2013). As rizobactérias podem incrementar o número e/ou o comprimento das raízes, estimular o alongamento dos pelos radiculares e, assim, melhorar a absorção de minerais e água (Chamam et al. 2013).

O fósforo é um dos elementos essenciais para o crescimento e desenvolvimento das plantas, desempenhando um papel estrutural em diversas coenzimas, no DNA (ácido desoxirribonucleico) e em fosfolipídeos, além de ser crucial para a fotossíntese, o metabolismo do carbono e a formação de membranas celulares (Baby et al. 2016). No solo, entretanto, o fósforo está indisponível para as plantas, retido em partículas devido à sua forte interação com íons de ferro ( $Fe^{+3}$ ), alumínio ( $Al^{+2}$ ) e cálcio ( $Ca^{+2}$ ), formando fosfatos inorgânicos (Baby et al. 2016). A solubilização do fósforo não-lábil pelas rizobactérias ocorre pela ação dos ácidos orgânicos, como os ácidos cítrico, fórmico, málico, oxálico e glucônico (Zeng et al. 2022), sendo o ácido glucônico apontado como o mais predominante nesse processo (Xie et al. 2021). Além disso, pela produção de enzimas fosfatases, principalmente fosfatases ácidas, que solubilizam formas precipitadas de fósforo atuando como fontes de prótons ou na quelação do elemento acompanhante do íon fosfato (Marra et al. 2012).

Conforme observado no presente estudo, o aumento significativo no sistema radicular das plantas, devido à inoculação com as rizobactérias promotoras do crescimento vegetal, pode ser atribuído a absorção de P. A verificação do potencial de solubilização de fósforo pelos

isolados foi realizada em meio NBRIP. Nas Placas de Petri, contendo meio de cultura indicador (NBRIP), ao redor dos segmentos de raiz, bainha e folhas, foram observadas colônias crescidas junto com a formação de halo (zona clara) (Figuras 3c, 3i, 4c, 4h, 5d e 5j). A formação de halo, geralmente, é causada pela liberação de ácidos orgânicos, que quelam o cálcio associado ao fosfato e, assim, tornam o fósforo mais disponível (Zeng et al. 2022).

Na presente investigação, observamos o crescimento de bactérias endofíticas ao redor dos segmentos das plantas desinfestados, que se assemelharam morfológicamente com *S. marcescens* e *B. toyonenses* utilizadas no tratamento de sementes, ambas mostraram potencial de solubilização de P. Por outro lado, nos segmentos das plantas não tratadas, observamos o uma diversidade de microrganismos endofíticos com morfologia distinta das rizobactérias utilizadas na microbiolização, destes, apenas dois apresentaram leve potencial de solubilização de P (Figuras 3f e 4f). Endófitos bacterianos podem ser isolados de tecido vegetal desinfetado na superfície ou extraídos de tecido vegetal interno, e não causam nenhum dano perceptível às suas plantas hospedeiras afetando positivamente o desenvolvimento da planta (Afzal et al. 2019). Rangjaroen et al. (2015) encontraram total 396 cepas bacterianas endofíticas obtidas de tecidos (sementes maduras, folhas, caules e raízes) de variedades de arroz de terras altas, em diferentes estágios de crescimento.

Nas plantas tratadas com as rizobactérias *S. marcescens* e *B. toyonenses* e cultivada sob diferentes níveis de pressão osmótica observamos o crescimento de endofíticos nos segmentos de raiz, bainha e folha (Figura 5 j). Planta de arroz também é hospedeira de muitos endófitos, que já foram isolados nas sementes, caules e raízes, colonizam rapidamente as raízes e depois parte aérea da planta de arroz em desenvolvimento (Kaga et al. 2009; Hameed et al. 2015). No presente estudo, a presença das rizobactérias foram em maior parte nos segmentos de bainha e folhas (Figura 3, 4 e 5), corroborando com os resultado de Hardoim et al. (2012) que relataram que plantas de arroz cultivadas em ambiente asséptico acomodam muitos mais endófitos bacterianos na parte aérea do que nos tecidos da raiz. A migração das bactérias endofíticas, ao longo dos espaços intercelulares, requer também a secreção de enzimas de degradação da parede celular, celulase e pectinase por exemplos. Os isolados BRM32110 e BRM32114, utilizados no presente estudo, são produtores de enzimas extracelulares como celulase e pectinase (Faria, 2021), sugerindo os possíveis mecanismos utilizados por estes isolados para o sucesso da colonização endofítica nas plantas de arroz. De

Oliveira et al. (2025) relataram que *S. marcescens* colonizou endofiticamente plantas de arroz de terras altas em cultivo *in vitro*.

Vinte dias após o tratamento de sementes com *S. marcescens* e *B. toyonenses*, observou-se a presença de microcolônias em formatos de bastão e cocoide (Fig. 6), biofilme em abundância, registrados pelas imagens capturadas por MEV, nos ensaios conduzidos sob diferentes níveis de pressão osmótica. Biofilmes são matrizes extracelulares compostas por exopolissacarídeos, proteínas e ácidos nucleicos, formados sobre superfícies, uma vez que há maior oferta de nutrientes nestes locais (Zboralski et al. 2020). As rizobactérias que produzem biofilmes de forma eficiente intensificam suas atividades de promoção do crescimento vegetal, especialmente em plantas submetidas a estresses bióticos e abióticos (Santoyo et al. 2021). A adesão é facilitada pela excreção microbiana de uma matriz de exopolissacarídeos, denominada de glicocálice (Kasnowski et al 2010) que foi observada no presente estudo (Fig 9 c, f, i).

As plantas de arroz do presente estudo foram cultivadas em meio de cultivo suplementado com ácido monossilícico.  $H_4SiO_4$ , que é a forma de Si absorvida pela raiz e se acumulam nos tecidos epidérmicos (Mitani et al. 2005). As imagens capturadas pela MEV mostraram estruturas silicificadas apenas nos tratamentos suplementados com ácido monossilícico (Figuras 7, 9 e 11), de forma mais abundante nos segmentos de bainha. A microscopia de alta resolução, como a SEM, pode ser usada para obter imagens das silicificações de tecidos vegetais (Guerriero et al. 2020). O silício entra na planta por canais específicos codificados pelos genes *Lsi1*, *Lsi2* e *Lsi6*. Esses genes têm um papel fundamental no aumento da capacidade das raízes laterais para absorver o nutriente presente na solução do solo e transportá-lo para a parte aérea da planta. O gene *Lsi1*, presente na exoderme e endoderme, promove o influxo do silício do solo para as raízes. O *Lsi2* facilita o carregamento do silício no xilema, transferindo-o para a parte aérea. Já o gene *Lsi6*, localizado nas folhas, transporta o silício do xilema para as células foliares. Essa coordenação eficiente entre os genes contribui para a saúde e desenvolvimento do arroz (Ma & Takahashi, 2001; Ma et al. 2007; Coskun et al. 2019).

## 6 CONCLUSÃO

Pode-se concluir, a partir desta pesquisa, que a aplicação de *Serratia marcescens*, *Bacillus toyonensis* e Si pode atuar em sinergia para conferir tolerância à seca em plantas de arroz de terras altas. As plantas tratadas com as rizobactérias e Si apresentaram melhorias na arquitetura do sistema radicular em comparação com as plantas não tratadas e sem aplicação de Si. Esses benefícios são atribuídos à capacidade dessas rizobactérias de crescer sob pressão osmótica e de solubilizar fósforo, possibilitando o cultivo de culturas em solos com níveis mais baixos de fósforo. As bactérias utilizadas colonizam endofiticamente a planta de arroz, da raiz para a parte aérea, com a atividade solubilizadora e são capazes de co habitarem, sem interferir na presença de outros endofíticos. Portanto, mais ensaios de pesquisa são necessários, especialmente em condições de campo, para confirmar se a aplicação de silício e rizobactérias pode ser uma estratégia geral para aumentar a disponibilidade de fósforo e mitigar o estresse causado pela seca.

## 7 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- Abdi D, Cade-Menun BJ, Ziadi N, Parent LÉ (2014) Long-term impact of tillage practices and phosphorus fertilization on soil phosphorus forms as determined by <sup>31</sup>P nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J Environ Qual* 43(4), 1431–1441.  
<https://doi.org/10.2134/jeq2013.10.0424>
- Afzal I, Shinwari ZK, Sikandar S, Shahzad S (2019) Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. *Microbiological research*. 221, 36-49. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.02.001>
- Araújo L, Paschoalino, RS, Rodrigues FA Microscopic aspects of silicon-mediated rice resistance to leaf scald. *Phytopathology* 106, 132-141, 2016.
- Aude A, Alia D (2015) New insights into the role of siderophores as triggers of plant immunity: what can we learn from animals?, *Journal of Experimental Botany* 66(11), 2015, Pages 3001–3010, <https://doi.org/10.1093/jxb/erv155>
- Avila RG, Magalhães PC, da Silva EM, de Souza KR, Campos CN, de Alvarenga AA, & de Souza TC (2021) Application of silicon to irrigated and water deficit sorghum plants increases yield via the regulation of primary, antioxidant, and osmoregulatory metabolism. *Agricultural Water Management*, 255,107004.  
<https://doi.org/10.1016/j.agwat.2021.107004>
- Baby K, Kumar A, Mallick MA (2016) Phosphate solubilizing microbes: an effective and alternative approach as biofertilizers. *Int J Pharm Sci* 8, 37-40, 2016
- Batool S, Iqbal Á (2019) Phosphate solubilizing rhizobacteria as alternative of chemical fertilizer for growth and yield of *Triticum aestivum*. *Saudi J Biol Sci* 26(7), 1400-1410.  
<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.05.024>
- Bhom W (1979) *Methods of studying root systems*. Springer-Verlag, New York, p 188
- Bodner, G. Nakhforoosh, A. & Kaul, HP (2015) Management of crop water under drought: a review. *Agron. Sustain. Dev.* 35, 401–442. <https://doi.org/10.1007/s13593-015-0283-4>
- Bouremani N, Cherif-Silini H, Silini A, Rabhi NEH, Bouket AC, Belbahri L (2024) Osmotolerant plant growth promoting bacteria mitigate adverse effects of drought stress on wheat growth. *AIMS microbiology*, 10(3), 507.  
<https://doi.org/10.3934/microbiol.2024025>
- Chamam A, Sanguin H, Bellvert F, Meiffren G, Comte G, Wisniewski-Dyé F, Prigent-Combaret C, (2013) Plant secondary metabolite profiling evidences strain-dependent effect in the *Azospirillum–Oryza sativa* association. *Phytochemistry*. 87, 65-77.  
<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2012.11.009>
- Chen D, Xue R, Long J, Li X, Lin Y, Song Y (2019) Effects of boron, silicon and their interactions on cadmium accumulation and toxicity in rice plants. *J Hazard Mater* 367, 447-455. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.12.111>
- Coskun D, Deshmukh R, Sonah H, Menzies JG, Reynolds O, Ma JF, Bélanger RR (2019) The controversies of silicon's role in plant biology. *New Phytol*, 221(1), 67-85  
<https://doi.org/10.1111/nph.15343>

- Costa NB, Faria DR, Mendonça SM, De Moraes MG, Coelho GRC, Filippi MCC, Lanna AC (2023) Silicon and bioagents pretreatments synergistically improve upland rice performance during water stress. *Plant Stress*, 7, 100142. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2023.100142>
- De Oliveira RS, Gonçalves AR, Ajulo AA, Oliveira LR, Lanna AC, De Filippi, MCC (2024) Survey and genomic characterization of *Serratia marcescens* on endophytism, biofilm, and phosphorus solubilization in rice plants. *Environ Sci Pollut Res* (2024). <https://doi.org/10.1007/s11356-024-35554-2>
- Eckstein D, Künzel V, Schafer L (2021) The global climate risk index 2021. Bonn: Germanwatch.
- Enebe MC, Babalola OO (2018) The influence of plant growth-promoting rhizobacteria in plant tolerance: a to abiotic stress survival atrategy. *Appl Microbiol Biotechnol* 102, 7821-7835. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9214-z>
- Etesami H (2020). Enhanced Phosphorus Fertilizer Use Efficiency with Microorganisms. In: Meena, R. (eds) *Nutrient Dynamics for Sustainable Crop Production*. Springer, Singapore. 215-245. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-8660-2\\_8](https://doi.org/10.1007/978-981-13-8660-2_8)
- Etesami H, Maheshwari DK (2018) 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*, 156, 225-246. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.013>
- Faria DR (2021) Rizobactérias e silício na intensificação da mitigação do arroz de terras altas ao déficit hídrico e à brusone. 117 p. Dissertação (Mestrado em agronomia) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO, Brasil
- Faria DR, Mendonça SM, Sousa OMI, Lanna AC, Filipp MCC (2023) Rhizobacteria and silicon mitigate multiple stresses in upland rice. *Trop Plant Pathol* 1-15, 2023. <https://doi.org/10.1007/s40858-023-00593-6>
- Ferreira DF (2011) Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciênc Agrotec* 35:1039-1042.
- Filippi MCC, Silva GB, Silva-Lobo V, Côrtes MVCB, Moraes AJG, Prabhu AS (2011) Leaf blast (*Magnaporthe oryzae*) suppression and growth promotion by rhizobacteria on aerobic rice in Brazil. *Biol Control*. San Diego, 58(2):160-166. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2011.04.016>
- Guerriero G, Stokes I, Valle N, Hausman JF, Exley C (2020). Visualising silicon in plants: histochemistry, silica sculptures and elemental imaging. *Cells*, 9(4), 1066. <https://doi.org/10.3390/cells9041066>
- Guimarães PHR, Lima IP, Castro AP, Lanna AC, Guimarães SMP, Raïssac M (2020) Phenotyping root systems in a set of japonica rice accessions: can structural traits predict the response to drought? *Rice*, 13, 1-19. <https://doi.org/10.1186/s12284-020-00404-5>
- Hameed A, Yeh MW, Hsieh YT, Chung WC, Lo CT, Young LS (2015). Diversity and functional characterization of bacterial endophytes dwelling in various rice (*Oryza sativa* L.) tissues, and their seed-borne dissemination into rhizosphere under gnotobiotic P-stress. *Plant and soil*, 394, 177-197. <https://doi.org/10.1007/s11104-015-2506-5>

- Hannan A, Hassan L, Hoque MN, Tahjib-Ul-Arif M, Robin AHK (2020). Increasing new root length reflects survival mechanism of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes under PEG-induced osmotic stress. *Plant breeding and biotechnology*, 8(1), 46-57.  
<https://doi.org/10.9787/PBB.2020.8.1.46>
- Hardoim PR, Hardoim CC, Van Overbeek, LS, Van Elsas JD (2012) Dynamics of seed-borne rice endophytes on early plant growth stages. *PloS one*, 7(2), e30438.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030438>
- Hodson MJ, Bryant HJ (2012) *Functional Biology of Plants*. John Wiley & Sons: Oxford.
- Jaleel CA, Manivannan P, Wahid A, Farooq M, Al-Juburi HJ, Somasundaram R, Panneerselvam R (2009) Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *Int. J. Agric. Biol*, 11(1), 100-105.
- Kaga H, Mano H, Tanaka F, Watanabe A, Kaneko S, Morisaki H (2009). Rice seeds as sources of endophytic bacteria. *Microbes and environments*, 24(2), 154-162.  
<https://doi.org/10.1264/j sme2.ME09113>
- Kasnowski MC, Mantilla SPS, Oliveira LAT, Franco RM (2010) Formação de biofilme na indústria de alimentos e métodos de validação de superfícies. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*, 8(15), 1-23.
- Khan AR, Park GS, Asaf S, Hong SJ, Jung BK, Shin JH (2017) Complete genome analysis of *Serratia marcescens* RSC-14: a plant growth-promoting bacterium that alleviates cadmium stress in host plants. *PloS one*, 12: 0171534.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171534>
- Kloepper JW, Lifshitz R, Zablotowicz RM (1989) Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends in biotechnology*, 7(2), 39-44.
- Lee SK, Sohn EY, Hamayun M, Yoon JY, Lee IJ (2010) Effect of silicon on growth and salinity stress of soybean plant grown under hydroponic system. *Agroforestry systems*, 80, 333-340. <https://doi.org/10.1007/s10457-010-9299-6>
- Lugtenberg BJ, Chin-A-Woeng TF, & Bloemberg GV (2002) Microbe–plant interactions: principles and mechanisms. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 81, 373-383.  
<https://doi.org/10.1023/A:1020596903142>
- Ma JF, Miyake Y, Takahashi E (2001) Silicon as a beneficial element for crop plant. In: *Silicon in Agriculture*. Edited by Datnoff LE, Korndörfer GH, Snyder G. New York: Elsevier Science, 17-39, 2001. [https://doi.org/10.1016/S0928-3420\(01\)80006-9](https://doi.org/10.1016/S0928-3420(01)80006-9)
- Ma JF, Yamaji N (2006) Silicon uptake and accumulation in higher plants. *Trends in plant science*, 11(8), 392-397.
- Ma JF, Yamaji N, Mitani N, Tamai K, Konishi S, Fujiwara T, Katsuhara M, Yano M (2007) An efflux transporter of silicon in rice. *Nature*, London, 448, 209-212.  
<https://doi.org/10.1038/nature05964>
- Marra LM, Soares CRFS, Oliveira SM, Ferreira PAA, Soares BL, Carvalho RF, Lima JM, Moreira FMS Biological nitrogen fixation and phosphate solubilization by bacteria isolated from tropical soils. *Plant and Soil*, XX: YY-ZZ, 2012.

- Marschner H (1995) Mineral nutrition of higher plants. 2ed. London, UK: Academic Press; 1995.
- Meharg C, Meharg AA (2015) Silicon, the silver bullet for mitigating biotic and abiotic stress, and improving grain quality, in rice?. *Environmental and Experimental Botany*, 120, 8-17. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.07.001>
- Ming DF, Pei ZF, Naeem MS, Gong HJ, Zhou WJ (2012) Silicon alleviates PEG-induced water-deficit stress in upland rice seedlings by enhancing osmotic adjustment. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 198(1), 14-26. <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2011.00486.x>
- Mitani N, Ma JF, Iwashita T (2005) Identification of the silicon form in xylem sap of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant and cell physiology*, 46(2), 279-283. <https://doi.org/10.1093/pcp/pci018>
- Osakabe Y, Osakabe K, Shinozaki K, Tran LSP (2014) Response of plants to water stress. *Frontiers in plant science*, 5, 86. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00086>
- Prado LFS, Costa CHM, Oliveira PRB, Moura BDFS, Costa FLA (2020) Adubação silicatada foliar associada ao nitrogênio em cobertura na cultura do arroz de terras altas. *Magistra* 30: 384-390.
- Prado LFS, Da Costa, CHM, De Oliveira Paz RB, Moura BDF, Da Costa FLA (2020) Adubação silicatada foliar associada ao nitrogênio em cobertura na cultura do arroz de terras altas. *Magistra*, 30:384-390
- Rangjaroen C, Rerkasem B, Teaumroong N, Noisangiam R, Lumyong S (2015). Promoting plant growth in a commercial rice cultivar by endophytic diazotrophic bacteria isolated from rice landraces. *Ann Microbiol*, 65, 253-266. <https://doi.org/10.1007/s13213-014-0857-4>
- Romero-Munar, A. Aroca, R. Zamarreño, A. M. García-Mina, J. M. Perez-Hernández, N. & Ruiz-Lozano, J. M. (2023). Dual inoculation with *Rhizophagus irregularis* and *Bacillus megaterium* improves maize tolerance to combined drought and high temperature stress by enhancing root hydraulics, photosynthesis and hormonal responses. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(6), 5193. <https://doi.org/10.3390/ijms24065193>
- Santos RF, Carlesso R (1998). Déficit hídrico e os processos morfológico e fisiológico das plantas. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 2(3), 287-294. <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v2n3p287-294>
- Santoyo G, Urtis-Flores CA, Loeza-Lara PD, Orozco-Mosqueda MDC, Glick BR (2021) Rhizosphere colonization determinants by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR), *Biology*, 10, 475, <https://doi.org/10.3390/biology10060475>
- Selvakumar G, Panneerselvam P, Ganeshamurthy AN (2012) Alívio mediado por bactérias do estresse abiótico em culturas. Em: Maheshwari, D. (eds) *Bactérias em Agrobiologia: Gerenciamento do estresse*. Springer, Berlim, Heidelberg. 205-224. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-23465-1\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-642-23465-1_10)
- Selvakumar G, Panneerselvam P, Ganeshamurthy AN (2012) Bacterial Mediated Alleviation of Abiotic Stress in Crops. In: Maheshwari, D. (eds) *Bacteria in Agrobiologia: Stress*

- Management. Springer, Berlin, 205-224 Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-23465-1\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-642-23465-1_10)
- Sharma SB, Sayyed RZ, Trivedi MH, Gobi TA (2013) Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. SpringerPlus, 2, 1-14. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-587>
- Shi Y, Wang Y, Flowers TJ, Gong H (2013) Silicon decreases chloride transport in rice (*Oryza sativa* L.) in saline conditions. Journal of Plant Physiology, 170(9), 847-853. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2013.01.018>
- Sylvester-Bradley R, Asakawa N, Torraca SL, Magalhães FM, Oliveira LA, Pereira RM (1982) Levantamento quantitativo de microrganismos solubilizadores de fosfatos na rizosfera de gramíneas e leguminosas forrageiras na Amazônia. Acta Amaz 12(1), 15–22. <https://doi.org/10.1590/1809-43921982121015>
- Vacheron J, Desbrosses G, Bouffaud ML, Touraine B, Moënne-Loccoz Y, Muller D, Prigent-Combaret, C (2013) Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning, Frontiers in plant science, v, 4, p, 356, <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00356>
- Vinocur B, Altman A (2005) Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations. Current opinion in biotechnology, 16(2), 123-132. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2005.02.001>
- Xie J, Yan Z, Wang G, Xue W, Li C, Chen X, Chen D (2021) A bacterium isolated from soil in a Karst rocky desertification region has efficient phosphate-solubilizing and plant growth-promoting ability, Frontiers in Microbiology, 11, 625450 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.625450>
- Yadav H, Fatima R, Sharma A, Mathur S (2017) Enhancement of applicability of rock phosphate in alkaline soils by organic compost. Appl Soil Ecol 113, 80–85. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.02.004>
- Zboralski A, Filion M (2020) Genetic factors involved in rhizosphere colonization by phytobeneficial *Pseudomonas* spp, Computational and Structural Biotechnology Journal, 18, 3539-3554, <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2020.11.025>
- Zeng Q, Ding X, Wang J, Han X, Iqbal H, Bilal M (2022) Insight into soil nitrogen and phosphorus availability and agricultural sustainability by plant growth-promoting rhizobacteria, Environmental Science and Pollution Research, 29, 45089–45106, <https://doi.org/10.1007/s11356-022-20399-4>
- Zhu Y, Gong H (2014). Beneficial effects of silicon on salt and drought tolerance in plants. Agronomy for sustainable development, 34, 455-472. <https://doi.org/10.1007/s13593-013-0194-1>
- Zia R, Nawaz MS, Yousaf S, Amin I, Hakim S, Mirza MS, Imran A (2021). Seed inoculation of desert-plant growth-promoting rhizobacteria induce biochemical alterations and develop resistance against water stress in wheat. Physiologia Plantarum, 172(2), 990-1006. <https://doi.org/10.1111/ppl.13362>

### CAPÍTULO 3

#### **Sinergismo de rizobactérias e silício para amenizar os efeitos deletérios da deficiência hídrica e da brusone em plantas de arroz de terras altas em casa de vegetação**

Capítulo elaborado conforme as normas do periódico científico: *Planta*

**Rodrigo Silva de Oliveira<sup>1</sup>**, Anna Cristina Lanna<sup>2</sup>, Marta Cristina Corsi de Filippi<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Doutorando, Universidade Federal de Goiás, Goiânia – GO, Brasil.

<sup>2</sup>Doutora em Fisiologia Vegetal, pesquisadora da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO

<sup>3</sup>Doutora em Plant Pathology and Microbiology- Texas A & M University, pesquisadora da Embrapa da Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO

## RESUMO

As rizobactérias como microrganismos multifuncionais possuem potencial para conferir tolerância à seca e suprimir a brusone em plantas de arroz. Esse efeito é potencialmente ampliado quando combinado com a adubação silicatada. Neste estudo objetivou-se avaliar a interação sinérgica entre *Serratia marcescens*, *Bacillus toyonensis* e silício na supressão da brusone e na mitigação dos efeitos deletérios da seca em plantas de arroz de terras altas cultivadas em condições de casa de vegetação. Utilizou-se delineamento inteiramente casualizados, com quatro tratamentos e quatro repetições, combinando três rizobactérias, BRM 32114 e BRM 62523 (*Serratia marcescens*) e BRM 32110 (*Bacillus toyonensis*), três métodos de aplicação dos tratamentos microbianos: tratamento de sementes, rega no solo e pulverização nas plantas, e silicato de cálcio e magnésio (SiCaMg) contendo 10,5% de silício, 27% de cálcio, 6% de magnésio, na recomendação de 2 t ha<sup>-1</sup>, e cultivadas sob deficiência hídrica. Foram avaliados produtividade, brusone na panícula (PBS), brusone na aurícula e lígula, atividade de enzimas relacionadas ao estresse oxidativo, proteínas relacionadas à patogênese (PR) e indicadores bioquímicos como peróxido de hidrogênio, clorofilas a e b e carotenoides. Sob deficiência hídrica e irrigação, a produtividade do arroz de terras altas inoculado com as rizobactérias e adubado com silício foi 72 e 35 % superior à produtividade das plantas do tratamento controle, respectivamente. Sob deficiência hídrica e irrigação, a presença das rizobactérias e silício reduziu a PBS em 60 e 77% e a incidência em aurícula e lígula em 44 e 70%, respectivamente. As atividades enzimáticas relacionadas ao estresse oxidativo e proteínas PR foram moduladas positivamente e significativamente pela associação do consórcio de rizobactérias e silício. Portanto, a combinação bioprotetora de rizobactérias e silício produziu efeito sinérgico sobre as plantas de arroz de terras altas, para reduzir o impacto negativo da seca e do principal patógeno da cultura do arroz.

**Palavras-chave:** Biocontrole, *Oryza sativa*, Bactérias promotoras de crescimento de plantas, Proteínas PR, Indução de resistência

## ABSTRACT

Rhizobacteria, as multifunctional microorganisms, have the potential to confer drought tolerance and suppress blast disease in rice plants. This effect is potentially enhanced when combined with silicon fertilization. This study aimed to evaluate the synergistic interaction between *Serratia marcescens*, *Bacillus toyonensis*, and silicon in suppressing blast disease and mitigating the deleterious effects of drought in upland rice plants grown under greenhouse conditions. A completely randomized design was used, with four treatments and four replications, combining a consortium of three rhizobacteria—BRM 32114 and BRM 62523 (*Serratia marcescens*) and BRM 32110 (*Bacillus toyonensis*)—three microbial treatment application methods: seed treatment, soil drenching, and foliar spraying, and calcium and magnesium silicate (SiCaMg) containing 10.5% silicon, 27% calcium, and 6% magnesium, applied at a rate of 2 t ha<sup>-1</sup>, under water-deficient conditions. The evaluated parameters included yield, panicle blast severity (PBS), auricle and ligule blast incidence, oxidative stress-related enzyme activity, pathogenesis-related (PR) proteins, and biochemical indicators such as hydrogen peroxide, chlorophylls *a* and *b*, and carotenoids. Under both drought stress and irrigation, the yield of upland rice inoculated with rhizobacteria and supplemented with silicon was 72% and 35% higher, respectively, compared to control plants. Under drought stress and irrigation, the presence of rhizobacteria and silicon reduced PBS by 60% and 77% and auricle and ligule blast incidence by 44% and 70%, respectively. Enzymatic activities related to oxidative stress and PR proteins were positively and significantly modulated by the association of the rhizobacteria consortium and silicon. Therefore, the combination of rhizobacteria and silicon produced a synergistic effect on upland rice plants, representing a bioprotective strategy to reduce the negative impact of drought and the primary pathogen affecting upland rice cultivation.

**Keywords:** Biocontrol, *Oryza sativa*, Plant growth promoting bacteria, PR proteins, Resistance induction

## 1 INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é uma das culturas alimentares básicas mais importantes do mundo, que sustenta cerca de dois terços da população mundial, fornecendo mais de 21% das das calorias na dieta diária (Kumar et al. 2017). O crescimento acelerado da população ocorrerá, sobretudo, nos países em desenvolvimento, onde o arroz é a base da alimentação, representando um grande desafio para suprir a demanda alimentar dessa população em expansão. Para atender ao ritmo do crescimento populacional, a produção de arroz precisará aumentar em no mínimo 25% até o ano de 2030 (Li et al. 2014). O arroz é cultivado principalmente em dois agroecossistemas: irrigado por inundação e terras altas. O cultivo em terras altas é considerado mais sustentável, pois depende da água da chuva, reduz a emissão de gases de efeito estufa e é compatível com a prática de plantio direto (Araújo et al. 2016). Essa prática mantém a palha na superfície do solo, ajudando a regular a temperatura, conservar a umidade, aumentar o teor de matéria orgânica e estimular a atividade biológica do solo (Nascente et al. 2013).

No entanto, a produtividade do arroz de terras altas é limitada em quase 50% em relação ao seu potencial produtivo. Essa limitação é causada por fatores bióticos e abióticos, e em ambos os estresses, desencadeia-se, nas plantas, alterações fisiológicas e bioquímicas (De Sousa et al. 2018). Em relação aos fatores bióticos, a brusone, causada por *Magnaporthe oryzae*, é considerada a doença mais destrutiva do arroz, causando redução de rendimento em 10–30%, até 100% em casos severos (Sathe et al. 2021; Ogoschi et al. 2018), uma vez que pode afetar a parte aérea da planta de arroz desde os estádios de desenvolvimento iniciais (brusone nas folhas) até o estágio final (brusone nas panículas). O manejo da brusone integra práticas culturais, resistência genética e controle químico. No entanto, o controle cultural torna-se pouco eficaz em sistemas de produção de arroz em larga escala. Já o controle químico, sabe-se que os fungicidas perdem sua eficácia ao longo do tempo, com o desenvolvimento de resistência da planta ao fungo. Além disso, o uso indiscriminado desses produtos químicos gera impactos negativos ao meio ambiente (Silva et al. 2019). A adoção de cultivares resistentes é uma alternativa viável para o controle da brusone, mas o desenvolvimento de cultivares resistentes é um processo demorado. Diante disso, é essencial buscar novas alternativas como estratégias sustentáveis para fortalecer o manejo integrado e eficaz dessa doença.

Outro fator limitante para a produção de arroz de terras altas é o déficit hídrico (estresse abiótico), uma vez que seu cultivo ocorre na estação do verão brasileiro (novembro a março) e, por isso, é comum ocorrer ciclos naturais de deficiência hídrica (veranico) durante a safra. Durante o período de baixa disponibilidade de água no solo, as plantas alteram sua morfologia, fisiologia, bioquímica e respostas moleculares, que variam em intensidade de acordo com a severidade do estresse (Nahar et al. 2016; Quinones et al. 2017). Estima-se que períodos de seca há uma queda de até 10% na produção de cereais nos últimos 50 anos, e as projeções indicam que mais de 50% das terras aráveis poderão ser impactadas pela seca até 2050 (Akhtar et al. 2021). No arroz, a deficiência hídrica pode causar diversos prejuízos ao desenvolvimento da planta já que na fase vegetativa, a seca pode reduzir o perfilhamento e o crescimento das folhas e na fase reprodutiva, ela pode impactar a irregularidade na emissão de panículas ou até mesmo na sua ausência, além de provocar alta esterilidade das espiguetas (Embrapa, 2013).

O uso de rizobactérias e Si é considerado uma abordagem sinérgica sustentável para controlar o déficit hídrico e a brusone na cultura do arroz. Os mecanismos associados à tolerância à seca em plantas de arroz de terras altas, derivados da aplicação das rizobactérias e adubação silicatada, incluem alterações na arquitetura do sistema radicular do hospedeiro (Bhattacharyya et al. 2020), produção de enzimas antioxidantes como a ascorbato peroxidase (APX), catalase (CAT), peroxidase (POX) e superóxido dismutase (SOD) para eliminação de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Khan et al. 2021). A combinação de rizobactérias e Si pode mitigar danos oxidativos em plantas, modular componentes enzimáticos e induzir resistência a ataques de patógenos (Meharg et al. 2015). A resistência sistêmica induzida ativa a defesa latente da planta que leva à ativação de múltiplos compostos/enzimas relacionados à defesa. A planta mostra maior atividade de proteínas relacionadas à patogênese (PR), como  $\beta$ -1,3-glucanase e quitinase, lipoxigenase e fenilalanina amônia-liase, que são produzidas em resposta à infecção por patógenos (García-Cristobal et al. 2015).

Nesse contexto, torna-se essencial investigar a combinação entre a fertilização com silício e a aplicação de rizobactérias para avaliar o potencial dessa combinação, na mitigação dos efeitos deletério do déficit hídrico e da brusone em plantas de arroz de terras altas. Os isolados do presente estudo foram selecionados com base na bioprospecção realizado por Faria et al. (2023), os quais selecionaram três isolados de rizobactérias tolerantes à pressão

osmótica no meio de cultivo, simulado pelo polietilenoglicol (PEG 6000), solubilizadores de fósforo e antagonistas ao fungo *M. oryzae*. Em continuidade ao estudo de Faria et al. (2023), esta pesquisa avalia os efeitos da combinação de *Serratia marcescens*, cepas BRM 32114 e BRM 63523, e *Bacillus toyonensis*, cepa BRM 32110, e silício (Si) na supressão da brusone das panículas, aurícula e lígula, na atividade das enzimas componentes da regulação do estresse oxidativo, e de defesa (PRs), além da produtividade em plantas de arroz de terras altas crescidas em ambiente controlado.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 MICRORGANISMOS

As rizobactérias BRM32114 e BRM63525 (*Serratia marcescens*, NCBI: KX378747 e PP025422), e BRM32110 (*Bacillus toyonensis* NCBI: KX378746) são cepas bacterianas isoladas de plantas de arroz e pertencentes à Coleção Multifuncional de Microrganismos da Embrapa Arroz e Feijão. Os isolados foram multiplicados em placas de Petri contendo meio de cultura Ágar Nutriente (AN) e incubados por 48 h a 28 °C.

### 2.2 MICROBIOLIZAÇÃO DE SEMENTES

As sementes de arroz da cultivar BRS-Esmeralda (ESM) passaram por um processo de desinfestação prévia utilizando hipoclorito de sódio a 0,5% (v/v) por 7 minutos, seguido por imersão em álcool 70% (v/v) durante 5 minutos, sendo posteriormente enxaguadas com água destilada. Os isolados BRM 32114 e BRM 32110 foram cultivados separadamente em caldo nutriente (CN) (8 g L<sup>-1</sup>) a 28 °C por 24 h sob agitação constante a 150 rpm. Em espectrofotômetro ajustado para 540 nm de densidade óptica, a absorbância das suspensões bacterianas de cada um dos isolados foi ajustada (0,5 ABS), de modo que, a concentração atingisse 1x10<sup>8</sup> UFC mL<sup>-1</sup>. Em seguida, foram misturados em volume iguais, e adicionado as sementes onde permaneceram sob agitação a 150 rpm por um período adicional de 24 horas, a 29 °C. As sementes dos tratamentos não microbiolizados, foram imersas em CN e mantidas nas mesmas condições de agitação e temperatura. Ao final do processo, foram espalhadas em papel filtro, dentro da câmara de fluxo laminar para secagem (Filippi et al. 2011).

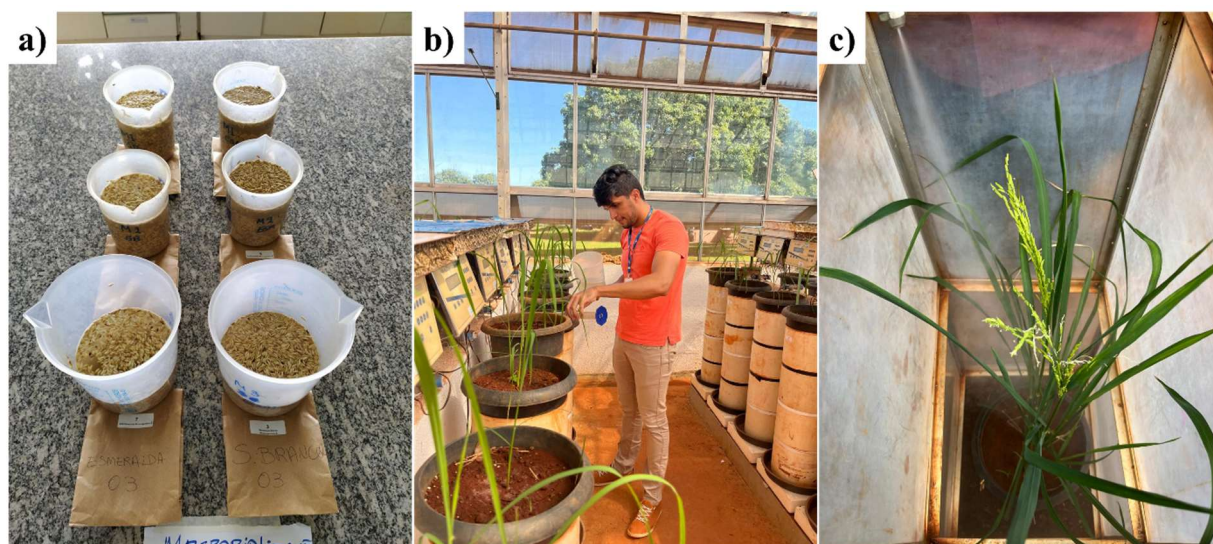
### 2.3 CARACTERIZAÇÃO E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O experimento foi realizado em casa de vegetação na plataforma de fenotipagem de plantas, denominada Sistema Integrado de Tratamento Induzido por Seca (SITIS). Esse sistema está localizado na Embrapa Arroz e Feijão, em Santo Antônio de Goiás, Goiás, Brasil, nas coordenadas 16°28'00" S e 49°17'00" W, a uma altitude de 823 metros. O solo foi coletado em área de Cerrado, classificado como Latossolo Vermelho Distrófico, camada 0–20 cm de área não cultivada, que apresentou as seguintes características químicas: pH = 5,4;  $\text{Ca}^{+2} = 2,2 \text{ mg dm}^{-3}$ ;  $\text{Mg}^{+2} = 0,7 \text{ cmol c dm}^{-3}$ ;  $\text{H}^{+} + \text{Al}^{3+} = 2,5 \text{ cmol c dm}^{-3}$ ;  $\text{P} = 0,3 \text{ mg dm}^{-3}$ ;  $\text{K}^{+} = 79 \text{ mg dm}^{-3}$ ;  $\text{Cu}^{+2} = 2,3 \text{ mg dm}^{-3}$ ;  $\text{Zn}^{+2} = 0,9 \text{ mg dm}^{-3}$ ;  $\text{Fe}^{+3} = 35 \text{ mg dm}^{-3}$ ;  $\text{Mn}^{+2} = 35 \text{ mg dm}^{-3}$ ; e MO = 2,4%. O solo foi suplementado com ureia, sulfato de amônio e cloreto de potássio nas doses de 80 mg/kg de solo, respectivamente, e sulfato de zinco na dose 25 mg/kg. O superfosfato triplo foi utilizado como fonte de fósforo na dose 70 kg/ha. Para adubação silicatada, em cada vaso utilizou-se o silicato de cálcio e magnésio (SiCaMg) contendo 10,5% de silício, 27% de cálcio, 6% de magnésio, na recomendação de 2 t.ha<sup>-1</sup> (Souza et al. 2015).

A semeadura foi realizada em vasos com capacidade de 10 litros colocados sobre balanças digitais para monitorar a quantidade de água em cada vaso. A quantidade de solo em cada vaso correspondeu a 9,2 kg, sendo o solo previamente seco e estabelecido sua capacidade de campo (CC). O teor de água foi monitorado diariamente, mantendo o solo a 80% da CC, durante o período que antecedeu a imposição do déficit hídrico, por meio da reposição diária da água evapotranspirada, denominada Massa de Água de Referência (MRE). A MRE foi calculada pela diferença entre a Massa Máxima do Vaso na Capacidade de Campo (MCV) de 80% (solo + água) e a Massa do Vaso com Solo Seco (MSS), (MRE = MVE–MSS) (Campos et al. 2004). O período de déficit hídrico foi de 8 dias consecutivos, submetido a restrição total de água no estágio reprodutivo (R3 –emissão da panícula)

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizados em esquema fatorial 4 (tratamentos microbianos) x 2 (estressado = Stre e irrigado = Irri) x 2 tipos de adubação silicatada (com silício = +Si; sem silício = -Si) com quatro repetições. Os tratamentos microbianos consistiram de três rizobactérias, *Serratia marcescens*, cepas BRM 32114 e BRM 63523, e *Bacillus toyonensis*, cepa BRM 32110, em 3 formas de aplicação (TS – tratamento de sementes; RG – rega no solo (30 dias após o plantio); PV – pulverização nas plantas (aos 90 dias após o plantio). Os tratamentos microbianos são descritos a seguir: T1 - TS e RG com BRM32114 + BRM32110 e PV com BRM32110; T2 - TS e RG com

BRM32114 + 63523; PV com BRM32114; T3 - TS, RG e PV com BRM32114 + BRM32110 + BRM62523 e T4 - controle negativo, sem tratamento microbiano nas plantas de arroz de terras altas da cultivar BRS Esmeralda. A pulverização das rizobactérias nas plantas de arroz de terras altas foi realizada dentro de gaiola para evitar contaminação entre os tratamentos (Figura 1).

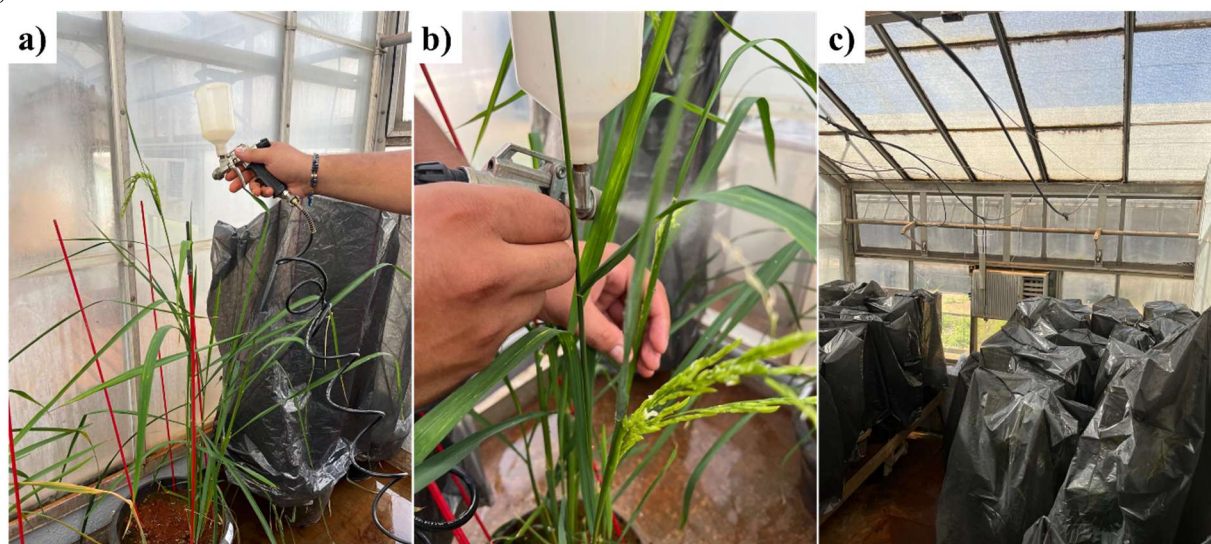


**Figura 1.** Tratamento de sementes -TS (a), rega no solo - RG (b) e pulverização das plantas - PV (c) em gaiolas dos bioagentes nas plantas de arroz de terras altas. Fonte: De Oliveira, 2023

#### 2.4 INOCULAÇÃO COM *M. oryzae*

Utilizou-se o isolado BRM30918 de *M. oryzae*, proveniente da Coleção de Fungos e Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Arroz e Feijão. O isolado foi cultivado em placas de Petri contendo meio ágar-aveia e mantido em câmara de crescimento por sete dias, a 25 °C e 80% de umidade. Decorrido esse período, as estruturas fúngicas foram raspadas das placas com um bastão de vidro esterilizado, visando a retirada do micélio e a indução da produção de conídios. As placas foram devolvidas à câmara de crescimento por mais 48 horas. Após esse período, os conídios foram coletados com água destilada autoclavada. A suspensão contendo água e conídios foi filtrada em tecido de malha fina esterilizado. A contagem de conídios foi realizada com o auxílio de uma câmara de Neubauer, e a suspensão ajustada para  $3 \times 10^5$  conídios mL<sup>-1</sup>, seguindo o protocolo descrito por Filippi et al. (2007). A inoculação com *M. oryzae* foi realizada no oitavo dia de deficiência hídrica nas plantas de arroz de terras altas, após a pulverização das rizobactérias, com o auxílio de uma bomba de pressão e uma pistola de aspersão. As plantas foram pulverizadas com 30 mL da suspensão

de conídios (Filippi et al. 2007). Em seguida, os vasos com as plantas inoculadas foram transferidas para sala de incubação, com condições controladas, com temperatura entre 27 e 30° C e umidade relativa acima de 80 %, e cobertas com saco plástico para formação de câmara úmida e escura nas primeira 24 horas de inoculação. A Irrigação foi retomada normalmente em todos os vasos logo após a inoculação (Figura 2).



**Figura 2.** Inoculação do fungo *M. oryzae* (a e b) e incubação das plantas de arroz de terras altas (c), BRS-Esmeralda cultivada sob condições de deficiência hídrica e irrigação. Fonte: De Oliveira 2023.

## 2.5 AVALIAÇÃO DA INCIDÊNCIA E SEVERIDADE DE BRUSONE E PRODUTIVIDADE

A incidência da brusone na aurícula e lígula foi determinada pela porcentagem da relação entre o número de perfilhos por plantas e do número de perfilho com sintomas. Para a avaliação da severidade da doença nas panícula (PBS%), coletadas aleatoriamente seis panículas de cada repetição e avaliadas usando uma escala de seis notas (0: nenhuma doença observada, 1: <5%, 3: 5–10%, 5: 11–25%, 7: 26–50 % e 9: mais de 50%), de acordo com (IRRI, 2013). Determinou-se também o rendimento de grãos de duas plantas por vasos.

## 2.6 COLETA DE FOLHAS E OBTENÇÃO DO EXTRAÇÃO BRUTO

A coleta das folhas para avaliação das enzimas antioxidantes, das proteínas relacionadas à patogênese e da quantidade de proteínas totais nos extratos brutos de folhas ocorreu após a pulverização das rizobactérias (90 dias após a semeadura). As folhas coletadas foram armazenadas em ultra freezer (-80 °C) para posterior processamento. Para

obteção dos extratos brutos, as folhas foram maceradas em nitrogênio líquido e 0,1 g do pó de folha foi pesado e adicionado a 2 mL de tampão de extração composto por: Tris-HCL 10 mM; NaCl 150 mM; EDTA 2 mM; pH 7,0. O extrato obtido foi, então, agitado por 1 minuto e centrifugado sob refrigeração (4°C) por 30 minutos a 13000 x g. O sobrenadante (extrato bruto) foi transferido para novos tubos para dosagem de proteínas e ensaios enzimáticos

## 2.7 QUANTIFICAÇÃO DE ENZIMAS RELACIONADAS À PATOGÊNESE

### 2.7.1 Atividade de quitinase (CHI, EC 3.2.1.14)

A atividade da CHI foi determinada pelo método de Pan et al. (1991) e Babu et al. (2003), com modificações para a cultura do arroz, utilizando 100 µL dos extratos de cada amostra em triplicata, acrescentando-se 300 µL de quitina coloidal 1% em tampão acetato de sódio a 1,0 M e pH 5,0. A reação foi homogeneizada e incubada por 24 horas. A quantificação do produto da reação foi feita pelo método do DNS (ácido dinitrossalicílico) 1%, acrescentando 1 mL em cada amostra e aquecido em banho-maria (100°C). Após resfriamento, 100 µL foram transferidos para placas de ELISA e a leitura foi realizada em espectrofotômetro em comprimento de onda 540 nm. Uma unidade de atividade enzimática foi definida como a produção de 1 µmol de açúcar redutor por minuto por miligrama de proteína.

### 2.7.2 β-1,3- glucanase (GLU, EC 3.2.1.6)

A atividade da GLU foi realizada conforme metodologia proposta por de Pan et al. (1991), com modificações para cultura do arroz. Em tudo de 2 mL, foi adicionado 100 µL do extrato, 300 µL laminarina 1% em tampão acetato de sódio (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) 100 mM, pH 4,5. A reação foi homogeneizada e incubada por 2 horas em temperatura ambiente. Após esse período, a reação foi paralisada com DNS (ácido 3,5-dinitrossalicílico) 1%, permanecendo por 5 min em banho-maria (100°C). Após resfriamento, 100 µL foram transferidos para placas de ELISA e a leitura foi realizada em espectrofotômetro em comprimento de onda 540 nm. A unidade de atividade de β-glucanase foi definida como o número de µmol de açúcares redutores liberados por min/mg/proteína.

### 2.7.3 Atividade de Lipoxigenase (LOX, EC 1.13.11.12)

A atividade da POX foi determinada pelo método descrito por Axelrod et al. (1981) com modificações, utilizando como substrato o ácido linoléico 1% em tampão fosfato 50 mM e pH 6,0, adicionando-se 50 µL do extrato de cada amostra em triplicata. A reação foi

homogeneizada e incubada por 24 h a 25 °C. A atividade foi determinada em espectrofotômetro Spectrum SP-2000 UV com comprimento de onda igual a 234 nm e expressa em  $\mu\text{mol}$  de hidroperóxido do ácido linoléico oxidado por minuto, por mg de proteína.

#### **2.4 Atividade de Fenilalanina amônia-liase (PAL EC 4.3.1.5)**

A atividade da PAL foi determinada pela quantificação do produto gerado (ácido trans-cinâmico) pela hidrólise do substrato L – fenilalanina, pelo método descrito por Alunni et al. (2003) modificado, utilizando-se 1,5 mL de solução de fenilalanina 10 mM em tampão borato 100 mM e pH 9,0. Adicionou-se 50  $\mu\text{L}$  de cada amostra dos extratos em triplicata. A reação foi homogeneizada e incubada por 24 h a temperatura ambiente. A leitura foi realizada em espectrofotômetro Spectrum SP-2000 UV com comprimento de onda igual a 290 nm. A atividade enzimática foi definida como a quantidade de ácido transcinâmico produzido em microgramas, por mg/proteína (Chaibub et al. 2016).

### **2.8 QUANTIFICAÇÃO DE ENZIMAS ANTIOXIDANTE**

A coleta do material seguiu o mesmo procedimento do item 2.5. O extrato foi obtido utilizando 0,1 g do pó macerado em 2 mL de uma solução extratora (tampão de fosfato de potássio 100  $\text{mmol.L}^{-1}$ ; EDTA 12 mM; 1,3  $\text{mmol.L}^{-1}$  ditioneitol (DTT), 2% de PVPP), pH 7,0. Em seguida, a solução foi agitada por 1 minuto e centrifugada sob refrigeração (4°C) por 25 minutos a 10000 rpm. O sobrenadante foi transferido para novos tubos para os ensaios enzimáticos.

#### **2.8.1 Superoxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1)**

A atividade foi determinada pela metodologia de Sun (1988) com adaptações para cultura do arroz, por duas reações: a amostra e branco da amostra, ambos constituíram na adição de 50  $\mu\text{L}$  do extrato foliar em 2 mL de tampão de determinação (tampão fosfato de sódio 50 mM, pH 7,8), 250  $\mu\text{L}$  metionina (13 mM), 250  $\mu\text{L}$  azul de p-nitro-tetrazólio (NBT) (0,4 mM); 250  $\mu\text{L}$  EDTA (12 mM) e 250  $\mu\text{L}$  riboflavina (0,01 mM). A reação ocorreu a 25°C sob exposição à luz para a amostra e na ausência de luz para o branco da amostra. Após 10 min de exposição à luz, a iluminação foi interrompida e a formação azul, produzida pela foto-redução do NBT, foi medida em espectrofotômetro a 560 nm, em ambas as amostras (iluminado e não iluminado) (Del Longo et al. 1993). Uma unidade da SOD foi definida

como a quantidade de enzima necessária para inibir em 50% a foto-redução do NBT (Beauchamp & Fridovich, 1971).

### **2.8.2 Catalase (CAT, EC. 1.11.1.6)**

A atividade foi determinada pela metodologia de Kar e Mishra (1976) com adaptações para cultura do arroz. A mistura foi constituída de 1950  $\mu\text{L}$  do tampão de determinação (tampão fosfato de potássio 100 mM, pH 7,5), 150  $\mu\text{L}$  solução extratora e 750  $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (50 nM). A reação foi iniciada pela adição de 150  $\mu\text{L}$  do extrato foliar e a atividade foi determinada pelo consumo de  $\text{H}_2\text{O}_2$  durante 5 min, em intervalos de 30 s no espectrofotômetro a 240 nm. O coeficiente de extinção molar de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Anderson et al. 1995) foi usado para determinar a atividade específica da CAT, a qual foi expressa em  $\text{U}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$  de proteína.

### **2.8.3 Peroxidase (POX EC 1.11.1.7)**

A atividade da POX foi avaliada medindo a taxa de oxidação do 2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolína-6-sulfônico) por sua propriedade colorimétrica usando solução ABTS (0,4 mg  $\text{mL}^{-1}$ ) em tampão acetato de sódio (1,0 mL) a 0,1 M (pH 4,0) 200  $\mu\text{L}$  de peróxido de hidrogênio (50 mM), 50  $\mu\text{L}$  do extrato, e analisados em espectrofotômetro (405 nm). Uma unidade foi definida como a atividade enzimática necessária para catalisar a formação de ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolína-6-sulfônico) necessária para aumentar a absorvância em 1 unidade por hora (Cortes et al. 2008).

### **2.8.4 Ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.11.)**

A atividade foi determinada pela metodologia de Nakano & Asada (1981) com adaptações para cultura do arroz. A mistura foi constituída de 1400  $\mu\text{L}$  do tampão de determinação (tampão fosfato de potássio 100 mM, pH 7,5), 50  $\mu\text{L}$  de EDTA (12 mM), 300  $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 200  $\mu\text{L}$  de ácido ascórbico (50 nM). A reação foi iniciada pela adição de 150  $\mu\text{L}$  do extrato foliar e a atividade foi determinada pelo consumo do ácido ascórbico durante 3 min, em intervalos de 10 s no espectrofotômetro a 240 nm. A atividade da APX foi expressa em  $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$  de proteína.

## 2.9 INDICADORES BIOQUÍMICAS

### 2.9.1 Peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

Amostras contendo 250 mg de tecido foliar foram macerados em nitrogênio líquido, homogeneizados em 1,5 mL de ácido tricloroacético (TCA) 0,1% e centrifugados a 12.000 g por 15 min, a 4°C. O sobrenadante foi utilizado para determinação do teor de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) medido em espectrofotômetro por meio da leitura da absorbância em 390 nm. Uma curva de calibração foi obtida com soluções padrão de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> preparadas em TCA 0,1% utilizada para quantificação (Junglee et al. 2014).

### 2.9.2 Teores de Pigmentos

Os pigmentos clorofila (Chl a), clorofila b (Chl b) e carotenoides foram determinados com o método proposto por Pignata et al. (2002). Amostras de 0,120 g das folhas maceradas em nitrogênio líquido foram homogeneizadas em 5mL de acetona 80%. O sobrenadante foi lido em espectrofotômetro, em comprimento de onda 645 nm para Chl a, 652 nm para Chl b e 470 nm para carotenoides. Os resultados foram expressos em mg.g<sup>-1</sup> de massa fresca.

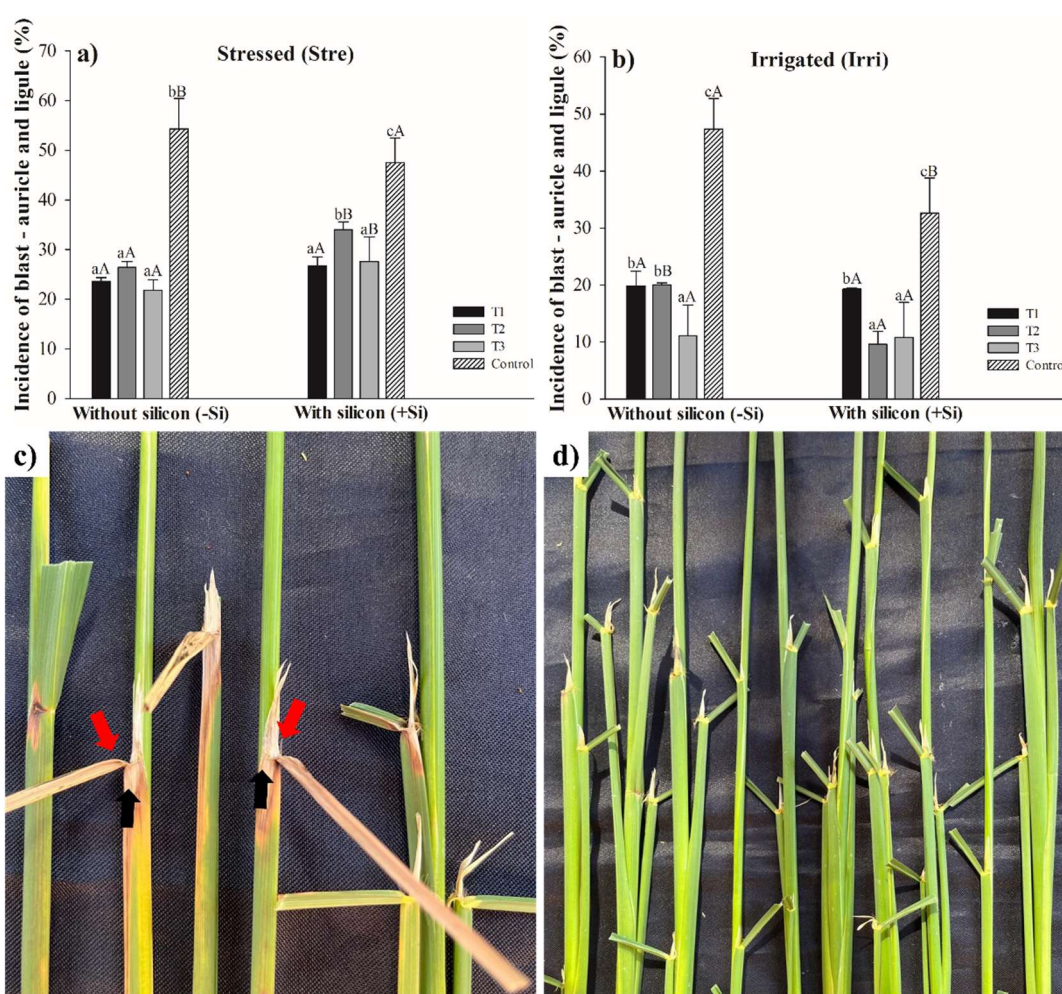
## 3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Utilizou-se o programa SIVAR versão 5.3 (FERREIRA, 2001) para a análise de variância (ANOVA) em esquema fatorial de 4 (tratamentos) x 2 (-Si e + Si) em ensaio com deficiência hídrica e irrigado. Quando o teste F foi significativo, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Os gráficos da análise fatorial foram criados usando o software Sigma Plot 12.0.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 INCIDÊNCIA DE BRUSONE NA AURÍCULA E LÍGULA

A análise estatística fatorial mostrou interação significativa ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos microbianos, regime hídrico e adubação silicatada. Plantas de arroz de terras altas tratadas com as rizobactérias BRM 32114 e BRM 63523 (*S. marcescens*) e BRM 32110 (*B. toyonensis*), cultivadas tanto sob deficiência hídrica quanto irrigação, e na presença ou ausência de adubação silicatada, apresentaram menor incidência de brusone na aurícula e lígula (Figura 3).

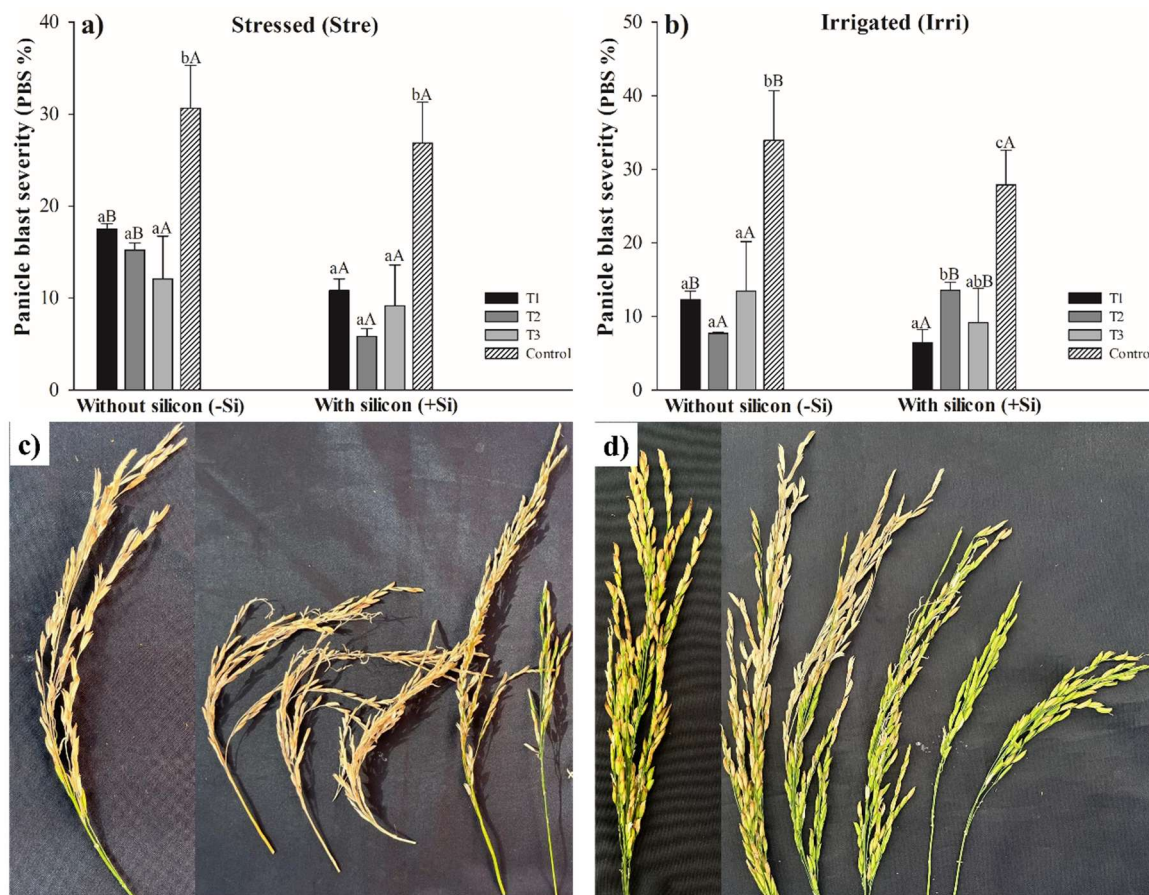


**Figura 3.** Incidência de brusone na aurícula e lígula em plantas de arroz de terras altas cultivadas em condições de déficit hídrico (Stre) e irrigado (Irri) com (+Si) e sem silício (-Si). c) seta preta: brusone na aurícula, seta vermelha: brusone na lígula. d) perfilho do tratamento irrigado com silício (T3). T1: BRM32114+32110 (TS e RG), BRM32110 (PV); T2: BRM32114+63523 (TS e RG), BRM32114 (PV); T3: BRM32114 + BRM32110 + BRM63523 (TS, RG, PV); T4: controle (sem bactérias). Médias ( $n = 4$ ) seguidas por letras minúsculas diferentes dentro de cada condições (-Si e +Si), são significativamente diferentes em  $P = 0,05$ . As médias ( $n = 4$ ) seguidas por diferentes letras maiúsculas entre as condições (-Si e +Si) são significativamente diferentes em  $P = 0,05$ , de acordo com a análise fatorial usando o software SISVAR.

Sob condições de cultivo em Stre e -Si, as plantas tratadas com rizobactérias em T1, T2 e T3 foram semelhantes entre si com redução de até 58% na incidência de brusone na aurícula e na lígula, quando comparado com o controle. Nas condições de Stre e +Si, T1 (*S. marcescens* (BRM 32114) + *B. toyonensis* (TS e RG), *B. toyonensis* (PV)) e T3 (*S. marcescens* (BRM 32114 e 63523) + *B. toyonensis* (TS, RG, PV)) apresentaram menor incidência da doença, e quando comparados ao controle, observa-se uma redução de 44%. Na análise fatorial comparando o cultivo -Si e +Si, T2 (*S. marcescens* (BRM 32114 e BRM 63523) (TS e RG), *S. marcescens* (BRM 32114) (PV)); e T3 apresentaram menor incidência da doença no cultivo -Si. O controle foi melhor no cultivo +Si, enquanto T1 foi semelhante. Em condições de cultivo Irri e -Si, T3 apresentou menor incidência da doença, redução de 77% comparada ao controle. Sob condições de cultivo em Irri e +Si, T2 e T3 e apresentaram menor incidência, comparado com controle reduziram em 70%. Na análise fatorial entre -Si e +Si, os tratamentos controle e T2 apresentaram menor incidência da doença em +Si, enquanto T1 e T3 foram semelhantes (Figura 3).

#### 4.2 SEVERIDADE DE BRUSONE NA PANÍCULA

A análise estatística fatorial revelou uma interação significativa ( $P < 0,05$ ) entre os diferentes tratamentos avaliados. As plantas de arroz de terras altas tratadas com o mix dos isolados BRM 32114 (*S. marcescens*) e BRM 32110 (*B. toyonensis*), cultivadas tanto em condições de déficit hídrico quanto em sistema irrigado, com e sem suplementação de silício, apresentaram uma redução significativa na severidade de brusone na panícula (PBS) (Figura 4).

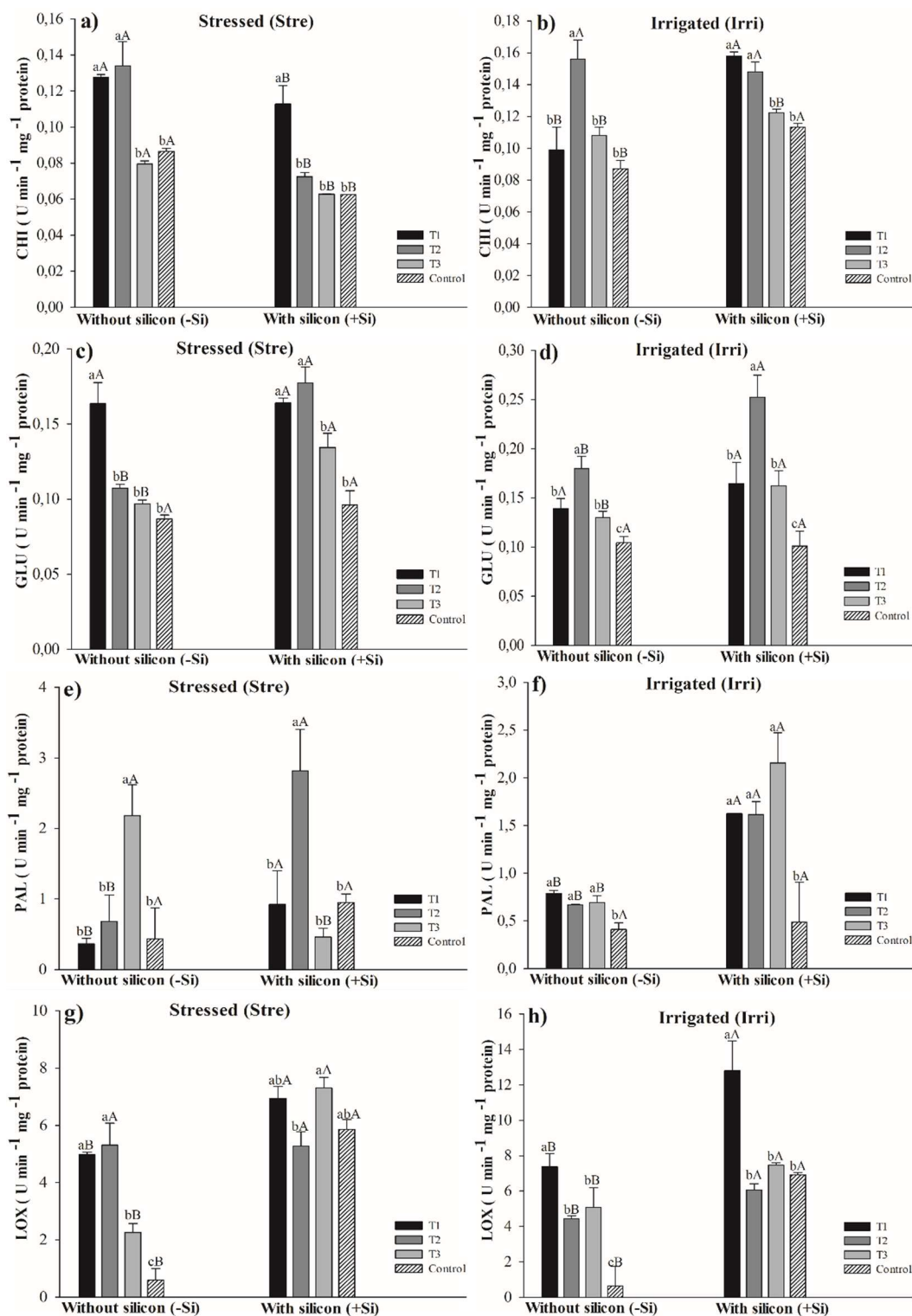


**Figura 4.** Severidade de brusone na panícula de arroz de terras altas cultivado em condições de deficit hídrico (a) e irrigado (b) com (+Si) e sem (+Si) silício. c) = panículas do tratamento controle sem silício. d) panículas do T1 irrigado. T1: BRM32114+32110 (TS e RG), BRM32110 (PV); T2: BRM32114+63523 (TS e RG), BRM32114 (PV); T3: BRM32114 + BRM32110 + BRM63523 (TS, RG, PV); T4: controle (sem bactérias). Médias ( $n = 4$ ) seguidas por letras minúsculas diferentes dentro de cada condições (-Si e +Si), são significativamente diferentes em  $P = 0,05$ . As médias ( $n = 4$ ) seguidas por diferentes letras maiúsculas entre as condições (-Si e +Si) são significativamente diferentes em  $P = 0,05$ , de acordo com a análise fatorial usando o software SISVAR

Sob condições de Stre, as plantas tratadas com rizobactérias em T1, T2 e T3 foram semelhantes entre si e demonstraram uma redução na PBS comparada com o controle de 78% (-Si) e 60% (+Si). Na análise fatorial comparando o cultivo -Si e +Si, T1 e T2 apresentaram menor incidência da doença em +Si, enquanto T3 e controle foram semelhantes. Em condições Irri e -Si, os tratamentos com as rizobactérias foram semelhantes entre si e apresentaram menor incidência da doença em relação ao controle, redução de até 80%. Sob condições Irri e +Si, T1 e apresentou menor incidência, comparado com controle reduziu em 77%. Na análise fatorial entre os cultivos -Si e +Si, os tratamentos T2 e T3 apresentaram menor incidência da doença no cultivo -Si, enquanto T1 e o controle tiveram menor incidência no cultivo +Si (Figura 4).

### 4.3 ATIVIDADE DAS ENZIMAS DE DEFESA

A análise estatística fatorial mostrou interação significativa ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos. As combinações das rizobactérias *S. marcescens* e *B. toyonensis* mais fertilização com Si induziram aumentos na atividade de enzimas envolvidas na defesa da planta na cultivar BRS Esmeralda cultivada sob condições de cultivo Stre e Irri (Figura 5).



**Figura 5.** Atividade das enzimas de defesa (a e b)–CHI, (c e d)–GLU, (e e f)–PAL, (g e h)–LOX, na cultivar de arroz de terras altas BRS Esmeralda, tratadas e não tratadas com rizobactérias, com e sem Si, cultivada em condições de estresse hídrico (Stre) e irrigado (Irri). T1: BRM32114+32110 (TS e RG), BRM32110 (PV); T2: BRM32114+63523 (TS e RG), BRM32114 (PV); T3: BRM32114 + BRM32110 + BRM63523 (TS, RG, PV). Médias ( $n = 4$ ) seguidas por letras minúsculas diferentes dentro de cada condições (-Si e +Si), são significativamente diferentes em  $P = 0,05$ . As médias ( $n = 4$ ) seguidas por diferentes letras maiúsculas entre as condições (-Si e +Si) são significativamente diferentes em  $P = 0,05$ , de acordo com a análise fatorial usando o software SISVAR

CHI: Sob condições de cultivo Stre e -Si, plantas tratadas com rizobactérias em T1 e T2 tiveram maior atividade enzimática, com aumento de 66% em relação ao controle. Em cultivo Stre e +Si, T1 destacou-se com aumento de 80%. Na análise fatorial comparativa os cultivos -Si e +Si, todos os tratamentos apresentaram maior atividade enzimática em cultivo Stre e -Si. Sob cultivo Irri e -Si, T2 apresentou o maior aumento, de 79% em relação ao controle. Já em cultivo Irri e +Si, T1 e T2 tiveram aumento de 43% comparado ao controle. Na comparação -dos cultivo -Si e +Si, T1 e controle mostraram maior atividade enzimática no cultivo +Si, enquanto T2 e T3 foram semelhantes (Figura 5).

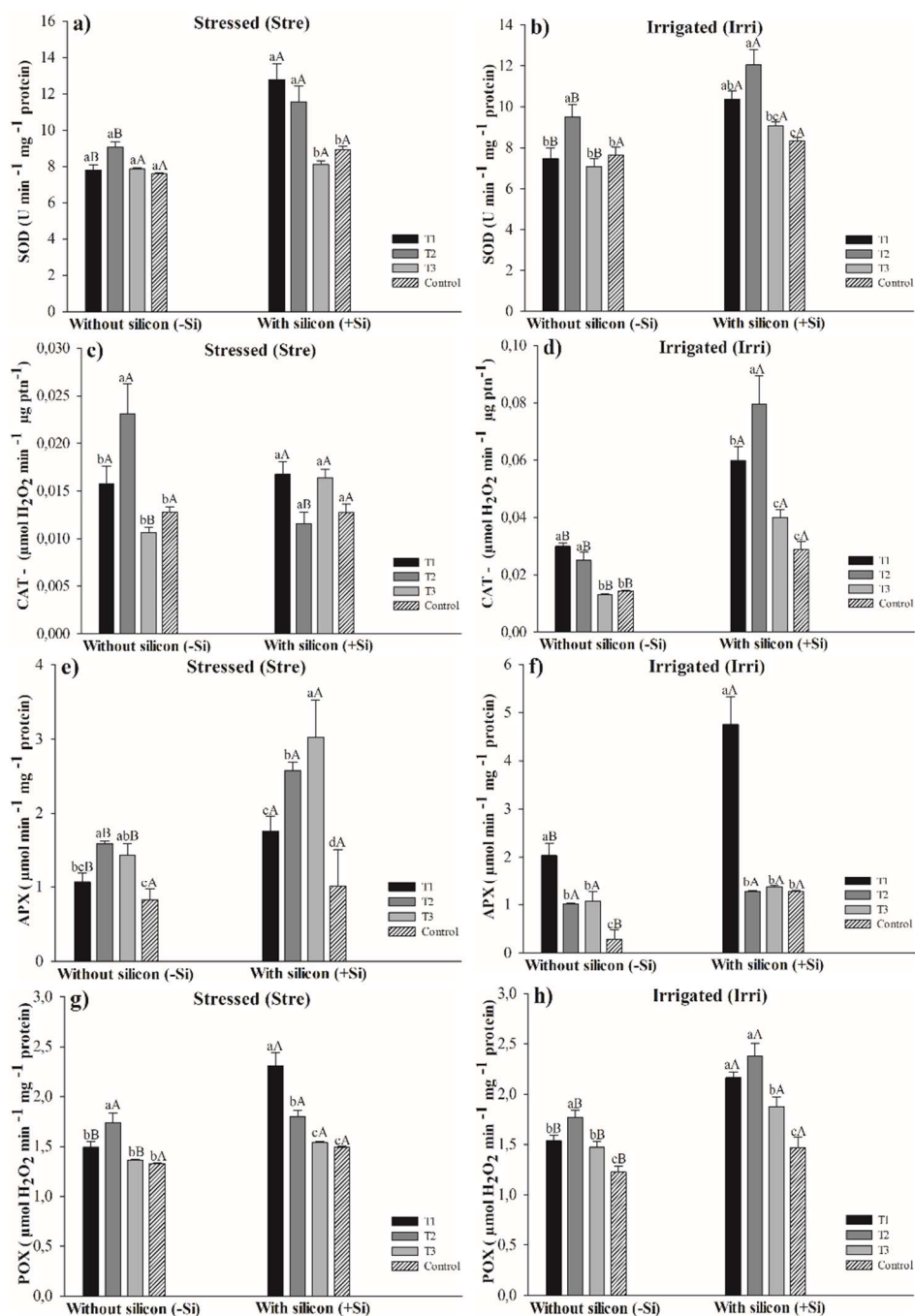
GLU: Nas condições de cultivo Stre e -Si, T1 apresentou maior atividade enzimática, aumentou em 89% comparado ao controle. Nas condições cultivo Stre e +Si, a maior atividade foi em T1 e T2, aumentaram em 84% em relação ao controle. Na análise fatorial comparando -os cultivos -Si e +Si em condições de Stre, os tratamentos T2 e T3 apresentaram maior atividade enzimática e +Si, enquanto T1 e controle foram semelhantes. Sob condições de cultivo Irri, T2 apresentou maior atividade enzimática -Si e +Si, aumentou em 72 e 149% em relação ao controle, respectivamente. Na análise fatorial comparando os cultivos -Si e +Si em condições Irri, todos os tratamentos apresentaram maior atividade enzimática no cultivo +Si (Figura 5).

PAL: Sob condições de cultivo Stre e -Si, T3 apresentou maior atividade enzimática, aumentou 499% comparado com controle. Em cultivo Stre e +Si, T2 apresentou maior atividade, incremento de 511% em relação ao controle. Na análise fatorial comparando os cultivos -Si e +Si em condições de Stre, T1 e T2 apresentaram maior atividade em cultivo +Si, T3 em -Si, enquanto controle foi semelhante entre as condições. Sob condições cultivo Irri, tanto em no cultivo -Si e +Si, os tratamentos com as rizobactérias foram semelhantes entre si e superiores ao controle, aumentaram em até 92 e 339%, respectivamente. Na análise fatorial comparando os cultivos -Si e +Si em condições Irri, T1, T2 e T3, apresentaram maior atividade enzimática no cultivo +Si, enquanto o controle foi semelhante (Figura 5).

POX: Sob condições de cultivo Stre e -Si, T1 e T2 tiveram maior atividade enzimática, com aumento de 803% em relação ao controle. Em cultivo Stre e +Si, os tratamentos T1, T3 e controle foram semelhantes. Na análise fatorial comparativa do cultivo -Si e +Si, T1, T3 e controle, apresentaram maior atividade enzimática em +Si, enquanto T2 foi semelhante. Sob condições cultivo Irri, T1 apresentou maior atividade tanto no cultivo -Si quanto +Si, aumento de 1045 e 111%, respectivamente. Na comparação dos cultivos -Si e +Si, todos os tratamentos apresentaram maior atividade enzimática em +Si (Figura 5).

## 4.4 ATIVIDADE DAS ENZIMAS ANTIOXIDANTES

A análise fatorial revelou interação significativa ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos. As combinações de *S. marcescens* e *B. toyonensis* mais Si aumentaram a atividade de enzimas antioxidantes na cultivar BRS Esmeralda cultivada em condições de cultivo Stre e Irri (Figura 6).



**Figura 6.** Atividade das enzimas antioxidantes (a e b)–SOD, (c e d)–CAT, (e e f)–APX, (g e h)–POX, da cultivar de arroz de terras altas BRS Esmeralda, tratadas e não tratadas com rizobactérias, com e sem Si, cultivada em condições de estresse hídrico (Stre) e irrigado (Irri). T1: BRM32114+32110 (TS e RG), BRM32110 (PV); T2: BRM32114+63523 (TS e RG), BRM32114 (PV); T3: BRM32114 + BRM32110 + BRM63523 (TS, RG, PV). Médias ( $n = 4$ ) seguidas por letras minúsculas diferentes dentro de cada

condições (-Si e +Si), são significativamente diferentes em  $P = 0,05$ . As médias ( $n = 4$ ) seguidas por diferentes letras maiúsculas entre as condições (-Si e +Si) são significativamente diferentes em  $P = 0,05$ , de acordo com a análise fatorial usando o software SISVAR

SOD: Sob condições de cultivo Stre e -Si, os tratamentos foram semelhantes entre si. Em cultivo Stre e +Si, destacaram-se T1 e T2, aumento de 57% comparado ao controle. Na análise fatorial comparando os cultivos -Si e +Si, T1 e T2 mostraram maior atividade enzimática em +Si, enquanto T3 e controle foram semelhantes. Já nas condições de cultivo Irri, T2 destacou-se em -Si e +Si, aumentou a atividade enzimática em 34 e 44%, respectivamente, em relação ao controle. Na comparação dos tratamentos em cultivo -Si e +Si, T1, T2 e T3 mostraram maior atividade enzimática em +Si, enquanto controle foi semelhante (Figura 6).

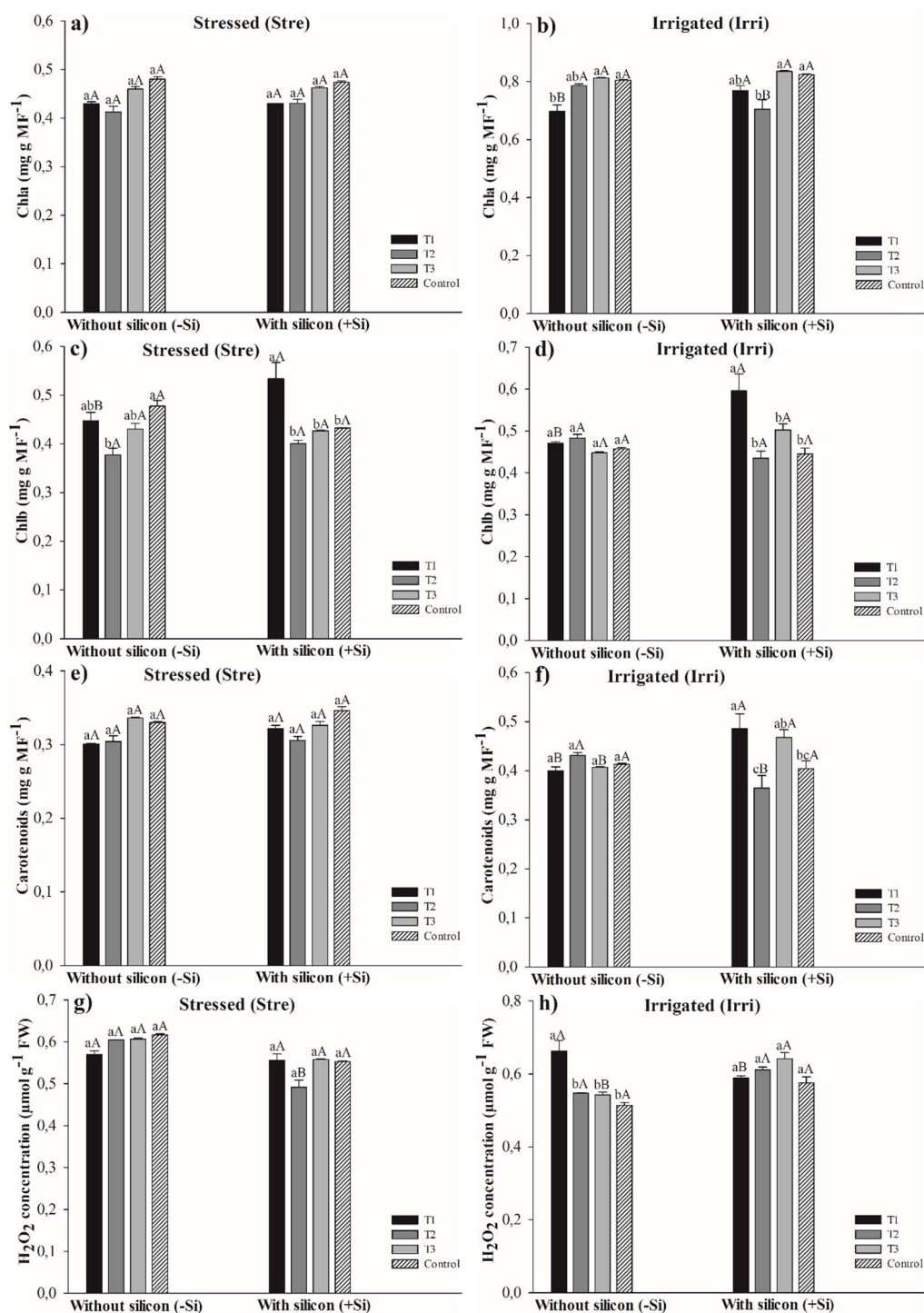
CAT: Sob cultivo Stre e -Si, T2 destacou-se, com aumento de 123% na atividade enzimática em relação ao controle. Sob cultivo Stre e -Si, os tratamentos foram semelhantes. Na comparação fatorial dos tratamentos entre os cultivos -Si e +Si, T2 apresentou maior atividade em -Si, T3 em +Si, enquanto T1 e controle foram semelhantes. Sob cultivo Irri e -Si, T1 e T2 destacaram-se, com aumento de 123% na atividade enzimática em relação ao controle. Sob cultivo Stre e +Si, T2 destacou-se, com aumento de 182% na atividade enzimática em relação ao controle. Na comparação dos tratamentos em cultivo -Si e +Si, todos mostraram maior atividade enzimática em +Si (Figura 6).

APX: Sob condições de cultivo Stre e -Si, T2 apresentou aumento de 93% na atividade enzimática em relação ao controle. Em cultivo Stre e +Si, T3 teve maior atividade, com aumento de 200% em relação ao controle. Na análise fatorial, T1, T2 e T3 tiveram maior atividade enzimática em +Si, enquanto o controle foi semelhante. Sob cultivo Irri, T1 destacou-se com aumentos de 627% em -Si e 274% em +Si, comparados ao controle. Na análise fatorial, T1 e controle foram superiores em cultivo +Si, enquanto T2 e controle foram semelhantes (Figura 6).

POX: Sob condições de cultivo Stre e -Si, T2 destacou-se, com aumento de 31% na atividade enzimática em relação ao controle. Em no cultivo Stre e +Si, T1 apresentou maior atividade, aumento de 55% comparado ao controle. Na análise fatorial comparativa entre tratamentos nos cultivos -Si e +Si, T1 e T3 mostraram maior atividade enzimática em +Si, enquanto T2 e controle foram semelhantes. Já nas condições cultivo Irri -Si, T2 destacou-se, com aumento de 44%. Em cultivo Irri e +Si, T1 e T2 apresentaram maior atividade, aumento de 61%. Na comparação dos tratamentos em -Si e +Si, todos os tratamentos mostraram maior atividade enzimática em +Si (Figura 6).

## 4.5 INDICADORES BIOQUÍMICOS

A análise fatorial demonstrou interação significativa ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos. As combinações de *S. marcescens* e *B. toyonensis* com Si, apresentaram maiores quantidades de indicadores bioquímicos na cultivar BRS Esmeralda sob condições de cultivo Stre e Irri (Figura 7).



**Figura 7.** Atividade dos indicadores bioquímicos (a e b)–Chl-a, (c e d)–Chl b, (e e f)–Carotenoides, (g e h)–H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, da cultivar de arroz de terras altas BRS Esmeralda, tratadas e não tratadas com rizobactérias, com e sem

Si, cultivada em condições de estresse hídrico (Stre) e irrigado (Irri). T1: BRM32114+32110 (TS e RG), BRM32110 (PV); T2: BRM32114+63523 (TS e RG), BRM32114 (PV); T3: BRM32114 + BRM32110 + BRM63523 (TS, RG, PV). Médias ( $n = 4$ ) seguidas por letras minúsculas diferentes dentro de cada condições (-Si e +Si), são significativamente diferentes em  $P = 0,05$ . As médias ( $n = 4$ ) seguidas por diferentes letras maiúsculas entre as condições (-Si e +Si) são significativamente diferentes em  $P = 0,05$ , de acordo com a análise fatorial usando o software SISVAR

Chla: Sob condições de cultivo Stre, -Si e +Si, e na análise fatorial, os tratamentos foram semelhantes entre si. Em condições de cultivo Irri -Si, os tratamentos foram semelhantes entre si, exceto T3. Já nas condições de cultivo Irri +Si, os tratamentos foram semelhantes entre si, exceto T2. Na comparação dos tratamentos nos cultivos -Si e +Si, T1 mostrou maior atividade enzimática em +Si, T2 em -Si, enquanto T3 e controle foram semelhantes (Figura 7).

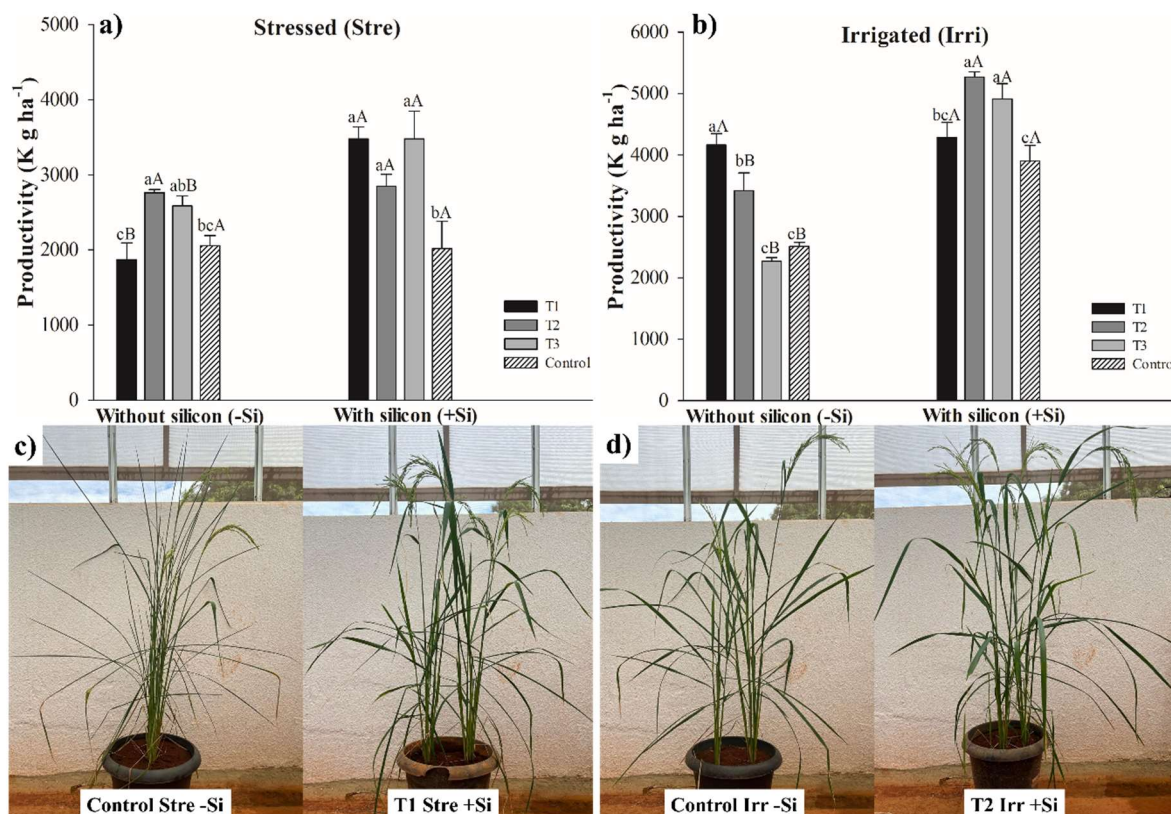
Chlb: Sob condições de cultivo Stre e -Si, os tratamentos foram semelhantes entre si, exceto T2. Em cultivo Stre e +Si, T1 destacou-se com aumento 33% em relação ao controle. Na comparação dos tratamentos no cultivo -Si e +Si, T1 mostrou maior teor de Chlb em +Si, enquanto os demais tratamentos foram semelhantes (Figura 5). Em condições cultivo Irri -Si, os tratamentos foram semelhantes entre si. Já nas condições de cultivo Irri +Si, T1 destacou-se com aumento de 37% comparado com o controle. Na comparação dos tratamentos nos cultivos -Si e +Si, T1 apresentou maior quantidade em +Si, e os demais tratamentos foram semelhantes (Figura 7).

Carotenoides: Sob condições de cultivo Stre, -Si e +Si, e na análise fatorial, os tratamentos foram semelhantes. Nas condições de cultivo Irri, os tratamentos diferiram apenas em +Si, com destaque para T1 com maior teor de pigmento, aumento de 33%. Na comparação dos tratamentos nos cultivos -Si e +Si, T1 e T3 apresentaram maior teor de pigmento em +Si, T2 em -Si, e controle foi semelhantes (Figura 7).

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Sob condições de cultivo Stre, -Si e +Si, os tratamentos foram semelhantes. Na comparação dos tratamentos em -Si e +Si, T2 apresentou maior teor em -Si, os demais tratamentos foram semelhantes. Nas condições de cultivo Irri -Si, T1 destacou-se, aumentou em 28% comparado com controle. Já em cultivo Irri +Si, não houve diferença significativa. Na comparação dos tratamentos em -Si e +Si, T1 e T3 apresentam maior quantidade em -Si, enquanto T2 e controle foram semelhantes (Figura 7).

#### 4.6 PRODUTIVIDADE DA CULTIVAR BRS ESMERALDA

A análise estatística fatorial mostrou interação significativa ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos. As combinações das rizobactérias *S. marcescens* e *B. toyonensis* e Si aumentou a produtividade da cultivar BRS Esmeralda cultivada sob condições de cultivo Stre e Irri (Figura 8).



**Figura 8.** Produtividade da cultivar BRS Esmeralda submetida a tratamentos com rizobactérias e Si cultivadas em condições de estresse hídrico (a) e irrigado (b), tratadas e não tratadas com rizobactérias, com (+Si) e sem (-Si) Si, cultivada em condições de estresse hídrico (Stre) e irrigado (Irri). T1: BRM32114+32110 (TS e RG), BRM32110 (PV); T2: BRM32114+63523 (TS e RG), BRM32114 (PV); T3: BRM32114 + BRM32110 + BRM63523 (TS, RG, PV); T4: controle (sem bactérias). Médias ( $n = 4$ ) seguidas por letras minúsculas diferentes dentro de cada condições (-Si e +Si), são significativamente diferentes em  $P = 0,05$ . As médias ( $n = 4$ ) seguidas por diferentes letras maiúsculas entre as condições (-Si e +Si) são significativamente diferentes em  $P = 0,05$ , de acordo com a análise fatorial usando o software SISVAR

Sob cultivo Stre e -Si, T2 e T3 tiveram produtividade 47% superior ao controle (2.761,0 vs. 1.870,0 kg/ha). Em cultivo Stre e +Si, os tratamentos microbiolizados foram semelhantes (3.479,8 kg/ha) e 72% superiores ao controle (2.015,6 kg/ha). Entre os cultivos -Si e +Si, T1 e T3 apresentaram maior produtividade em +Si. Sob cultivo Irri e -Si, T1 destacou-se (4.164,0 kg/ha), 83% acima do controle (2.267,0 kg/ha). Em cultivo Irri e +Si, T2 e T3 obtiveram produtividade 35% superior ao controle (5.267,8 vs. 3.904,7 kg/ha). Na comparação dos cultivos -Si e +Si, T2, T3 e controle se destacaram em +Si. T2 manteve produtividade semelhante em ambas as condições (Figura 8).

## 5 DISCUSSÃO

O cultivo de arroz de terras altas é limitado tanto por fatores abióticos, como o déficit hídrico, quanto por fatores bióticos, como a brusone. A brusone, causada pelo fungo *Magnaporthe oryzae*, é uma doença devastadora as partes aéreas da planta, resultando em perdas severas de produtividade (Rais et al. 2016). Seu manejo integra práticas culturais, resistência genética e controle químico, mas a complexidade do fungo *M. oryzae* leva a aplicações excessivas e, muitas vezes, desnecessárias de fungicidas (Silva-Lobo et al. 2012). Além disso, a escassez de água é uma das principais limitações à produção agrícola em todo o mundo, tendência que deve se agravar no futuro. A seca também limita o cultivo do arroz de terras altas, resultando na absorção insuficiente de água pelas plantas e afetando muitos processos bioquímicos, moleculares e fisiológicos vegetais (Hodson & Bryant, 2012). Medidas sustentáveis, como o uso de agentes biológicos e Si, podem suprimir a severidade da brusone, mitigar os estresses causados pela seca, e promover o crescimento das plantas. Essa combinação apresenta-se como componente em potencial para ser integrado ao manejo das doenças do arroz, porque pode melhorar a resiliência do cultivo de arroz de terras altas sob os desafios apresentados pela brusone, e pelo déficit hídrico (Abd El-Mageed et al. 2022). As rizobactérias têm ganhado destaque na indução de resistência a estresses bióticos e abióticos. No manejo de doenças como a brusone, atua como agentes de biocontrole e indutor, reduzindo a severidade da doença. O silício, é reconhecido por aumentar a resistência estrutural e bioquímica das plantas, atuando também na mitigação do déficit hídrico (Etesami, 2018; Souza et al. 2015).

O controle de doenças com a utilização de agentes biológicos é uma estratégia promissora que pode ser empregada de forma isolada, ou integrada, a outros métodos sustentáveis (Dubey et al. 2015). No presente estudo, avaliamos o efeito sinérgico da combinação das rizobactérias BRM32114 e BRM63523 (ambas *S. marcescens*) e BRM32110 (*B. toyonensis*), em diferentes métodos de aplicação, com Si, para suprimir a brusone da panícula, aurícula e lígula, em plantas de arroz de terras altas, cultivadas em plataforma de fenotipagem do Sistema Integrado de Tratamento Induzido pela Seca (SITIS), em condições de cultivo Stre e Irri. A combinação desses bioagentes e Si suprimiu a brusone na aurícula e lígula em 59% em condições de cultivo Stre e 77% no cultivo Irri (Figura 3). O efeito sinérgico também reduziu a severidade de brusone nas panículas (PSB) em 78% no cultivo Stre, e 80% no cultivo Irrig. Estudos recentes conduzidos por nossa equipe obtiveram resultados promissores no controle de brusone. Plantas de arroz de terras altas tratadas com

*Burkholderia cepacia* (BRM 32111) e Si suprimiram a brusone em 87,96% em condições irrigado; e 84,13% em condições estressada, em relação às plantas controle (Faria et al. 2023). De Oliveira et al (2025) relataram o efeito sinérgico de bioagentes e o silício na redução da severidade brusone foliar (LBS) e panícula (PBS) em condições de campo. Os tratamentos suprimiram a LBS em 77,93 e a PBS em 62,37%, reduziram a AACPD em 77,3 (LBS) e 60,6% (PBS). Fertilização de Si em combinação com os três bioagentes, *Burkholderia pyrrocinia*, *Pseudomonas fluorescens*, *Trichoderma asperellum* reduziu a brusone foliar em 96% (Souza et al. 2015). Outros gêneros de rizobacterias, *Serratia*, *Bacillus*, *Priestia*, *Enterobacter*, *Stenotrophomonas* e *Pseudomonas* mostraram destaque como supressores de outras doenças do arroz de altas, como mancha marrom e queimadura da bainha (Ajulo et al. 2023, 2024a, 2024b).

No combate a patógenos, as rizobactérias empregam diferentes mecanismos, como a competição por espaço e nutrientes, além da síntese de diversos metabólitos, incluindo antibióticos, sideróforos e enzimas hidrolíticas. Esses compostos atuam inibindo os patógenos por meio da interferência em seus processos respiratórios e da hidrólise de sua parede celular (Lugtenberg e Kamilova, 2009; Hassan et al. 2014). Os isolados analisados neste estudo já demonstraram a capacidade de produzir enzimas extracelulares, como amilase, celulase, lipase, pectinase, protease e quitinase, além de biofilme e sideróforos (com unidades de sideróforos (SU) de 53,1 e 46,0%) (Faria, 2021; Faria et al. 2023; De Oliveira et al. 2025). Esses achados indicam que enzimas, biofilme e sideróforos desempenham papéis importantes nas interações com fitopatógenos e outros integrantes da microbiota do arroz. Outro método sustentável empregado no presente estudo para o manejo da brusone foliar, aurícula e lígula envolve o uso de Si na forma de fertilizante à base de SiCaMg, em combinação com bioagentes. A absorção de Si pelas plantas contribui para o aumento da resistência contra infecções fúngicas, proporciona formação de barreira física principalmente na parede célula do vegetal, e na ativação do sistema de defesa da planta (Etesami & Jeong, 2018; Klotzbücher et al. 2018). Pesquisas anteriores demonstraram que o Si favorece as plantas hospedeiras ao induzir a síntese de compostos fenólicos, os quais revestem as hifas dos fungos, inibem a colonização e impedem a degradação das paredes celulares das folhas causada por colonizações fúngicas (Hawerorth et al. 2018; Tan et al. 2023).

Ao longo do desenvolvimento, as plantas enfrentam regularmente diversos tipos de estresses, tanto abióticos quanto bióticos. Para lidar com essas adversidades, as células

vegetais desenvolvem mecanismos capazes de detectar sinais provenientes do ambiente. Entre esses mecanismos, destacam-se as proteínas relacionadas à patogênese (PR), como a CHI, GLU, PAL, POX, que atua no reconhecimento de patógenos invasores. Essas proteínas podem interromper a progressão dos patógenos, ativando os sistemas de defesa do hospedeiro (Wang et al. 2021). No presente estudo, a aplicação de bioagentes e silício (Si) resultou em um aumento significativo na atividade das enzimas CHI, GLU, PAL e LOX em plantas de arroz cultivadas sob condições de cultivo Stre e Irri, com incrementos de 80 e 79%; 89 e 149%; 511 e 339%; 803 e 1045%, respectivamente (Figura 5). Esse aumento na atividade enzimática foi associado redução na PSB (59 e 77%), aurículas e lígulas (78 e 77%), indicando uma relação direta entre a atividade dessas enzimas e a resistência à infecção fúngica. Nossos dados demonstram resultados promissores na supressão da brusone e no aumento das atividades de defesa das plantas, corroborando aos achados de Arriel-Elias et al. (2019) que usaram formulações líquidas com *Pseudomonas fluorescens* e *Burkholderia pyrrocinia* como ingredientes ativos e alcançaram até 97% de supressão da brusone em arroz e aumentaram significativamente as atividades de enzimas como  $\beta$ -1,3-glucanase e quitinase (83%), fenilalanina amônia-liase (90,05%) e lipoxigenase (79%). Além disso, a aplicação de Si (2 toneladas de SiCaMg.ha<sup>-1</sup>) combinada com bioagentes mostrou-se eficaz em elevar as atividades de CHI, GLU, POX e PAL, contribuindo para a mitigação da brusone foliar (Souza et al. 2015). Funções bioquímicas e moleculares nas plantas também são induzidas ou reforçadas pelo Si, estimulando a produção de compostos defensivos, como fenóis e fitoalexinas, e ativando enzimas de defesa, como POX e PAL (Rahman et al. 2015).

Esses resultados fornecem importantes informações sobre os mecanismos de defesa que contribuem para a supressão da brusone, permitindo que a planta responda à invasão de *M oryzae* ativando suas defesas naturais. Alterações na atividade dessas enzimas também servem como indicadores do estado de resistência sistêmica induzida (ISR), em plantas expostas a patógenos (Almeida et al. 2012; Pieterse et al. 2014). A CHI é enzima encontrada em diferentes organismos, incluindo bactérias, fungos, insetos e plantas. Nas plantas, pertencem ao grupo de proteínas relacionadas à patogênese (PR). É uma enzima hidrolítica que pode clivar ligações  $\beta$ -1,4-glicosídicas na quitina (Johnston-Monje e Lopez Mejia 2020). Considerada principal componente da cutícula da membrana peritrófica, que é o revestimento protetor do intestino de muitos insetos, das paredes celulares dos fungos. Sob condições de estresse causado por patógenos, as células vegetais aumentam significativamente a expressão de quitinase na defesa contra patógenos fúngicos (Vaghela et

al. 2022). A GLU, presentes em diversos organismos, degradam a parede celular dos fungos durante invasões, liberando oligômeros como o  $\beta$ -1,3/1,6-D-glucano, que atuam como elicitores, ativando respostas de defesa e atividade antimicrobiana nas plantas (Finkina et al. 2017). PAL é uma enzima-chave no metabolismo dos compostos fenólicos, essencial para a via dos fenilpropanoides. Desempenha um papel significativo na síntese de vários compostos secundários relacionados à defesa das plantas, como fenóis e lignina (Yasmin et al. 2016). A LOX catalisa a formação de hidroperóxidos a partir de ácidos graxos poliinsaturados, que são desencadeados em respostas de defesa da planta (Baysal e Demirdöven 2007).

No cenário atual, a produção agrícola está sendo afetada por mudanças nas variáveis climáticas, e a seca é um dos fatores mais importantes que limitam o cultivo de arroz de terras altas, afetando diferentes processos físicos e bioquímicos, o que leva a uma redução na produção (Eckstein et al. 2021). As plantas de arroz são sensíveis ao acúmulo de ROS quando expostas a condições de estresse biótico e abiótico (Joshi et al. 2020). No presente ensaio, as plantas de arroz foram desafiadas por estresse abiótico (deficiência hídrica) e biótico (*M. oryzae*) que gera o aumento de ROS, como o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), que foi quantificado. Nesse sentido, além do sistema de defesa, também avaliamos o sistema antioxidante que leva à ativação de múltiplas enzimas como a SOD, CAT, APX e POX, e nas plantas de arroz tratadas com rizobacterias e Si, sob condições de cultivo Stre e Irri, aumentaram em 57 e 44%; 123 e 182%; 200 e 627%; 55 e 61%, respectivamente (Figura 6). A SOD atua na proteção das plantas sob estresse, convertendo o radical superóxido ( $O_2^-$ ), altamente prejudicial, em peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), que é menos reativo (Vishwakarma et al. 2020). Reconhecida como a primeira linha de defesa antioxidante, a SOD catalisa essa reação de dismutação do radical superóxido em  $H_2O_2$  (Al-Zahrani et al. 2022). O  $H_2O_2$  gerado pela SOD é posteriormente neutralizado por enzimas como CAT, POX e APX, que o convertem em compostos não tóxicos,  $H_2O$  e  $O_2$ . Esse processo protege as plantas dos efeitos danosos do estresse oxidativo nas membranas celulares e macromoléculas. Estudos anteriores relataram aumento de enzimas antioxidantes sob condições de diferentes estresses abiótico e biótico, reforçando sua eficiência na indução de respostas de defesa. Bueno et al. (2017) observaram aumento da atividade da APX em 49% e CAT em 51%, em plantas de arroz desafiadas por *M. oryzae* e tratadas com combinação das rizobactérias *B. pyrrocinia*, *P. fluorescens* e Si. A inoculação bacteriana e Si (1 e 2 kg  $ha^{-1}$ ) reduziram o estresse oxidativo induzido pela salinidade nas folhas de feijão mungo, aumentando das atividades da CAT (45%), POX (43%) APX (48%) (Mahmood et al. 2022).

A interação entre nanopartículas de dióxido de silício combinada com rizobactérias aumentou a atividade das enzimas antioxidantes: superóxido dismutase (60,4%), peroxidase (55,9%) e catalase (81,6%) (Akhtar et al. 2021).

A clorofila é um parâmetro importante para avaliar os efeitos do estresse nas plantas, pois a taxa de fotossíntese está associada a ela (Akhtar et al. 2021). No estudo mencionado, observou-se uma estabilidade nos teores de chl<sub>a</sub>, e um aumento nos teores de chl<sub>b</sub> e carotenoides, no tratamento que associou rizobactérias com silício (T1) (Figura 7). Esses resultados sugerem que a aplicação conjunta de rizobactérias e silício pode contribuir para a proteção e regulação dos pigmentos fotossintéticos, mitigando os impactos negativos causados pelo estresse. No caso da cultivar BRS Esmeralda, a estabilidade associada aos pigmentos fotossintéticos pode estar diretamente relacionada à característica "stay green", que mantém a coloração verde das folhas mesmo em condições adversas. Essa característica é vantajosa, pois permite que as plantas continuem a realizar a fotossíntese e a produzir biomassa por mais tempo, garantindo maior resiliência e produtividade. Estudos como os de Borrell et al. (2014) e Ali et al. (2023), reforçam que plantas com a característica "stay green" possuem maior capacidade de adaptação a ambientes desfavoráveis.

A combinação das rizobactérias e Si aumentou a produtividade da cultivar BRS Esmeralda. Nossos resultados destacam o aumento isolado dos fatores (-Si e +Si) em cada condições: Sob cultivo Stre e -Si o aumento foi de 34% (2761 kg/ha<sup>-1</sup>) já com a presença do Si (+Si) chegou a 72% (3479 kg/ha<sup>-1</sup>), isso corresponde incremento 25% proporcionado pelo Si em sinergismo com as rizobactérias. No Irri -Si foi de 83% (4164 kg/ha<sup>-1</sup>), +Si 35% (5267 kg/ha<sup>-1</sup>), incremento 26% proporcionado pelo Si combinado com as rizobactérias. Nossos resultados corroboram com De Oliveira et al. (2025), que, em condições de campo, o rendimento da cultivar BRS Esmeralda aumentou em 24,57% em relação ao controle (sem bactérias e com fertilização com Si), e em 72% em relação ao controle absoluto (sem bactérias e sem fertilização com Si). Souza et al. (2021) relataram que a aplicação de Si (4 toneladas ha<sup>-1</sup>) levou a um aumento de 27%, enquanto os bioagentes (*B. pyrrocinia* + *P. fluorescens* + um consórcio de *Trichoderma asperellum*) proporcionaram um ganho de 19,6% na produtividade do arroz de terras altas. A supressão de PBS, aurícula e lígula, demonstrada em nosso estudo com a aplicação de bioagentes e Si corrobora o aumento de produtividade observado. Os isolados avaliados no presente estudo (BRM 32110 e BRM 32114) também são solubilizantes inorgânicos de fósforo (P): BRM32114 (IS=1,44) e

BRM32110 (índice de solubilização (IS) = 1,11) e produtores de IAA: BRM32114 (7,38  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) e BRM32110 (5,74  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), (Faria et al. 2023). Além disso modulam a arquitetura do sistema radicular de plantas de arroz (De Oliveira et al. 2025) As rizobactérias são conhecidas pela sua promoção de crescimento em plantas, principalmente pela produção de fitormônios e solubilização de P que contribui para aumento da produtividade (Verma et al. 2020). Essa combinação é uma ferramenta sustentável com efeitos benéficos na promoção do crescimento e na melhoria da resistência a doenças em plantas de arroz de terras altas já relatadas por Souza et al. (2015), Sperandio et al. (2017), Souza et al. (2021) e Faria et al. (2023).

## 6 CONCLUSÃO

Em conclusão, demonstramos que a combinação proporcionou sinergia na redução da severidade do brusone nas panículas, aurícula e lígula. Melhorou a atividade das enzimas relacionadas ao sistema de defesa e antioxidante das plantas. A aplicação de rizobactérias e silício aumentou os rendimentos em até 72% sob condições de déficit hídrico. No entanto, mais ensaios são necessários para confirmar os resultados obtidos, usando abordagens moleculares para descobrir os mecanismos por trás de seu efeito sinérgico em plantas de arroz. Outros ensaios em condições de campo serão necessários para inserir esses componentes ao manejo do arroz de terras altas, estabelecendo tratamentos culturais adequados para plantas tratadas com Si e os bioagentes.

## 7 REFERÊNCIAS

- Abd El-Mageed TA, Abd El-Mageed SA, El-Saadony MT, Abdelaziz S, Abdou NM (2022) Plant growth-promoting rhizobacteria improve growth, morph-physiological responses, water productivity, and yield of rice plants under full and deficit drip irrigation. *Rice* 5(1): 16. <https://doi.org/10.1186/s12284-022-00564-6>
- Ajulo AA, Asobia PC, Silva OR, Andrade BG, Rosa GA, Filippi, MCC (2023) Screening bacterial isolates for biocontrol of sheath blight in rice plants. *J Enviro Sci Health B*, 1-9. <https://doi.org/10.1080/03601234.2023.2220644>
- Ajulo AA, Bezerra GDA, Silva OR, Gonçalves AR, Moura MFGG. Cardoso MAA, Filippi MCC. (2024b). Efficiency of bacterial isolates on suppressing brown spot in rice plants. *J of Phytopathol* 172(2): e13294. <https://doi.org/10.1111/jph.13294>
- Ajulo AA, Oliveira RS, Bezerra SF, Costa NB, Gonçalves AR, Oliveira MIDS, Filippi, MCC (2024a) Screening of bacterial isolates antagonists and suppressors of blast in rice plants. *Ver Caatinga* 37: e11724. <https://doi.org/10.1590/1983-21252024v37i11724rc>
- Akhtar N, Ilyas N, Hayat R, Yasmin H, Noureldeen A, Ahmad P (2021) Synergistic effects of plant growth promoting rhizobacteria and silicon dioxide nanoparticles for amelioration of drought stress in wheat. *Plant Physiol Biochem*, 166, 160-176. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.05.039>
- Ali A, Ullah Z, Sher H, Abbas Z, Rasheed A (2023) Water stress effects on stay green and chlorophyll fluorescence with focus on yield characteristics of diverse bread wheats. *Planta* 257(6):104, 2023, <https://doi.org/10.1007/s00425-023-04140-0>
- Almeida HO, Barbosa MDO, Marques AE, Pereira THA, Magalhães JMJ, Tessarollo NG, Baracat-Pereira MC (2012) Enzimas marcadoras de indução de resistência diferencialmente reguladas em soja resistente e suscetível à ferrugem-asiática-da-soja. *Pesq Agropec Bras* 47:163-172. <https://doi.org/10.1590/s0100-204x2012000200003>
- Alunni S, Cipiciani A, Fioroni G, Ottavi L (2003) Mechanisms of inhibition of phenylalanine ammonia-lyase by phenol inhibitors and phenol/glycine synergistic inhibitors. *Arch Biochem Biophys* 412: 170-175. [https://doi.org/10.1016/S0003-9861\(03\)00007-9](https://doi.org/10.1016/S0003-9861(03)00007-9)
- Al-Zahrani HS, Alharby HF, Fahad S (2022) Antioxidative defense system, hormones, and metabolite accumulation in different plant parts of two contrasting rice cultivars as influenced by plant growth regulators under heat stress. *Front Plant Sci* 13: 911846. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.911846>
- Anderson D, Prasad K, Stewart R (1995) Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. *Plant Physiol* 109:1247-1257. <https://doi.org/10.1104/pp.109.4.1247>
- Arriel-Elias MT, De Carvalho BCMV, Sousa TP, Chaibu AA, Filippi MCC (2019) Induction of resistance in rice plants using bioproducts produced from *Burkholderia pyrrocinia* BRM 32113. *Environ Sci Pollut Res* 26(19):19705-19718. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05238-3>

- Axelrod B, Cheesbrough TM, Laakso S (1981) [53] Lipoxygenase from soybeans: EC 1.13. 11.12 Linoleate: oxygen oxidoreductase. In methods in enzymology. Academic Press 71:441-451. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(81\)71055-3](https://doi.org/10.1016/0076-6879(81)71055-3)
- Babu RM, Sajeena A, Vidhyasekaran P, Seetharaman K, Redd MS (2003) Differential induction of chitinase and  $\beta$ -1, 3-Glucanase in rice in response to inoculation with bacterial leaf blight pathogen (*Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*). J Plant Dis Prot 105-112. <https://www.jstor.org/stable/43215493>
- Baysal T, Demirdöven, A (2007) Lipoxygenase in fruits and vegetables: A review. Enzyme Microb Technol 40(4): 491-496. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2006.11.025>
- Beauchamp C, Fridovich I (1971) Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Anal Biochem 44:276-287. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(71\)90370-8](https://doi.org/10.1016/0003-2697(71)90370-8)
- Bhattacharyya C, Banerjee S, Achary U, Mitra A, Mallic I, Haldar A, Ghosh A (2020) Evaluation of plant growth promotion properties and induction of antioxidative defense mechanism by tea rhizobacteria of Darjeeling, India. Sci Rep 10(1): 15536. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72439-z>
- Borrell AK, Van Oosterom EJ, Mullet JE, George-Jaeggli B, Jordan DR, Klein PE, Hammer GL (2014) Stay-green alleles individually enhance grain yield in sorghum under drought by modifying canopy development and water uptake patterns. New Phytol 203(3):817-830. <https://doi.org/10.1111/nph.12869>
- Bueno ACSO, Castro GLS, Silva Junior DD, Pinheiro HA, Filippi MCC, Silva GB (2017) Response of photosynthesis and chlorophyll a fluorescence in leaf scald-infected rice under influence of rhizobacteria and silicon fertilizer. Plant Pathology 66(9):1487-1495. <https://doi.org/10.1111/ppa.12690>
- Campos H, Cooper M, Habben JE, Edmeades GO, Schussler JR (2004) Improving drought tolerance in maize: a view from industry. Field Crops Research 90:19-34.
- Chaibub AA, De Carvalho JCB, De Sousa SC, Collevatti RG, Gonçalves FJ, De Carvalho BCMV, De Araújo LG (2016) Defence responses in rice plants in prior and simultaneous applications of *Cladosporium* sp. during leaf blast suppression. Environ Sci Pollut Res 23, 21554-21564. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7379-5>
- Cortes MVCB, Viana HF, Silva FR, Lobo VLS, Silva GB, Prabhu AS, Filippi MCC (2008) Quantificação da atividade enzimática de proteínas relacionadas à patogênese no patossistema *Oryza sativa*/*Magnaporthe oryzae*. Bol Pesqui Desenv Embrapa Arroz Feijão, Santo Antônio de Goiás, 34:1-18
- De Oliveira RS, Ajulo AA, Cardoso MAA, Gonçalves AR, Bezerra GA, Lanna AC, De Filippi MCC (2025) Rhizobacteria and silicon modulate defense, oxidative stress, and suppress blast disease in upland rice plants in low phosphorus soils under field conditions. Planta 261(1):22. <https://doi.org/10.1007/s00425-024-04598-6>
- De Sousa TP, De Souza ACA, De Filippi MCC, Lanna AC, Cortês MV, Pinheiro HA, Da Silva GB (2018) Bioagents and silicon promoting fast early upland rice growth. Environmental Science and Pollution Research 25(4):3657-3668. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0753-0>

- Del Longo OT, Gonzalez CA, Pastori GM, Trippi VS, (1993) Antioxidant defences under hyperoxygenic and hyperosmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential sensitivity to drought. *Plant Cell Physiol* 34:1023-1028.  
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a078515>
- Dubey SC, Singh V, Priyanka K, Upadhyay BK, Singh B (2015) Combined application of fungal and bacterial bio-agents, together with fungicide and *Mesorhizobium* for integrated management of *Fusarium* wilt of chickpea. *BioControl*, 60:413-424.  
<https://doi.org/10.1007/s10526-015-9653-8>
- Eckstein D, Künzel V, Schäfer L (2021) The global climate risk index 2021. Germanwatch, Bonn.
- EMBRAPA. Arroz: o produtor pergunta, a Embrapa responde. Revista e Ampliada. Brasília, DF. Embrapa. p. 245, 2013.
- Etesami H (2018) Can interaction between silicon and plant growth promoting rhizobacteria benefit in alleviating abiotic and biotic stresses in crop plants? *Agriculture, Ecosystems & Environment* 253:98-112.  
<https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.11.007>
- Faria DR, Mendonça SM, De Sousa Oliveira MI, Lanna AC, De Filippi MCC (2023) Rhizobacteria and silicon mitigate multiple stresses in upland rice. *Tropical Plant Pathology* 1-15. <https://doi.org/10.1007/s40858-023-00593-6>
- Ferreira DF (2011) Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciênc Agrotec* 35:1039-1042.
- Filippi MCC, Silva GB, Prabhu AS (2007) Indução de resistência à brusone em folhas de arroz por isolados avirulentos de *Magnaporthe oryzae*. *Fitopatologia Brasileira* 32(5):387-392.
- Filippi MCC, Silva GB, Silva-Lobo V, Côrtes MVCB, Moraes AJG, Prabhu AS (2011) Leaf blast (*Magnaporthe oryzae*) suppression and growth promotion by rhizobacteria on aerobic rice in Brazil. *Biol Control*. San Diego, 58(2):160-166.  
<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2011.04.01>
- Finkina E, Melnikova D, Bogdanov I, Vovchinnikova T (2017) Plant pathogenesis-related proteins PR-10 and PR-14 as components of innate immunity system and ubiquitous allergens. *Current Medicinal Chemistry* 24(17):1772-1787.  
<https://doi.org/10.2174/0929867323666161026154111>
- García-Cristobal J, García-Villaraco A, Ramos B, Gutiérrez-Mañero J, Lucas JA (2015) Priming of pathogenesis related-proteins and enzymes related to oxidative stress by plant growth promoting rhizobacteria on rice plants upon abiotic and biotic stress challenge. *Journal of Plant Physiology* 188:72-79.  
<https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.09.011>
- Hassan MN, Afghan S, Ul Hassan Z, Hafeez FY (2014) Biopesticide activity of sugarcane associated rhizobacteria: *Ochrobactrum intermedium* strain NH-5 and *Stenotrophomonas maltophilia* strain NH-300 against red rot under field conditions. *Phytopathol Mediterr* 53(2): 229-239, <https://www.jstor.org/stable/43871776>

- Hawerorth C, Araujo L, Bermúdez-Cardona MB, Silveira PR, Wordell Filho JA, Rodrigues FA (2019) Silicon-mediated maize resistance to macrospora leaf spot. *Tropical Plant Pathology* 44:192-196. <https://doi.org/10.1007/s40858-018-0247-8>
- Hodson MJ, Bryant HJ (2012) *Functional Biology of Plants*. John Wiley & Sons: Oxford.
- IRRI - International rice research institute. Standard evaluation system for rice, 4.ed. The Philippines: International Rice Research Institute, 52, 1996
- Jaleel CA, Manivannan P, Wahid A, Farooq M, Al-Juburi HJ, Somasundaram R, Panneerselvam R (2009) Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *International Journal of Agriculture and Biology* 11(1):100-105.
- Johnston-Monje D, Lopez Mejia J (2020) Botanical microbiomes on the cheap: Inexpensive molecular fingerprinting methods to study plant-associated communities of bacteria and fungi. *Applications in Plant Sciences* 8(4):e11334. <https://doi.org/10.1002/aps3.11334>
- Joshi B, Chaudhary A, Singh H, Kumar PA (2020) Prospective evaluation of individual and consortia plant growth promoting rhizobacteria for drought stress amelioration in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Soil* 457:225-240. <https://doi.org/10.1007/s11104-020-04730-x>
- Junglee S, Urban L, Sallanon H, Lopez-Lauri F (2014) Optimized assay for hydrogen peroxide determination in plant tissue using potassium iodide. *Am J Anal Chem* 5(11):730. [Doi:10.4236/ajac.2014.511081](https://doi.org/10.4236/ajac.2014.511081)
- Kar M, Mishra D (1976) Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiol* 57(2):315-319. <https://doi.org/10.1104/pp.57.2.315>
- Khan AR, Park GS, Asaf S, Hong SJ, Jung BK, Shin JH (2017) Complete genome analysis of *Serratia marcescens* RSC-14: a plant growth-promoting bacterium that alleviates cadmium stress in host plants. *PloS one*, 12: 0171534. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171534>
- Khan MIR, Ashfaque F, Chhillar H, Irfan M, Khan NA (2021) The intricacy of silicon, plant growth regulators and other signaling molecules for abiotic stress tolerance: An entrancing crosstalk between stress alleviators. *Plant Physiology and Biochemistry* 162, 36-47. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.02.024>
- Kumar H, Ahmad S, Zacharia S, Kumar S, Ali A (2017) Impact of different fungicide combinations against brown leaf spot (*Drechslera oryzae*) of rice under the *in vitro* and *in vivo*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 6(1):341-344.
- Lee JH, Lee JY, Yoon YN, Kim SY, Hur YJ, Yeo US, Cho JH (2015) Enhancement of panicle blast resistance in Korean rice cultivar ‘Saeilmi’ by marker assisted backcross breeding. *Plant Breed Biotechnol* 3, 1-10, 2015. <http://dx.doi.org/10.9787/PBB.2015.3.1.001>
- Li JY, Wang J, Zeigler RS (2014) The 3,000 rice genomes project: new opportunities and challenges for future rice research. *Gigascience* 3(1):2047-217X-3-8. <https://doi.org/10.1186/2047-217X-3-8>

- Lugtenberg B, Kamilova F (2009) Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology* 63:541-556.
- Mahmood S, Daur I, Yasir M, Waqas M, Hirt H (2022) Synergistic practicing of rhizobacteria and silicon improve salt tolerance: implications from boosted oxidative metabolism, nutrient uptake, growth and grain yield in mung bean. *Plants* 11(15):1980. <https://doi.org/10.3390/plants11151980>
- Nahar, S, Kalita J, Sahoo L, Tanti B. (2016). Morphophysiological and molecular effects of drought stress in rice. *Ann Plant Sci*, 5(9), 1409-1416. <http://dx.doi.org/10.21746/aps.2016.09.001>
- Nakano Y, Asada K (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol.* 22(8):67–880, 1981, <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232>
- Nascente AS, Crusiol CAC, Cobucci T (2013) The no-tillage system and cover crops— Alternatives to increase upland rice yields. *European Journal of Agronomy* 45:124-131. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2012.09.004>
- Ogoschi C, Carlos FS, Ulguim ADR, Zanon AJ, Nunes CDM, Bittencourt CDC, Martins JDS (2018) Potencial de cultivares de arroz irrigado resistentes à brusone para redução do uso de fungicidas no litoral norte do Rio Grande do Sul. *Embrapa Clima Temperado - Circular Técnica* 192.
- Quinones C, Mattes N, Faronilo J, Jagadish KS (2017) Drought stress reduces grain yield by altering floral meristem development and sink size under dry-seeded rice cultivation. *Crop Science*, 57(4), 2098-2108. <https://doi.org/10.2135/cropsci2016.09.0736>
- Pan SQ, Ye XS, Kuć J (1991) Association of a  $\beta$ -1,3-glucanase activity and isoform pattern with systemic resistance to blue mold in tobacco induced by stem injection with *Peronospora tabacina* or leaf inoculation with *Tobacco mosaic virus*. *Physiol Mol Plant Pathol*, 39:25–39. [https://doi.org/10.1016/0885-5765\(91\)90029-H](https://doi.org/10.1016/0885-5765(91)90029-H)
- Pignata ML, Gudiño GL, Wannaz ED, Plá RR, González CM, Carreras HA, Orellana L (2002) Atmospheric quality and distribution of heavy metals in Argentina employing *Tillandsia capillaris* as a biomonitor. *Environ Pollut* 120:59–68. [doi:10.1016/S0269-7491\(02\)00128-8](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(02)00128-8)
- Rahman A, Wallis CM, Uddin W (2015) Silicon-induced systemic defense responses in perennial ryegrass against infection by *Magnaporthe oryzae*. *Phytopathology* 105(6):748-757. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-12-14-0378-R>
- Rais A, Shakeel M, Hafeez FY, Hassan MN (2016) Plant growth promoting rhizobacteria suppress blast disease caused by *Pyricularia oryzae* and increase grain yield of rice. *BioControl* 61:769-780. <https://doi.org/10.1007/s10526-016-9763-y>
- Sathe AP, Kumar A, Mandlik R, Raturi G, Yadav H, Kumar N, Sonah H (2021) Role of silicon in elevating resistance against sheath blight and blast diseases in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Physiology and Biochemistry* 166:128-139. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.05.045>
- Silva GB, Rêgo MCF, França SS, Sousa TP, Nascente AS, Lanna AC, Andrade GB (2019) *Uso do Trichoderma na cultura do arroz*, 1ª ed. Brasília - DF: Embrapa, p. 349.

- Silva-Lobo VL, Filippi MCC, Silva GB, Venancio WL, Prabhu AS (2012). Relação entre o teor de clorofila nas folhas e a severidade de brusone nas panículas em arroz de terras altas. *Trop Plant Pathol* 37:83-87. <https://doi.org/10.1590/S1982-56762012000100011>
- Souza ACA, Filippi MCC, Nascente AS, Prabhu AS, Alves E (2021) Silicon rates and beneficial microorganism on blast suppression and productivity of upland rice. *J Plant Sci Phytopathol* 5:20-27. <https://doi.org/10.29328/journal.jpasp.1001057>
- Souza AD, Sousa TP, Cortês MVB, Rodrigues F, Silva GB, Filippi MCC (2015) Enzyme-induced defense response in the suppression of rice leaf blast (*Magnaporthe oryzae*) by silicon fertilization and bioagents. *International Journal of Research Studies in Biosciences* 3(5):22-32.
- Sperandio EM, Do Vale HMM, De Souza Reis M, De Carvalho Barros Cortes MV, Lanna AC, De Filippi MCC (2017) Evaluation of rhizobacteria in upland rice in Brazil: growth promotion and interaction of induced defense responses against leaf blast (*Magnaporthe oryzae*), *Acta Physiologiae Plantarum*, 39, 1-11, <https://doi.org/10.1007/s11738-017-2547-x>
- Sun YI, Oberley LW, Li Y (1988) A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 34(3):497-500. <https://doi.org/10.1093/clinchem/34.3.497>
- Tan B, Zeng Y, Li Y, Tan X, Liu C, Li L, Li Z (2023) Probing the effects of silicon amendment on combined stressors on rice: Lead pollution and blast fungus (*Magnaporthe oryzae*) infection. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 264:115443. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023>
- Vaghela B, Vashi R, Rajput K, Joshi R (2022) Plant chitinases and their role in plant defense: A comprehensive review. *Enzyme and Microbial Technology* 159:110055. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2022.110055>
- Verma KK, Song XP, Li DM, Singh M, Rajput VD, Malviya MK, Li YR (2020) Interactive role of silicon and plant–rhizobacteria mitigating abiotic stresses: A new approach for sustainable agriculture and climate change. *Plants* 9(9), 1055, 2020, <https://doi.org/10.3390/plants9091055>
- Verma KK, Song XP, Li DM, Singh M, Rajput VD, Malviya MK, Li YR (2020) Interactive role of silicon and plant–rhizobacteria mitigating abiotic stresses: A new approach for sustainable agriculture and climate change. *Plants* 9(9):1055. <https://doi.org/10.3390/plants9091055>
- Vishwakarma K, Singh VP, Prasad SM, Chauhan DK, Tripathi DK, Sharma S (2020) Silicon and plant growth promoting rhizobacteria differentially regulate AgNP-induced toxicity in *Brassica juncea*: Implication of nitric oxide. *Journal of Hazardous Materials* 390:121806. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121806>
- Wang Y, Liu M, Wang X, Zhong L, Shi G, Xu Y, Cui Z (2021) A novel  $\beta$ -1,3-glucanase Gns6 from rice possesses antifungal activity against *Magnaporthe oryzae*. *Journal of Plant Physiology* 265:153493. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2021.153493>
- Yasmin S, Zaka A, Imran A, Zahid MA, Yousaf S, Rasul G, Mirza MS (2016) Plant growth promotion and suppression of bacterial leaf blight in rice by inoculated bacteria. *PloS One* 11(8):e0160688. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160688>

## CAPÍTULO 4

### **Rhizobacteria and silicon modulate defense, oxidative stress, and suppress blast disease in upland rice plants in low phosphorus soils under field conditions**

Capítulo publicado como artigo no periódico científico: Environmental Science and Pollution Research (ESPR)

**Rodrigo Silva de Oliveira**<sup>1</sup>, Akintunde Abiodun Ajulo<sup>2</sup>, Marco Antônio Adorno Cardoso; Ariany Rosa Gonçalves<sup>3</sup>, Gustavo Andrade Bezerra; Anna Cristina Lanna<sup>4</sup>, Adriano Castro; Marta Cristina Corsi de Filippi<sup>5</sup>

<sup>1,2</sup>Doutorando, Universidade Federal de Goiás, Goiânia – GO, Brasil.

<sup>3</sup>Doutora em Genética e Melhoramento de Plantas, Universidade Federal de Goiás – GO, Brasil

<sup>4</sup>Doutora em Fisiologia Vegetal, pesquisadora da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO

<sup>5</sup>Doutora em Plant Pathology and Microbiology- Texas A & M University, pesquisadora da Embrapa da Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO

DE OLIVEIRA, R. S.; AJUDALO, A. A.; CARDOSO, M. A. A; GONÇALVES, A. R.; BEZERRA, G. A.; LANNA, A. C.; DE FILIPPI, M. C. C. Rhizobacteria and silicon modulate defense, oxidative stress, and suppress blast disease in upland rice plants in low phosphorus soils under field conditions. *Planta*, v. 261, n. 1, p. 22, 2025.2025. <https://doi.org/10.1007/s00425-024-04598-6>



# Rhizobacteria and silicon modulate defense, oxidative stress, and suppress blast disease in upland rice plants in low phosphorus soils under field conditions

Rodrigo Silva de Oliveira<sup>1,3</sup> · Akintunde Abiodun Ajulo<sup>1,3</sup> · Marco Antônio Adorno Cardoso<sup>1,3</sup> · Ariany Rosa Gonçalves<sup>3</sup> · Gustavo Andrade Bezerra<sup>2</sup> · Anna Cristina Lanna<sup>4</sup> · Adriano Pereira de Castro<sup>4</sup> · Marta Cristina Corsi de Filippi<sup>3,4</sup>

Received: 23 September 2024 / Accepted: 17 December 2024 / Published online: 29 December 2024  
© The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2024

## Abstract

**Main conclusion** Rhizobacteria and silicon fertilization synergism suppress leaf and panicle Blast, and mitigates biotic stress in rice plants.

**Abstract** Association of bioagents and silicon is synergistic for mitigating leaf and panicle blast and low phosphorus (P) levels in upland rice, under greenhouse conditions. This study aimed to evaluate the potential of the bioagents and silicon interaction on blast disease severity suppression in upland rice plants, under field low P conditions. The experiment was conducted during two growing seasons (E1 and E2), in randomized block design with four replications, and consisted of five treatments, combining a mix of three rhizobacteria, BRM 32114 and BRM62523 (*Serratia marcescens*), and BRM32110 (*Bacillus toyonensis*), and three application methods (seed treatment, drenching, spraying). Calcium and magnesium silicate (2 t/ha) was applied over a low soil P, 30 days before sowing. Leaf blast (LBS) and panicle blast (PBS), area under the disease progress curve (AUDPC), activity of enzymes related to oxidative stress, pathogenesis-related (PR), biochemical indicators such as hydrogen peroxide, chlorophyll a and b, carotenoids, and grain yield (GY), were assessed. Bioagents and silicon suppressed LBS by 77.93 and PBS by 62.37%, reduced AUDPC by 77.3 (LBS) and 60.6% (PBS). The yield in E1 was 25% higher than in E2. The treatments statistically differ only in E2, the yield with bioagents and silicon (2435.72 kg ha<sup>-1</sup>) was 71.95% higher compared to the absolute control. All enzymatic activities related to oxidative stress and PR proteins were modulated by bioagents and silicon association. The association of rhizobacteria and silicon exhibited a synergistic effect, and represents a bioprotective combination to reduce the effects of different stresses and indirectly reduces the use of chemical inputs.

**Keywords** Biocontrol · *Oryza sativa* · Plant growth-promoting bacteria · PR proteins · Resistance induction

---

Communicated by Dorothea Bartels.

✉ Marta Cristina Corsi de Filippi  
cristina.filippi@embrapa.br

- <sup>1</sup> Agronomy School, Federal University of Goiás, Goiânia, Goiás 74001-970, Brazil
- <sup>2</sup> PrimeAgro, Toledo, Paraná, Brazil
- <sup>3</sup> Agricultural Microbiology Laboratory, Brazilian Agricultural Research Corporation Rice and Beans (Embrapa Arroz e Feijão), Santo Antônio de Goiás, Goiás 75375-000, Brazil
- <sup>4</sup> Research and Development, Embrapa Rice and Beans, Rodovia GO-462, Km 12, Fazenda Capivara, Zona Rural, Caixa Postal: 179, Santo Antônio de Goiás, GO 75375-000, Brazil

## Abbreviations

LBS	Leaf blast severity
VS	Vegetative stage
PBS	Panicle blast severity
RS	Reproductive stage
AUDPC	Area under the disease progress curve

## Introduction

Rice (*Oryza sativa* L.) is one of the most cultivated cereals in the world, serving as the staple food for more than half of the global population. It is estimated that for every billion people in the world population, an additional 100 million tons of rice will be required per year (Kumar et al.

2017). Increasing rice yield sustainably is a challenge and a goal to be achieved according to the UN 2030 Agenda. Rice cultivation is primarily done in two systems: irrigated and upland. Upland rice cultivation represents a more sustainable system since it uses rainwater, emits fewer greenhouse gases and is suitable for no-till farming, a practice that allows for maintaining straw on the soil surface to reduce temperature, improve moisture, and increase organic matter content and biological activity of the soil (Nascente et al. 2013). However, phosphorus (P) availability is one of the main factors limiting the productivity of upland rice (Prado et al. 2020). Only 5–25% of the P applied to cerrado soils is absorbed by the plants, while 75–95% is chemically fixed in the soil, turning insoluble (Batool and Iqbal 2019). Chemical fertilizers represent the largest operating cost for farmers, accounting for around 30% of total agribusiness expenses in Brazil. In 2021, the cost of this input, such as fertilizer and pesticides increased by 95% to 172% due to the scarcity of raw materials (Carregosa and Barbosa 2022). In addition, the high cost and continuous use of phosphate fertilizers not only decrease nutrient efficiency, but also hinder sustainable production (Shakeela et al. 2017).

Plants respond to the stress caused by P deficiency at morphological, physiological and molecular levels, resulting in lower biomass accumulation and reduced growth (Marschner 1995; Tantray et al. 2020). It is worth noting that P deficiency may not be visible to the naked eye, but it still negatively impacts productivity and makes the plant more vulnerable to biotic stress, such as blast disease (*Magnaporthe oryzae* (Barr) [anamorph *Pyricularia oryzae* (Cooke) Sacc]) (Enebe and Babalola 2018) which can affect the entire aerial part of the plant, from the initial stages with leaf blast to the final stage with panicle blast, compromising performance and reducing both production and productivity (Ogoschi et al. 2018).

The management of blast disease integrates cultural practices, genetic resistance, and chemical control. However, rice cultivars genetically improved for resistance to blast disease (*M. oryzae*) are quickly overcome due to the pathogen's complex biology (Silva et al. 2019). The inclusion of biological agents in blast management represents a strengthening of the plant's defense system, protection of resistance genes, and the productive potential of improved cultivars (Filippi et al. 2011; Ding et al. 2013; Sousa et al. 2018). Biotic and abiotic stresses cause a series of physiological changes in plant cells, including the generation of reactive oxygen species (ROS), which, at high concentrations, lead to oxidative damage and disrupt cellular homeostasis (Gill and Tuteja 2010). As a defense mechanism, cells are equipped with sophisticated antioxidant mechanisms involving antioxidant defense enzymes such as ascorbate peroxidase (APX), catalase (CAT), peroxidase (POX), and superoxide dismutase (SOD).

These enzymes are involved in eliminating and transforming ROS into non-toxic products, protecting cells from oxidative damage (Hussain et al. 2018; Bhattacharyya et al. 2020). SOD catalyzes harmful superoxide radicals like oxygen ( $O_2$ ) by reducing them to  $H_2O_2$  present in chloroplasts. CAT and APX, present in the peroxisomes of plant cells, act to eliminate the  $H_2O_2$  produced by the SOD reaction (Kim et al. 2017). The combined application of silicon (Si) and rhizobacteria is a sustainable strategy for mitigating biotic and abiotic stress in plants (Mahmood et al. 2016).

In this context, the rhizobacteria *S. marcescens* (BRM32114) and *B. toyonensis* (BRM32110) emerge as an important tool for acquiring scarce minerals such as P and mitigating the severity of blast. *Bacillus* sp. and *Serratia* sp. have been shown to promote plant growth and reduce the severity and progress of blast in rice plants (Sperandio et al. 2017). Isolates of the *Serratia* and *Bacillus* genera are known to promote plant growth, acting through various mechanisms, such as phosphate solubilization, synthesis of phytohormones, secretion of extracellular enzymes and production of siderophores, antifungal action against the phytopathogen (Mohamed et al. 2018; Contreras-Pérez et al. 2019; Roca et al. 2024). The genome of *S. marcescens* rhizobacteria, isolated as plant endophytes, has been sequenced and many genes related to plant growth promotion (PGP) and induced-systemic resistance (ISR), phosphorus solubilization, and indoleacetic acid (IAA) have been identified (Ryu et al. 2013; Khan et al. 2017). The draft *B. toyonensis* genome revealed a total of 5979 genes, and predicted gene function, showing genomic and experimental evidence of *B. toyonensis* as a plant growth-promoting and antifungal bacterium (Roca et al. 2024).

Another component that has the potential to strengthen rice blast management is silicon (Si), the second most abundant element in terrestrial soils. After absorption by the plant, Si is deposited in the cell wall, forming a double silica-cuticle and silica-cellulose layer that attenuates fungal infection and pest attacks (Shi et al. 2013; Guntamukkala et al. 2017; Chen et al. 2019; Prado et al. 2020). Additionally, Si maintains cell membrane permeability and stability under abiotic stresses, reducing oxidative stress by modifying antioxidant defense enzymes and altering concentrations of oxidative stress biochemical indicators, including malondialdehyde, hydrogen peroxide, and proline (Coskun et al. 2019). Rice grown with silicon fertilization and subsequently exposed to the pathogen *M. oryzae* showed a significant increase in the activities of defense enzymes such as POX, polyphenol oxidase (PPO) and phenylalanine ammonia lyase (PAL). In addition, there was an increase in the levels of silicon and lignin in the plants, resulting in a lower incidence of blast (Cai et al. 2008).

The combined application of Si and rhizobacteria is a sustainable strategy to mitigate biotic and abiotic stress in plants (Mahmood et al. 2016). Studies from other teams

also highlight the role of the combination of silicon and rhizobacteria in suppressing blast (Souza et al. 2015; Saud et al. 2017). This combination can mitigate oxidative damage in plants, modulate enzymatic components, and induce resistance to pathogen attacks (Verma et al. 2020a). The response is called induced-systemic resistance (ISR) and occurs through intraplant signaling from the root to the shoot, allowing plants to better resist pathogen attacks (Spence et al. 2014). In ISR, the plant shows greater activity of pathogenesis-related (PR) proteins, such as  $\beta$ -1,3-glucanase and chitinase, lipoxygenase and phenylalanine ammonia-lyase, which are produced in response to infection by pathogens (García-Cristobal et al. 2015).

In this scenario, it has been observed that well-nourished plants show better resistance under stress conditions (Zhong et al. 2017), as well as promoting greater growth and more efficient suppression of diseases when inoculated with rhizobacteria (Sperandio et al. 2017). Thus, there is a need to study the interaction between silicon fertilization in combination with rhizobacteria to evaluate the mitigation of biotic and abiotic stresses. Faria et al. (2023) selected three isolates of rhizobacteria resistant to osmotic stress and phosphorus solubilizers, which, when combined with Si, modulated root architecture, mitigated water stress and suppressed leaf blast (*M. oryzae*) in an upland rice cultivar under greenhouse conditions. As a next step of Faria et al. (2023) research, in this study we evaluated the effect of *S. marcescens*, *B. toyonensis*, and Si combination, on leaf and panicle blast suppression, on the modulation of oxidative stress and pathogenesis (PRs) enzymes activities, as well as on the nutrition of upland rice plants, grown under soils presenting phosphorus (P)-limited, under field conditions.

## Material and methods

### Microorganisms

The rhizobacteria BRM32114 and BRM63523 (*Serratia marcescens*, NCBI: KX378747 and PP025422) and BRM32110 (*Bacillus toyonensis*, NCBI: KX378746) used in the trials are bacterial strains isolated from rice plants and belong to the Multifunctional Microorganisms Collection of Embrapa Rice and Beans (*Embrapa Arroz e Feijão*). The isolates were multiplied in Petri dishes containing Nutrient Agar (NA) culture medium and incubated for 48 h at 28 °C.

### Seed microbiolization

Rice seeds of the BRS Esmeralda (ESM) cultivar were pre-disinfected in 0.5% (v/v) sodium hypochlorite for 7 min, followed by 70% (v/v) alcohol for 5 min and then rinsed in distilled water. Subsequently, the rice seeds were submerged

in each of the bacterial suspensions ( $1 \times 10^8$  CFU mL<sup>-1</sup>), prepared in nutrient broth (NB) (8 g L<sup>-1</sup>) separately, and kept at 28 °C for 24 h under constant agitation at 150 rpm. The control treatment seeds were submerged in NB and kept under the same agitation and temperature conditions. At the end of the process, the seeds were spread on filter paper inside a laminar flow chamber for drying (Filippi et al. 2011).

### Characterization of the area and experimental design

The trial was conducted over two seasons at the experimental field located at Fazenda Capivara, Embrapa Rice and Beans, in the municipality of Santo Antônio de Goiás, GO, Brazil (16° 28'00" S and 49° 17'00" W). The climate charts highlighting the temperature variations and rainfall indices on the collection day are described in Figs. S1 and S2.

The soil collected in the 0–0.20 m layer is classified as Dystrophic Red Latosol with the following chemical characteristics: In Season 1, the soil had a pH of 4.9; Ca = 1.1 cmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup>; Mg = 0.9 cmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup>; H + Al = 3.6 cmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup>; P = 1.5 mg/dm<sup>3</sup>; K = 0.11 cmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup>; Cu = 1.5 mg/dm<sup>3</sup>; Zn = 2.6 mg/dm<sup>3</sup>; Fe = 62.70 mg/dm<sup>3</sup>; Mn = 0.90 cmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup>; organic matter (OM) = 3.12%. In Season 2, the soil had a pH of 5.1; Ca = 1.1 cmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup>; Mg = 0.5 cmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup>; H + Al = 2.5 cmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup>; P = 0.5 mg/dm<sup>3</sup>; K = 32 mg/dm<sup>3</sup>; Cu = 1.6 mg/dm<sup>3</sup>; Zn = 4.3 mg/dm<sup>3</sup>; Fe = 42.3 mg/dm<sup>3</sup>; Mn = 9.2 mg/dm<sup>3</sup>; OM = 24 mg/dm<sup>3</sup>. The trial was conducted under low P (LP) conditions, with Season 1 at 1.5 mg/dm<sup>3</sup> and Season 2 at 0.5 mg/dm<sup>3</sup>. For upland rice cultivation, phosphorus (P) levels are considered low (LP) up to 2.6 mg/dm<sup>3</sup>, medium (3.1–6 mg/dm<sup>3</sup> P), and high (above 6 mg/dm<sup>3</sup> P) (Santos et al. 2006).

Before planting, macronutrient fertilization, except for phosphorus, was carried out according to the recommendations based on soil analysis: K<sub>2</sub>O (potassium chloride)—46 mg kg<sup>-1</sup> of soil, N (ammonium sulfate)—36 mg kg<sup>-1</sup> of soil. For Si fertilization, calcium and magnesium silicate (SiCaMg) containing 10.5% Si, 27% calcium, and 6% magnesium was used at the recommended rate of 2 T ha<sup>-1</sup> (Côrtes et al. 2015).

A randomized block design was used, with plots consisting of four rows of two meters, five treatments, and four replicates. The treatments (T) combined the mix of the three rhizobacteria (item 2.1.1) selected according to their potential in phosphorus solubilization, resistance to osmotic stress, and suppression of blast performed by Faria (2021), in three application methods (Fig. S3) and Si fertilization, except in the absolute control. The application methods were ST—seed treatment; WG—watering (30 days); SP—spraying (60 days), except in the absolute control: T1 (ST and WG with BRM32114 + BRM32110 and SP with BRM32110); T2 (ST and WG with BRM32114 + 63523; SP

with BRM32114); T3 (ST, WG, and SP with BRM32114 + BRM32110 + BRM63523); T4 control (without bacteria and with Si fertilization); T5 absolute control (without bacteria and without Si fertilization). The isolates *S. marcescens* and *B. toyonensis* are compatible according to Nascente et al. (2023).

### Evaluation of blast severity

The area under the disease progress curve (AUDPC) was calculated from three evaluations at two-day intervals. From the appearance of the first disease symptoms, leaf blast severity (LBS) was quantified using the diagrammatic scale (Nottingham 1981) on the first and second expanded leaves, totaling eight plants evaluated per plot. For evaluating panicle blast severity (PBS), 10 panicles from each plot were randomly selected and evaluated using a six-grade scale (0: no disease observed, 1: < 5%, 3: 5–10%, 5: 11–25%, 7: 26–50%, and 9: more than 50%), according to Irri (1996). AUDPC estimates for leaves and panicles were calculated according to the method of Shaner and Finney (1977).

### Sampling collection and protein extraction procedure

Leaf collection for enzyme evaluation occurred in two periods. The first collection was performed after the watering of treatments in the vegetative stage (VS), and the second in the reproductive stage (RS) after the spraying of bioagents. The collected material was stored in an ultra-freezer (−80 °C) and then macerated in liquid nitrogen (N) to obtain a powder. The extract was obtained using 0.1 g of the macerated powder in 2 mL of extraction buffer composed of 10 mM Tris–HCl, 150 mM NaCl, and 2 mM EDTA (pH 7.0). The obtained extract was then shaken for 1 min and centrifuged under refrigeration (4 °C) for 30 min at 13,000 g. The supernatant was transferred to new tubes for protein quantification and enzymatic assays.

### Quantification of plant defense-related enzymes

#### Chitinase activity (CHI, EC 3.2.1.14)

CHI activity was determined by the methodologies of Pan et al. (1991) and Babu et al. (2003) with modifications for rice culture, using 100 µL of extracts from each sample in triplicate and adding 300 µL of 1% colloidal chitin in 1.0 M sodium acetate buffer at pH 5.0. The reaction was homogenized and incubated for 24 h. The reaction product was quantified using the DNS method (1% dinitrosalicylic acid), adding 1 mL to each sample and heating in a water bath (100 °C). After cooling, 100 µL were transferred to ELISA plates, and the absorbance was read at 540 nm using

a spectrophotometer. One unit of enzymatic activity was defined as the production of 1 µmol of reducing sugar per minute per milligram of protein.

#### β-1,3-Glucanase activity (GLU, EC 3.2.1.6)

GLU activity was determined according to the methodology proposed by Pan et al. (1991) with modifications. In a 2 mL tube, 100 µL of the extract and 300 µL of 1% laminarin in 100 mM sodium acetate buffer (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), pH 4.5, were added. The reaction was homogenized and incubated for 2 h at room temperature. After this period, the reaction was stopped with 1% DNS (3,5-dinitrosalicylic acid), remaining for 5 min in a water bath (100 °C). After cooling, 100 µL were transferred to ELISA plates, and the absorbance was read at 540 nm using a spectrophotometer. The unit of β-glucanase activity was defined as the number of µmol of reducing sugars released per minute per milligram of protein.

#### Lipoxygenase activity (LOX, EC 1.13.11.12)

LOX activity was determined by the method described by Axelrod et al. (1981) with modifications, using 1% linoleic acid in 50 mM phosphate buffer at pH 6.0 as the substrate, adding 50 µL of extract from each sample in triplicate. The reaction was homogenized and incubated for 24 h at 25 °C. The enzymatic activity was measured using a Spectrum SP-2000 UV spectrophotometer at a wavelength of 234 nm and expressed in µmol of hydroperoxide of oxidized linoleic acid per minute per mg of protein.

#### Phenylalanine ammonia-lyase activity (PAL EC 4.3.1.5)

PAL activity was determined by quantifying the product generated (trans-cinnamic acid) by the hydrolysis of the L-phenylalanine substrate using the method described by Alunni et al. (2003) with modifications. For this, 1.5 mL of 10 mM phenylalanine solution in 100 mM borate buffer at pH 9.0 was used. Then, 50 µL of each sample extract in triplicate was added. The reaction was homogenized and incubated for 24 h at room temperature. The absorbance was read using a Spectrum SP-2000 UV spectrophotometer at a wavelength of 290 nm. Enzymatic activity was defined as the amount of trans-cinnamic acid produced in micrograms per mg of protein (Chaibub et al. 2016).

### Quantification of enzymes with antioxidant activity

The collection of the material followed the same procedure as described in item sampling collection and protein extraction procedure. The extract was obtained using 0.1 g of the macerated powder in 2 mL of an extraction solution

(100 mmol L<sup>-1</sup> potassium phosphate buffer; 12 mM EDTA; 1.3 mmol L<sup>-1</sup> dithiothreitol (DTT); 2% PVPP; pH 7.0. The solution was then shaken for 1 min and centrifuged under refrigeration (4 °C) for 25 min at 11,200 g. The supernatant was transferred to new tubes for enzymatic assays.

#### Superoxide dismutase (SOD, EC 1.15.1.1)

SOD activity was determined using the methodology of Sun et al. (1988) with adaptations for rice culture, through two reactions: the sample and the sample blank. Both reactions consisted of adding 50 µL of the leaf extract to 2 mL of determination buffer (50 mM sodium phosphate buffer, pH 7.8), 250 µL methionine (13 mM), 250 µL p-nitro-blue tetrazolium (NBT) (0.4 mM); 250 µL EDTA (12 mM), and 250 µL riboflavin (0.01 mM). The reaction occurred at 25 °C with exposure to light for the sample and in the absence of light for the sample blank. After 10 min of light exposure, the illumination was stopped, and the blue formation produced by the photo-reduction of NBT was measured in a spectrophotometer at 560 nm in both samples (illuminated and non-illuminated) (Del Longo et al. 1993). One unit of SOD was defined as the amount of enzyme required to inhibit the photo-reduction of NBT by 50% (Beauchamp and Fridovich 1971).

#### Catalase (CAT, EC. 1.11.1.6)

CAT activity was determined using the methodology of Kar and Mishra (1976) with adaptations for rice culture. The mixture consisted of 1950 µL of determination buffer (100 mM potassium phosphate buffer, pH 7.5), 150 µL extraction solution, and 750 µL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (50 nM). The reaction was initiated by adding 150 µL of leaf extract, and activity was determined by the consumption of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> over 3 min, at 30-s intervals, using a spectrophotometer at 240 nm. The molar extinction coefficient of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Anderson et al. 1995) was used to determine the specific CAT activity, expressed in U·min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> of protein.

#### Peroxidase (POX EC 1.11.1.7)

POX activity was evaluated by measuring the oxidation rate of 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) through its colorimetric property. The reaction mixture consisted of ABTS solution (0.4 mg mL<sup>-1</sup>) in 1.0 mL sodium acetate buffer (0.1 M, pH 4.0), 200 µL of hydrogen peroxide (50 mM), and 50 µL of the extract. The reaction was analyzed using a spectrophotometer at 405 nm. One unit of POX activity was defined as the amount of enzyme required to catalyze the formation of ABTS necessary to increase the absorbance by 1 unit per hour (Cortes et al. 2008).

#### Ascorbate peroxidase (APX, EC 1.11.1.11.)

APX activity was determined using the methodology of Nakano and Asada (1981) with adaptations for rice culture. The reaction mixture consisted of 1400 µL of determination buffer (100 mM potassium phosphate buffer, pH 7.5), 50 µL of EDTA (12 mM), 300 µL of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, and 200 µL of ascorbic acid (50 nM). The reaction was initiated by adding 150 µL of the leaf extract, and activity was determined by the consumption of ascorbic acid over 3 min, at 10-s intervals, using a spectrophotometer at 240 nm. APX activity was expressed in µmol min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> of protein.

### Indicators of biochemical changes

#### Hydrogen peroxide

Samples containing 250 mg of leaf tissue were macerated in liquid N, homogenized in 1.5 mL of 0.1% trichloroacetic acid (TCA), and centrifuged at 12,000 g for 15 min at 4 °C. The supernatant was used to determine the hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) content, measured spectrophotometrically by reading the absorbance at 390 nm. A calibration curve was obtained using standard H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solutions prepared in 0.1% TCA for quantification (Junglee et al. 2014).

#### Pigment contents

Chlorophyll pigments (Chl a), chlorophyll b (Chl b), and carotenoids were determined using the method proposed by Pignata et al. (2002). Samples of 0.120 g of leaves macerated in liquid N were homogenized in 5 mL of 80% acetone. The supernatant was read using a spectrophotometer at wavelengths of 645 nm for Chl a, 652 nm for Chl b, and 470 nm for carotenoids. The results were expressed in mg g<sup>-1</sup> of fresh mass.

#### Yield

The rice harvest was conducted using a precision harvester in the usable area of each plot. The harvested grains were weighed, and based on the mass of the harvested grains, the yield was calculated (estimated in kg ha<sup>-1</sup>).

#### Statistical analysis

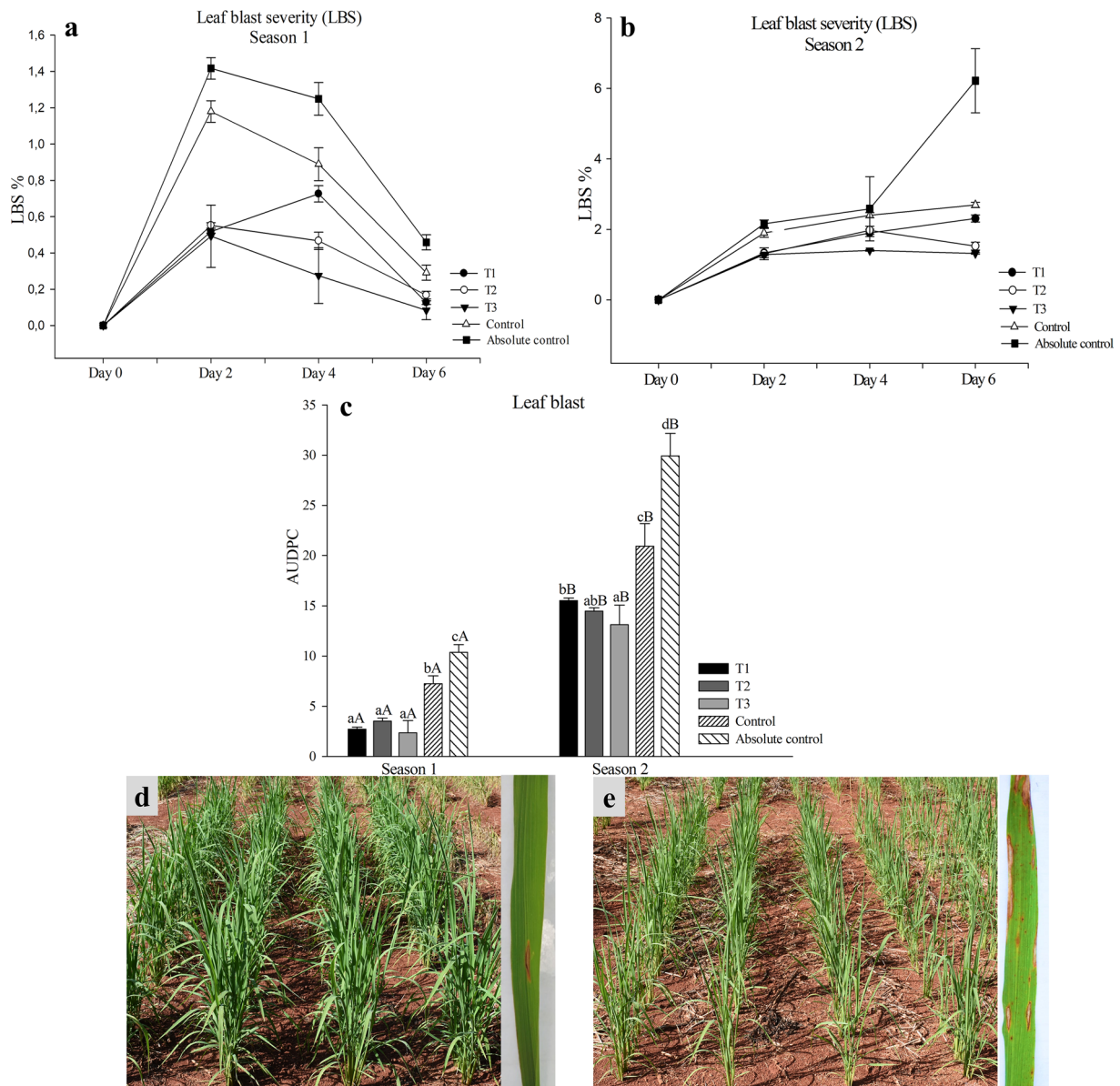
We used the SIVAR program version 5.3 (Ferreira 2011) for the analysis of variance (ANOVA) in a factorial scheme of 5 (treatments) × 2 (two seasons) and 4 repetitions. When the F-test was significant, the means were compared using Tukey's test (*P* < 0.05). Factorial analysis graphs were created using Sigma Plot 12.0 software. Correlations between quantitative variables

were determined using Pearson correlation (Pearson 1895) with the Python programming language (version 3.9.7; Python Software Foundation), and a heatmap was generated to visualize the results.

## Results

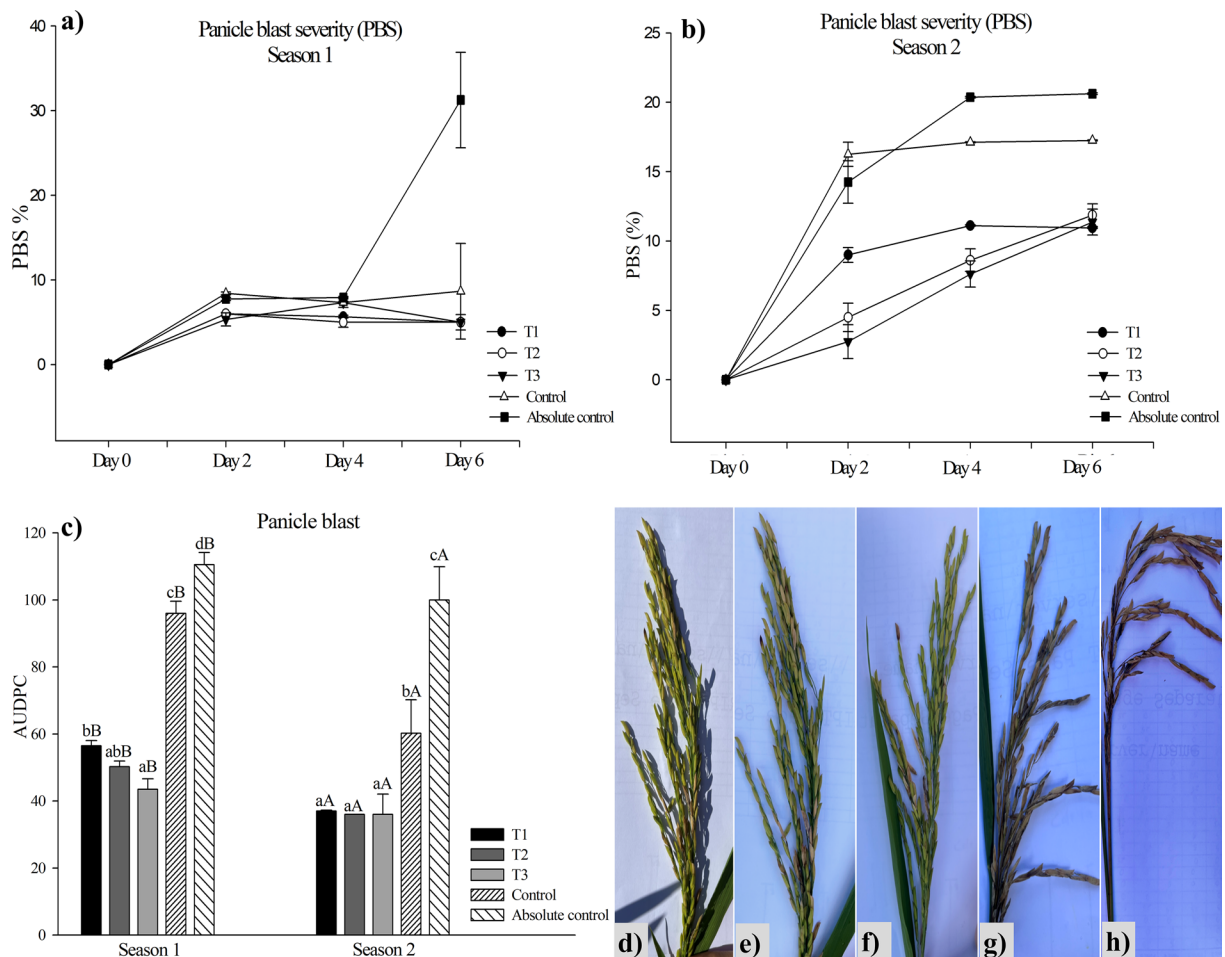
### Leaf blast and panicle blast severity

Treatments combining the rhizobacteria *S. marcescens* and *B. toyonensis* plus Si significantly reduced ( $P < 0.05$ ) the LBS and PBS (Figs. 1 and 2) in upland rice plants in



**Fig. 1** Leaf blast severity (LBS; %) and area under the disease progress curve (AUDPC) in upland rice plants (cv BRS Esmeralda) subjected to treatments with rhizobacteria and Si. T1: BRM32114+32110 (ST and WG), BRM32110 (SP); T2: BRM32114+63523 (ST and WG), BRM32114 (SP); T3: BRM32114+BRM32110+BRM63523 (ST, WG, SP); T4: control (without bacteria and with Si fertilization); T5: absolute control (without bacteria and without Si fertilization). **a** LBS Season 1. **b**

LBS Season 2. **c** AUDPC. **d** Plot of rice plants from T3 and health of leaves. **e** Plot of rice plants from absolute control and health of leaves. For AUDPC (**a**), mean values ( $n=60$ ) followed by different lowercase letters within each season are significantly different at  $P=0.05$ . For AUDPC (**a**) means ( $n=60$ ) followed by different uppercase letters across the two seasons are significantly different at  $P=0.05$ , according to factorial analysis using SISVAR software



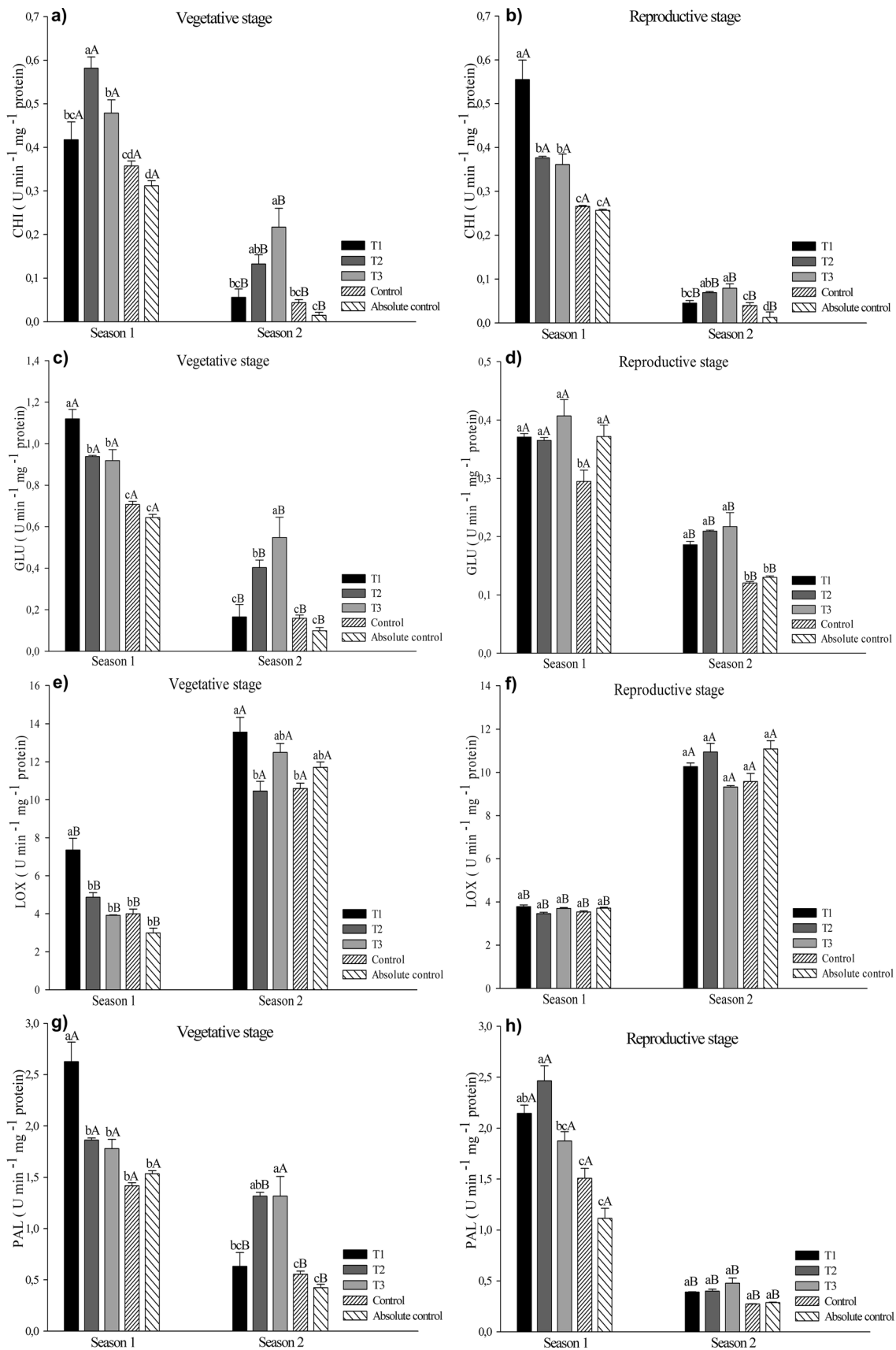
**Fig. 2** Panicle blast severity (PBS; %) and area under the disease progress curve (AUDPC) in upland rice plants (cv BRS Esmeralda) subjected to treatments with rhizobacteria and Si. T1: BRM32114+32110 (ST and WG), BRM32110 (SP); T2: BRM32114+63523 (ST and WG), BRM32114 (SP); T3: BRM32114+BRM32110+BRM63523 (ST, WG, SP); control (without bacteria and with Si fertilization); AC: absolute control (without bacteria and without Si fertilization). **a** PBS 1. **b** PBS Season 2. **c**

AUDPC. **d–h** Health of rice plant panicles from treatments T1, T2, T3, control and absolute control, respectively. For AUDPC (**a**), mean values ( $n=40$ ) followed by different lowercase letters within each season are significantly different at  $P=0.05$ . For AUDPC (**a**), means ( $n=40$ ) followed by different uppercase letters across the two seasons are significantly different at  $P=0.05$ , according to factorial analysis using SISVAR software

both seasons. Four evaluations for LBS were conducted. In Season 1, during the first evaluation on day 0, no blast symptoms were observed on the leaves. On days 2, 4, and 6, treatments T1, T2, and T3, which combined the bioagents BRM32114, BRM32110, BRM63523, and Si, were similar to each other but differed from the controls (T4 and T5) (Fig. 1a). In Season 2, on day 4, disease suppression was greater in T1 and T2. On day 6, the treatments only differed from the absolute control (T5) (Fig. 2a). For PBS (Season 2), on day 2, disease suppression was greater in T1 and T3 compared to the controls T4 and T5. On days 4 and 6, T1, T2, and T3 were similar to each other but differed from the controls T4 and T5, with reductions of 62.37% and 49.07%, respectively (Fig. 2b). Si reduced PBS by 84% (Season 1) and 49.07% (Season 2) when compared to the absolute control (without bacteria and without Si fertilization). At the end of the evaluation period, the AUDPC calculation showed that treatments

combining bioagents reduced the severity by 77.31% (Season 1) and 58.15% (Season 2) compared to controls T4 and T5 (Fig. 1c).

Regarding the PBS (Season 1) evaluation, no symptoms were observed on day 0. On day 2, the treatments did not differ from each other. On day 4, disease suppression was greater in T1 and T2. On day 6, the treatments only differed from the absolute control (T5) (Fig. 2a). For PBS (Season 2), on day 2, disease suppression was greater in T1 and T3 compared to the controls T4 and T5. On days 4 and 6, T1, T2, and T3 were similar to each other but differed from the controls T4 and T5, with reductions of 62.37% and 49.07%, respectively (Fig. 2b). Si reduced PBS by 84% (Season 1) and 49.07% (Season 2) when compared to the absolute control (without bacteria and without Si fertilization). At the



**Fig. 3** Activity of defense enzymes, CHI (a, b), GLU (c, d), LOX (e, f), PAL (g, h) in the upland rice cv BRS Esmeralda, subjected to treatments with rhizobacteria and Si, at vegetative and reproductive stages. T1: BRM32114+32110 (ST and WG), BRM32110 (SP); T2: BRM32114+63523 (ST and WG), BRM32114 (SP); T3: BRM32114+BRM32110+BRM63523 (ST, WG, SP); T4: control (without bacteria and with Si fertilization); T5: absolute control (without bacteria and without Si fertilization). Mean values ( $n=6$ ) followed by different lowercase letters within each season are significantly different at  $P=0.05$ . Means ( $n=6$ ) followed by different uppercase letters across the two seasons are significantly different at  $P=0.05$ , according to factorial analysis using SISVAR software

end of the evaluation period, the AUDPC calculation showed that treatments with bioagents and Si reduced AUDPC by up to 60.63% (Season 1) and 56.63% (Season 2) compared to the controls (Fig. 2c).

### Defense enzymes

The factorial statistical analysis showed a significant interaction ( $P<0.05$ ) between the treatments. The combinations of the rhizobacteria *S. marcescens* and *B. toyonensis* plus Si fertilization induced increases in the activity of enzymes involved in plant defense in the cultivar BRS Esmeralda at both stages (VS and RS) and across different seasons conducted in the same experimental field area (Fig. 3).

#### Chitinase (CHI)

In the VS during Season 1, T2 showed the highest specific enzyme activity, with an increase of 86.21% compared to the controls. In Season 2, treatments T2 and T3 exhibited a 1450% increase compared to the control. In the RS during Season 1, T1 showed the highest specific enzyme activity, with an increase of up to 116.79% compared to the controls. In Season 2, T3 showed an increase of up to 532% compared to the controls. All treatments showed higher CHI enzyme activity in both stages in the first season (Fig. 3a, b).

#### $\beta$ -1,3-Glucanase (GLU)

In the VS, T1 (Season 1) and T3 (Season 2) showed the highest specific enzyme activity, with increases of up to 73.43% and 507.77%, respectively, compared to the controls. In the RS during Season 1, the treatments with bioagents and Si differed only from the control. In Season 2, treatments with bioagents and Si were superior to the controls, showing a 75% increase. All treatments showed higher GLU enzyme activity in both stages in the first season (Fig. 3c, d).

#### Lipoxygenase (LOX)

In the VS, specific enzyme activity of LOX was higher in T1 (Season 1) and T2 (Season 2), with increases of 146.64% and

29.63%, respectively, compared to the controls. In the RS, the treatments were similar in both seasons. All treatments showed higher LOX enzyme activity in the second season in both stages (Fig. 3e, f).

#### Phenylalanine ammonia-lyase (PAL)

In the VS, specific enzyme activity of PAL was higher in T1 (Season 1) and T2 (Season 2), with increases of up to 85.81% and 211.90%, respectively, compared to the controls. In the RS, there was a difference only in Season 1, where T2 showed higher PAL activity, with an increase of up to 121.62% compared to the controls. All treatments showed higher PAL enzyme activity in both stages in the first season (Fig. 3g, h).

### Antioxidant enzymes

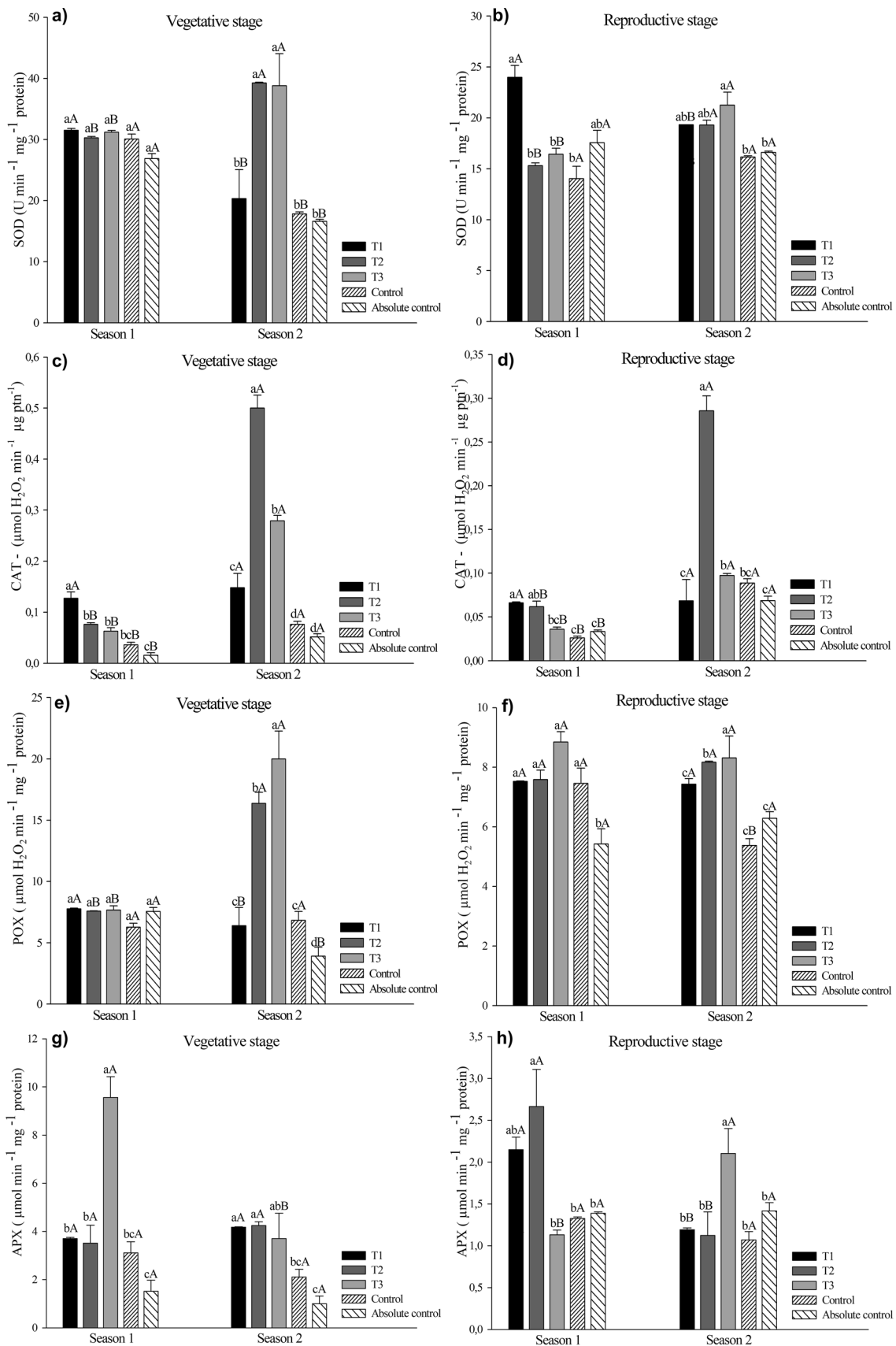
In the factorial analysis (treatments x seasons), there was a significant interaction ( $P<0.05$ ) in the evaluated stages. The combinations of the rhizobacteria *S. marcescens* and *B. toyonensis* plus Si fertilization induced increases in the antioxidant activity of the cultivar BRS Esmeralda in the two seasons harvested in the field (Fig. 4).

#### Superoxide dismutase (SOD)

In the VS during Season 1, the treatments were similar. In Season 2, T2 and T3 showed higher specific enzyme activity, with an increase of up to 137.38% compared to the controls. In the RS during Season 1, T1 showed higher specific enzyme activity, with an increase of 70.34% compared to the controls. In Season 2, T3 showed higher specific enzyme activity, with an increase of 43.47% compared to the controls (Fig. 4a, b). In the factorial analysis between seasons, T1, control, and absolute control showed higher SOD activity in Season 1, while T2 and T3 showed higher SOD activity in Season 2 in the VS (Fig. 4a, b).

#### Catalase (CAT)

In the VS and RS (Season 1), T1 showed the highest enzyme activity, with increases of up to 746.66% and 133.84%, respectively, compared to the controls. In Season 2, both in the VS and RS, T2 was superior, with increases of up to 880.39% and 319.11%, respectively, compared to the controls. All treatments showed higher CAT enzyme activity in the second season in both stages, except for T1, which was similar (Fig. 4c, d).



**Fig. 4** Activity of antioxidant enzymes SOD (a, b), CAT (c, d), POX (e, f), APX (g, h) in the vegetative and reproductive stages of upland rice cv BRS Esmeralda subjected to treatments with rhizobacteria and Si. T1: BRM32114+32110 (ST and WG), BRM32110 (SP); T2: BRM32114+63523 (ST and WG), BRM32114 (SP); T3: BRM32114+BRM32110+BRM63523 (ST, WG, SP); T4: control (without bacteria and with Si fertilization); T5: absolute control (without bacteria and without Si fertilization). Mean values ( $n=4$ ) followed by different lowercase letters within each season are significantly different at  $P=0.05$ . Means ( $n=4$ ) followed by different uppercase letters across the two seasons are significantly different at  $P=0.05$ , according to factorial analysis using SISVAR software

### Peroxidase (POX)

In the VS during Season 1, the treatments were similar. In Season 2, T2 showed higher specific POX activity, with an increase of 411.25%. In the RS during Season 1, the treatments differed only from the absolute control. In Season 2, T3 showed higher POX activity, with an increase of 54.74%. In the factorial analysis between seasons, in the VS, T1 and the absolute control had higher activity in Season 1, while the other treatments had higher activity in Season 2. In the RS, all treatments, except for the control, were similar between seasons (Fig. 4e, f).

### Ascorbate peroxidase (APX)

In the vegetative stage (VS) during Season 1, T2 showed the highest APX activity, with an increase of up to 533.11% compared to the controls. In Season 2, the treatments with bioagents and Si were similar and superior to the controls, with an increase of 320%. In the reproductive stage (RS), T2 in Season 1 and T3 in Season 2 showed the highest APX activity, with increases of 533.11% and 324%, respectively. In the factorial analysis of treatments between seasons, in the VS, only T3 differed statistically, being superior in Season 1. In the RS, T1 in Season 1 and T3 in Season 2 were superior to the other treatments (Fig. 4g, h).

### Biochemical indicators

In the factorial analysis (treatments  $\times$  seasons), there was a significant interaction ( $P < 0.05$ ) in the evaluated stages. The combinations of the rhizobacteria *S. marcescens* and *B. toyonensis* plus Si fertilization showed higher quantities of biochemical indicators in the plants of the cultivar BRS Esmeralda in two seasons harvested in the field (Fig. 5).

### Chlorophyll a

In the VS during Season 1, the treatments with bioagents and Si and the control were similar and superior to the absolute control. In Season 2, the highest concentration of Chl-a was in T3, with an increase of 140% compared to the absolute

control. In the RS, in both seasons, the treatments were similar, except for the control in Season 1. In the factorial analysis between seasons, all treatments showed higher concentrations of Chl-a in the second season in both stages (Fig. 5a, b).

### Chlorophyll b

In the VS during Season 1, T1, T3, and the control were similar and superior to the absolute control. In Season 2, T2 and T3 showed the highest concentrations of Chl-b, with an increase of 95.12% compared to the control. In the RS, the treatments were similar in Season 1, and T2 showed the highest concentration in Season 2, with an increase of 49.8%. In the factorial analysis between seasons, all treatments showed higher concentrations of Chl-b in the second season in both stages (Fig. 5c, d).

### Carotenoids

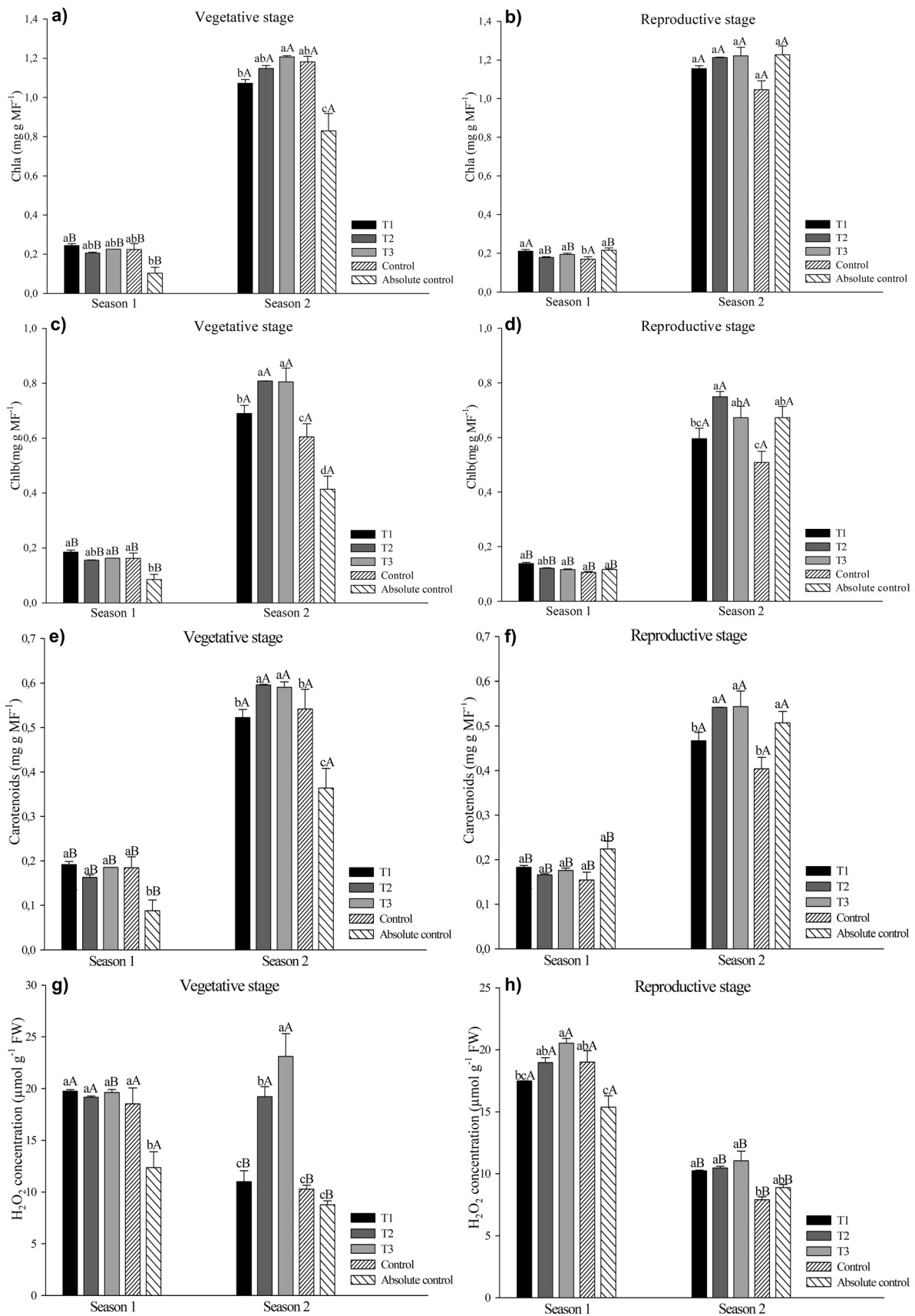
In the VS during Season 1, T1, T3, and the control were similar and superior to the absolute control. In Season 2, T2 and T3 showed the highest concentrations of carotenoids, with an increase of up to 63.88% compared to the absolute control. In the RS, the treatments were similar in Season 1, while T2, T3, and the absolute control showed higher concentrations in Season 2, with an increase of 35%. In the factorial analysis between seasons, all treatments showed higher concentrations of carotenoids in the second season in both stages (Fig. 5e, f).

### H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

In the VS during Season 1, T1, T3, and the control were similar and superior to the absolute control. In Season 2, T3 showed the highest production of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, with an increase of up to 163.58% compared to the absolute control. In the RS during Season 1, T3 showed the highest production of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, with an increase of up to 33.57% compared to the absolute control. In Season 2, the treatments with bioagents and Si were superior to the control, with an increase of 39.92%. In the factorial analysis between seasons, in the VS, only T2 was similar, while the other treatments were superior in Season 1. In the RS, all treatments showed higher concentrations of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in the first season (Fig. 5g, h).

### Yield of cultivar BRS Esmeralda

There was a significant interaction ( $P < 0.05$ ). In the factorial analysis (treatment  $\times$  season). In Season 1, the treatments were similar. In Season 2, the combination of the rhizobacteria *S. marcescens* and *B. toyonensis* plus Si fertilization in T1 achieved the highest yield, with an increase of 71.95%



**Fig. 5** Activity of biochemical indicators Chl a (a, b), Chl b (c, d), carotenoids (e, f), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (g, h) in the vegetative and reproductive stages of upland rice cv BRS Esmeralda, subjected to treatments with rhizobacteria and Si. T1: BRM32114+32110 (ST and WG), BRM32110 (SP); T2: BRM32114+63523 (ST and WG), BRM32114 (SP); T3: BRM32114+BRM32110+BRM63523 (ST, WG, SP); T4: control (without bacteria and with Si fertilization); T5: absolute control (without bacteria and without Si fertilization). Mean values ( $n=4$ ) followed by different lowercase letters within each season are significantly different at  $P=0.05$ . Means ( $n=4$ ) followed by different uppercase letters across the two seasons are significantly different at  $P=0.05$ , according to factorial analysis using SISVAR software

compared to the absolute control. Between seasons, T1 and T3 were similar. T2, control, and absolute control had higher yields in Season 2 (Fig. 6).

### Pearson correlation between variables of Season 1 and Season 2

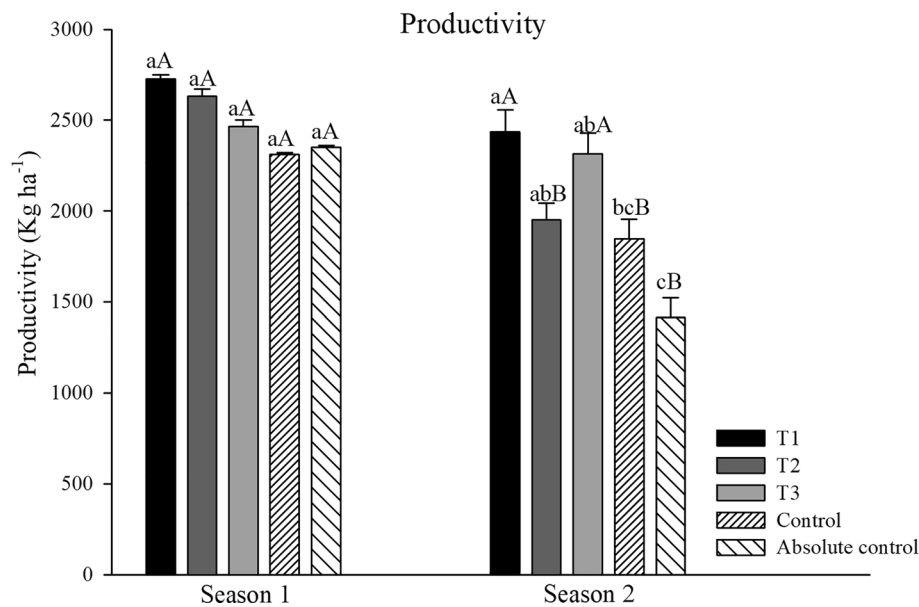
In the Pearson correlation analysis of the variables, significant results ( $P<0.05$ ) were observed for all assays (Figs. 7 and 8). LBS correlated negatively and significantly with all PR proteins (except POX), antioxidant enzymes, biochemical indicators, and yield in Season 1 (Fig. 7a). PBS showed a strong negative and significant correlation with CHI, PAL, POX, carotenoids, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, and yield in Season 1 (Fig. 7b). In Season 2, LBS correlated negatively and significantly with all PR proteins (except LOX), antioxidant enzymes, biochemical indicators, and yield (Fig. 8a). PBS showed a strong negative and significant correlation with the variables CHI, GLU, PAL, SOD, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, and yield in Season 2 (Fig. 8b).

### Discussion

The blast caused by the fungus *M. oryzae* can affect the entire aerial part of the plant, from the early stages of development to the final grain-filling phase, and is prevalent in all regions where this cereal is cultivated (Ogoschi et al. 2018). Currently, the management of leaf and panicle blasts is achieved through an integration of cultural practices, genetic resistance, and chemical control. However, the complex biology of *M. oryzae* leads producers to schedule fungicide applications, often applying them unnecessarily. Additionally, excessive N fertilization in pursuit of high yield accelerates the progression of disease severity. Managing both leaf and panicle blasts requires the inclusion of sustainable measures, such as biological agents capable of promoting biological control of the disease and plant growth (Prabhu et al. 2003; Silva-Lobo et al. 2012). Rhizobacteria suppress phytopathogens through various mechanisms, such as competition for space and nutrients, production of metabolites, antibiotics, siderophores, and extracellular

enzymes. They can be used independently or as important components in the sustainable management of rice diseases (Hassan et al. 2014; Dubey et al. 2015). Recent studies conducted by our team have determined the efficiency of these isolates in producing extracellular enzymes such as amylase, cellulase, lipase, pectinase, protease, and chitinase, as well as biofilm and siderophores (siderophores units (SU)=53.1 and 46.0%) (Faria 2021; Faria et al. 2023). These findings suggest that enzymes, biofilm, and siderophores are important components that act during interactions with phytopathogens and other members of the rice microbiota.

In the present study, we evaluated the synergistic effect of combining the rhizobacteria BRM32114 (*S. marcescens*) and BRM32110 (*B. toyonensis*) with Si in different application methods to suppress leaf and panicle blasts across two seasons conducted under field conditions with low P (LP) fertilization. In the factorial analysis of our study, we demonstrated that the combination of bioagents and Si suppressed LBS and PBS by up to 84%, in addition to reducing AUDPC by up to 77.31% (Figs. 1 and 2). Both seasons faced challenges from biotic stress (blast—*M. oryzae*) and abiotic stress (water deficit—absence of rainfall) and differed from each other. Previous studies (Filippi et al. 2011; Sperandio et al. 2017; Sousa et al. 2020) have reported the efficiency of the rhizobacteria *Pseudomonas fluorescens* (BRM32111) and *Burkholderia pyrrocinia* (BRM32113) in suppressing LBS by 66% and 80% and PBS by 50% and 80%, respectively, in upland rice, corroborating our results. Besides blast, the genera *Serratia*, *Bacillus*, *Priestia*, *Enterobacter*, *Stenotrophomonas*, and *Pseudomonas* have shown prominence as suppressors of brown spot, and sheath blight (Ajulo et al. 2023, 2024a, 2024b). *Serratia marcescens* (BRM63521) was also evaluated for its suppression of sheath blight (*Rhizoctonia solani*) in vitro (with a reduction of 66.32%) and in the greenhouse (relative lesion size of 23.37 cm) (Ajulo et al. 2023). This information is crucial for the integrated management of rice diseases. As another sustainable method for managing leaf and panicle blast, we used Si in the form of Si fertilization (SiCaMg) associated with bioagents. Si is one of the most abundant minerals in the Earth's crust, and rice is characterized as a Si-accumulating and Si-responsive crop. After being absorbed by the plant, Si is deposited in the cell wall, forming a double layer of silica-cuticle and silica-cellulose, creating a strengthened physical barrier that prevents or delays pathogen penetration (Shi et al. 2013; Chen et al. 2019; Prado et al. 2020). It also improves plant resistance to biotic and abiotic stresses, mediating the modulation of intracellular signaling system activity, which is considered a primary response in pathogen-infected cells. Intracellular signaling leads to the expression of defense genes that direct the hypersensitive response, structural modifications of cell walls, synthesis of antimicrobial compounds, and



**Fig. 6** Yield of the rice cv BRS Esmeralda subjected to treatments with rhizobacteria and Si cultivated under low phosphorus conditions. T1: BRM32114+32110 (ST and WG), BRM32110 (SP); T2: BRM32114+63523 (ST and WG), BRM32114 (SP); T3: BRM32114+BRM32110+BRM63523 (ST, WG, SP); T4: control (without bacteria and with Si fertilization); T5: absolute control

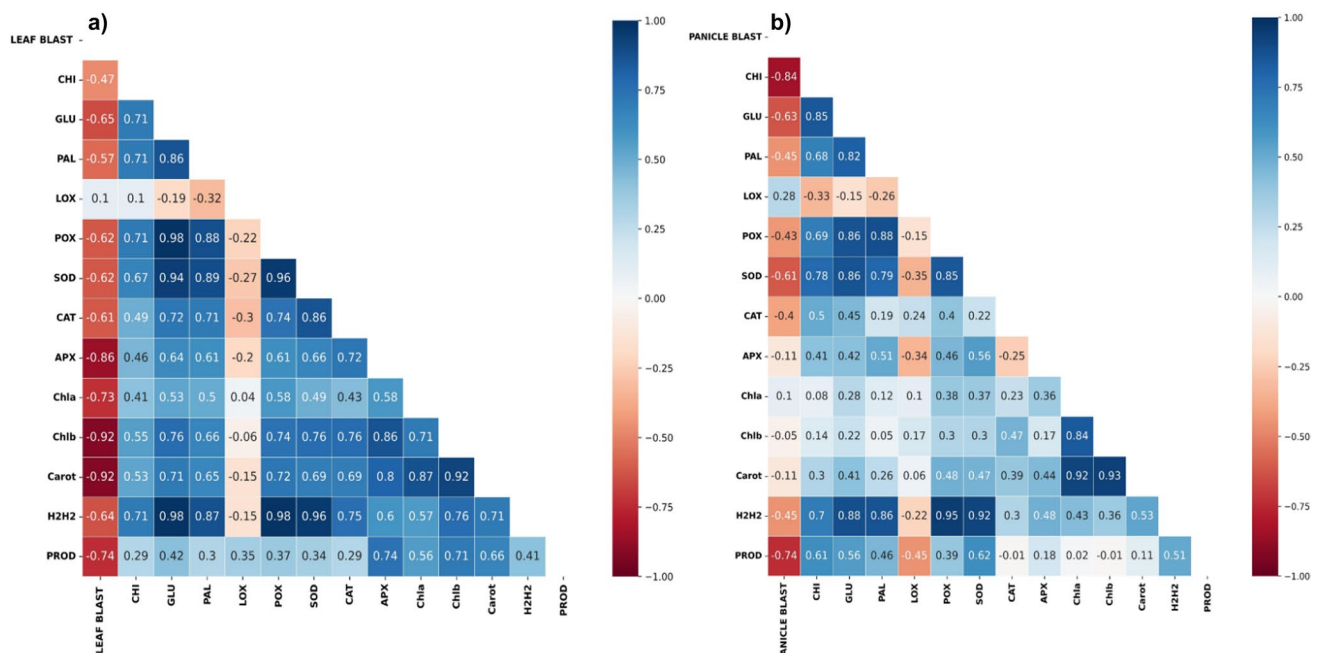
(without bacteria and without Si fertilization). Mean values ( $n=4$ ) followed by different lowercase letters within each season are significantly different at  $P=0.05$ . Means ( $n=4$ ) followed by different uppercase letters across the two seasons are significantly different at  $P=0.05$ , according to factorial analysis using SISVAR software

PR proteins (Kurabachew and Wydra 2014; Coskun et al. 2019). Our results showed the isolated effect of Si as one of the suppressors of blast when compared to the control (without bioagents and with Si). We observed that, in the absence of Si, there was an increase in LBS of up to 81.57% (Fig. 2). In previous studies (Faria et al. 2023), in upland rice plants fertilized with Si and treated with *Burkholderia cepacia* (BRM32111), the AUDPC of leaf blast was 87.96% lower than the control. The same authors reported that the combination of Si and *B. cepacia* resulted in an 84.13% lower AUDPC of leaf blast in rice plants subjected to water deficiency. These findings are consistent with our results, where upland rice plants treated with bioagents and fertilized with Si showed a reduction in AUDPC of up to 77.31% in leaves and 56.63% in panicles under field conditions.

The results of the enzymatic activities provide insights into the mechanisms involved in suppressing them. The reduction in disease severity (Figs. 1 and 2) indicates that treatments with bioagents and Si enable the plant to react against *M. oryzae* invasion by activating defense mechanisms, increasing the activity of CHI, GLU, LOX, and PAL (Fig. 3) more efficiently than untreated plants. Changes in the activities of these enzymes allow for monitoring the induced-systemic resistance (ISR) status of plants exposed to pathogens (Almeida et al. 2012; Pieterse et al. 2014). The heatmap showed a strong negative correlation between LBS in both stages (VS and RS) and the enzymatic activities

of CHI (0.67), GLU (0.89), CAT (0.74), and APX (0.86). The higher the enzymatic activity, the lower the LBS. The bioagents combined with Si in T3 induced higher activity of CHI, GLU, and PAL by up to 1450%, 507.77%, and 211.90%, respectively (Fig. 3). Many plant species accumulate chitinases and  $\beta$ -1,3-glucanases in response to phytopathogen infection. These enzymes hydrolyze organic polymers like  $\beta$ -1,3-glucans and chitins, which are the main components of the cell walls of most fungi (Boller 1993; Yarullina et al. 2016; Vaghela et al. 2022). Wang et al. (2021) observed that a novel  $\beta$ -1,3-glucanase was involved in rice's defense response against *M. oryzae*, where  $\beta$ -1,3-glucanase Gns6 (0.3 to 0.5  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ) inhibited germ tube formation and reduced appressorium formation by 84%. PAL catalyzes the first reaction in the biosynthesis of phenylpropanoids in plants and is the precursor enzyme for various defense compounds such as lignin, suberin, phytoalexins, flavonoids, and general phenolic compounds. The synthesis and accumulation of these compounds are part of the strategy developed by plants to prevent pathogen invasion (Rodríguez et al. 2006; Almeida et al. 2012). Combining bioagents and Si increased LOX activity by 146.64% compared to control T5 (Fig. 3). LOX catalyzes the formation of hydroperoxides from polyunsaturated fatty acids, which are triggered in plant defense responses (Baysal and Demirdöven 2007). Our data are promising in the suppression of blast and the enhancement of defense activity, corroborating the findings





**Fig. 8** Heatmap of the correlation matrix showing the Pearson correlation coefficient values of the variables evaluated in Season 2 at the vegetative stage (a) and reproductive stage (b). Positive values are in blue, and negative values are in red. The variation ranges from  $-1$  to  $+1$ , where  $-1$  indicates a strong negative linear relationship between the variables,  $1$  indicates a perfect strong positive linear relationship between the variables, and  $0$  indicates no relation-

ship between the studied variables. White coefficient = significant correlation ( $P < 0.05$ ). Black coefficient = non-significant correlation ( $P > 0.05$ ). *CHI* chitinase, *GLU* glucanase, *PAL* phenylalanine ammonia-lyase, *LOX* lipoxygenase, *POX* peroxidase, *SOD* superoxide dismutase, *CAT* catalase, *APX* ascorbate peroxidase, *Chl a* chlorophyll a, *Chl b* chlorophyll b, *Carot* carotenoids, *H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>* hydrogen peroxide, *YIE* yield

various metabolic functions and causes damage to proteins, lipids, carbohydrates, and DNA (Kim et al. 2017; Verma et al. 2020b). Si also elevates antioxidant activities in plants and alters the concentrations of common oxidative stress markers, including malondialdehyde,  $H_2O_2$ , and proline (Coskun et al. 2019).

The photosynthetic pigments Chl a, Chl b and carotenoids are positively and strongly correlated with each other with a correlation coefficient of between 0.61 and 0.99 (Figs. 7 and 8), but were little influenced by the treatments (Fig. 5). This may be related to an important characteristic of BRS Esmeralda, the persistence of the green color of the leaves (“stay green”). It is reported that “stay green” allows plants to remain green and continue their photosynthetic activity even under unfavorable environmental conditions (Borrell et al. 2014; Ali et al. 2023). The highest concentrations of carotenoids occurred with the combined treatment of rhizobacteria and Si, increasing by up to 63.88%. The combination of rhizobacteria (PC1 + PC4) and nanosilicon dioxide increased carotenoid levels by 307% compared to the control in corn leaves (Kukreti et al. 2020). Carotenoids are a class of phenolic compounds that act in chloroplasts to prevent lipid peroxidation by eliminating the oxide radical (Racchi 2013).

The yield of the BRS Esmeralda cultivar increased by 24.57% compared to the control and by 72% compared

to the absolute control with the application of bioagents and Si (Fig. 6). Our results also highlight the isolated increase from each factor: rhizobacteria increased yield by 33.94% and Si (2 tons  $ha^{-1}$ ) by 38.06% in Season 2. Souza et al. (2021) observed that Si (4 tons  $ha^{-1}$ ) provided a 27% increase, and bioagents (*B. pyrrocinia* + *P. fluorescens* + a pool of *Trichoderma asperellum*) showed a 19.6% increase in the upland rice yield. The synergy between bioagents and Si enhanced our yield, potentially linked to mitigating nutritional deficiencies in plants and soil (Hernandez-Apaolaza et al. 2014). The combination of rhizobacteria and Si fertilization in agricultural practices is a sustainable tool with beneficial effects on growth promotion and improved disease resistance in upland rice plants already reported by Souza et al. (2015, 2021), Sperandio et al. (2017), and Faria et al. (2023). The suppression of LBS and PBS demonstrated in our study with the application of bioagents supports the yield increase observed. The results indicate a strong negative correlation with blast, where the increase in enzymatic activities induced by bioagents and Si reduced LBS and PBS, both in VS and RS, across both seasons and correlated positively with yield. In the present study, the BRS Esmeralda cultivation area did not receive phosphate fertilization, and the experiment was conducted under low P (LP). Soil

analyses showed 1.5 mg/dm<sup>3</sup> (Season 1) and 0.5 mg/dm<sup>3</sup> (Season 2) of P, which is considered low for upland rice cultivation. According to Santos et al. (2006), LP levels are up to 2.6 mg/dm<sup>3</sup> of P, medium levels range from 3.1 to 6 mg/dm<sup>3</sup>, and high levels are above 6 mg/dm<sup>3</sup>. The results confirm that the combination of rhizobacteria and Si increased grain yield by 71.95% under limited available P conditions.

The isolates used are inorganic P solubilizers: BRM32114 (IS = 1.44) and BRM32110 [solubilization index (IS) = 1.11] (Faria 2021). The solubilization of non-labile P by rhizobacteria occurs through the action of organic acids (citric, formic, malic, oxalic, and gluconic acids) (Zeng et al. 2022), with gluconic acid being the predominant organic acid in phosphate solubilization (Xie et al. 2021). Previous studies have reported the effect of Si on increasing plant growth in conditions of low P availability (Etesami and Jeong 2018). This element has been shown to have a beneficial effect on plants grown, under P limitation through different mechanisms, such as increasing nutrient use efficiency and modifying C:N:P (Carbon: Nitrogen: Phosphorus) stoichiometry (Neu et al. 2017). C:N:P is important indicator of organic matter's stabilization and mineralization and influences soil fertility; greater exudation of organic acids by the roots, which mobilize P in the rhizosphere, and positive regulates P transporters in roots of deficient plants in this nutrient, as well as an increase in soil pH (Kostic et al. 2017). Phosphorus-limited soil without phosphate chemical fertilization, when fertilized with silicate improved phosphorus availability and increased barley yields (Fisher 1929).

In addition to the factors addressed in this study, such as blast severity and P deficiency, it is important to note that upland rice also faces the challenge of water scarcity, as its cultivation depends directly on rain. The isolates assessed in the present study (BRM 32110 and BRM 32114) were also tested by Costa et al. (2023) on a phenotyping platform of the Integrated Drought-Induced Treatment System (*Sistema Integrado de Tratamento Induzido pela Seca*—SITIS). The combination of bioagents and Si in a landrace of upland rice (Samambaia Branco cultivar) improved the plants root system architecture. Specifically, it increased surface area by 40.9%, diameter by 11.5%, volume by 53.8%, and the number of thick roots by over 14.0% and 45.0% at soil depths of 25 and 45 cm, respectively; fine roots increased by over 25.0% at a soil depth of 45 cm. These results are significant because water and nutrient absorption by plants is associated with fine roots, especially nutrients with low mobility, such as phosphorus (Comas et al. 2013; Gu et al. 2017), while thick roots have the ability to penetrate deeper soil layers, particularly under hardpan conditions during drought (Guimarães et al. 2020).

## Conclusion

According to the results of this study, the combined application of rhizobacteria *S. marcescens* and *B. toyonensis*, together with silicon, on rice plants was more effective than the controls. Blast disease, caused by the fungus *M. oryzae*, negatively affects productivity. We demonstrated that the combination of bioagents and silicon provided synergy in reducing the severity of leaf and panicle blast. In addition, the activities of defense-related enzymes and antioxidants were significantly modulated in treatments combining bioagents and silicon. The cultivation of upland rice is limited by P deficiency, and the application of rhizobacteria and silicon enabled successful cultivation, increasing yields by 70% in low P conditions, indicating a potential strategy for improving P availability. However, further research trials are needed to confirm these results, particularly in regions with different soil and climate conditions. Furthermore, it is essential to explore the effect of silicon on microbial gene expression and plant biochemistry, to confirm whether the application of silicon and rhizobacteria can be a general strategy to increase P availability and manage diseases.

**Supplementary Information** The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1007/s00425-024-04598-6>.

**Acknowledgements** The authors thank the Brazilian Agricultural Research Corporation (Embrapa) (SustentArroz Project: number 20.19.03.012.00.00) for the financial support and for providing the necessary infrastructure to carry out this research.

**Author contributions** All the authors contributed to the conception and design of the study. The in vitro analyses were carried out by RSO, and field out by RSO, AAA, MAAC, ARG and GAB. Data analysis was carried out by RSO, ACL, AC and MCCF. All the authors have read and approved the final manuscript.

**Funding** The authors thank the Brazilian Agricultural Research Corporation (Embrapa)—(SustentArroz Project: number 20.19.03.012.00.00) for the financial support and for providing the necessary infrastructure to carry out this research.

**Data availability** The study's raw data is temporarily unavailable to the public. Data requests can be made to the corresponding author by email: [cristina.filippi@embrapa.br](mailto:cristina.filippi@embrapa.br) (Marta C. C. de Filippi).

## Declarations

**Conflict of interest** The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that might have appeared to influence the work reported in this paper.

**Ethics approval** Not applicable.

**Consent to publish** All authors were allowed to read and approve the final manuscript.

## References

- Ajulo AA, Asobia PC, Silva OR, Andrade BG, Rosa GA, Filippi MCC (2023) Screening bacterial isolates for biocontrol of sheath blight in rice plants. *J Environ Sci Health B* 58:426–435. <https://doi.org/10.1080/03601234.2023.2220644>
- Ajulo AA, Bezerra GDA, Silva OR, Gonçalves AR, Moura MFGG, Cardoso MAA, Filippi MCC (2024a) Efficiency of bacterial isolates on suppressing brown spot in rice plants. *J Phytopathol* 172(2):e13294. <https://doi.org/10.1111/jph.13294>
- Ajulo AA, Oliveira RS, Bezerra SF, Costa NB, Gonçalves AR, Oliveira MIDS, Filippi MCC (2024b) Screening of bacterial isolates antagonists and suppressors of blast in rice plants. *Ver Caatinga* 37:e11724. <https://doi.org/10.1590/1983-21252024v3711724rc>
- Ali A, Ullah Z, Sher H, Abbas Z, Rasheed A (2023) Water stress effects on stay green and chlorophyll fluorescence with focus on yield characteristics of diverse bread wheats. *Planta* 257(6):104. <https://doi.org/10.1007/s00425-023-04140-0>
- Almeida HO, Barbosa MDO, Marques AE, Pereira THA, Magalhães JMJ, Tessarollo NG, Baracat-Pereira MC (2012) Enzimas marcadoras de indução de resistência diferencialmente reguladas em soja resistente e suscetível à ferrugem-asiática-da-soja. *Pesq Agropec Bras* 47:163–172. <https://doi.org/10.1590/s0100-204x2012000200003>
- Alunni S, Cipiciani A, Fioroni G, Ottavi L (2003) Mechanisms of inhibition of phenylalanine ammonia-lyase by phenol inhibitors and phenol/glycine synergistic inhibitors. *Arch Biochem Biophys* 412:170–175. [https://doi.org/10.1016/S0003-9861\(03\)00007-9](https://doi.org/10.1016/S0003-9861(03)00007-9)
- Al-Zahrani HS, Alharby HF, Fahad S (2022) Antioxidative defense system, hormones, and metabolite accumulation in different plant parts of two contrasting rice cultivars as influenced by plant growth regulators under heat stress. *Front Plant Sci* 13:911846. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.911846>
- Anderson D, Prasad K, Stewart R (1995) Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. *Plant Physiol* 109:1247–1257. <https://doi.org/10.1104/pp.109.4.1247>
- Arriel-Elias MT, De Carvalho BCMV, Sousa TP, Chaibu AA, Filippi MCC (2019) Induction of resistance in rice plants using bio-products produced from *Burkholderia pyrrocinia* BRM 32113. *Environ Sci Pollut Res* 26(19):19705–19718. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05238-3>
- Axelrod B, Cheesbrough TM, Laakso S (1981) Lipoygenase from soybeans: EC 1.13. 11.12 Linoleate: oxygen oxidoreductase. *Methods Enzymol* 71:441–451. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(81\)71055-3](https://doi.org/10.1016/0076-6879(81)71055-3)
- Babu RM, Sajeena A, Vidhyasekaran P, Seetharaman K, Redd MS (2003) Differential induction of chitinase and  $\beta$ -1, 3-glucanase in rice in response to inoculation with bacterial leaf blight pathogen (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*). *J Plant Dis Prot* 110:105–112. <https://www.jstor.org/stable/43215493>
- Batool S, Iqbal Á (2019) Phosphate solubilizing rhizobacteria as alternative of chemical fertilizer for growth and yield of *Triticum aestivum*. *Saudi J Biol Sci* 26(7):1400–1410. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.05.024>
- Baysal T, Demirdöven A (2007) Lipoygenase in fruits and vegetables: a review. *Enzyme Microb Technol* 40(4):491–496. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2006.11.025>
- Beauchamp C, Fridovich I (1971) Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal Biochem* 44:276–287. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(71\)90370-8](https://doi.org/10.1016/0003-2697(71)90370-8)
- Bhattacharyya C, Banerjee S, Achary U, Mitra A, Mallic I, Haldar A, Ghosh A (2020) Evaluation of plant growth promotion properties and induction of antioxidative defense mechanism by tea rhizobacteria of Darjeeling. *India Sci Rep* 10(1):15536. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72439-z>
- Boller T (1993) Antimicrobial functions of the plant hydrolases, chitinase and  $\beta$ -1, 3-glucanase. In: Fritig B, Legrand M (eds) *Mechanisms of plant defense responses. Developments in plant pathology*, vol 2. Springer, Dordrecht, pp 391–400
- Borrell AK, Van Oosterom EJ, Mullet JE, George-Jaeggli B, Jordan DR, Klein PE, Hammer GL (2014) Stay-green alleles individually enhance grain yield in sorghum under drought by modifying canopy development and water uptake patterns. *New Phytol* 203(3):817–830. <https://doi.org/10.1111/nph.12869>
- Cai K, Gao D, Luo S, Zeng R, Yang J, Zhu X (2008) Physiological and cytological mechanisms of silicon-induced resistance in rice against blast disease. *Physiol Plant* 134(2):324–333. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2008.01140.x>
- Carregosa L, Barbosa M (2022) Fertilizantes representam até 30% dos custos agrícolas. <https://www.poder360.com.br/economia/fertilizantes-representam-ate-30-dos-custos-agricolas/>. Accessed 05/12/2023
- Chaibub AA, De Carvalho JCB, De Sousa SC, Collevatti RG, Gonçalves FJ, De Carvalho BCMV, De Araújo LG (2016) Defence responses in rice plants in prior and simultaneous applications of *Cladosporium* sp. during leaf blast suppression. *Environ Sci Pollut Res* 23:21554–21564. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7379-5>
- Chen D, Xue R, Long J, Li X, Lin Y, Song Y (2019) Effects of boron, silicon and their interactions on cadmium accumulation and toxicity in rice plants. *J Hazard Mater* 367:447–455. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.12.111>
- Comas LH, Becker SR, Cruz VMV, Byrne PF, Dierig DA (2013) Root traits contributing to plant productivity under drought. *Front Plant Sci* 4:442. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00442>
- Contreras-Pérez M, Hernández-Salmerón J, Rojas-Solis D, Rocha-Granados C, Orozco-Mosqueda MDC, Parra-Cota FI, Santoyo G (2019) Draft genome analysis of the endophyte, *Bacillus toyonensis* COPE52, a blueberry (*Vaccinium* spp. Var. Biloxi) growth-promoting bacterium. *Biotech* 9:370. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1911-5>
- Côrtes ACAS, Sousa TP, Barros MV, Rodrigues FA, Silva GB, Filippi MCC (2015) Enzyme-induced defense response in the suppression of rice leaf blast (*Magnaporthe oryzae*) by silicon fertilization and bioagents. *Int J Res Stud Biosci* 3:22–32
- Cortez MCVB, Viana HF, Silva FR, Lobo VLS, Silva GB, Prabhu AS, Filippi MCC (2008) Quantificação da atividade enzimática de proteínas relacionadas à patogênese no patossistema *Oryza sativa*/*Magnaporthe oryzae*. *Bol Pesqui Desenv Embrapa Arroz Feijão, Santo Antônio De Goiás* 34:1–18
- Coskun D, Deshmukh R, Sonah H, Menzies JG, Reynolds O, Ma JF, Bélanger RR (2019) The controversies of silicon's role in plant biology. *New Phytol* 221(1):67–85. <https://doi.org/10.1111/nph.15343>
- Costa NB, Faria DR, Mendonça SM, De Moraes MG, Coelho GRC, Filippi MCC, Lanna AC (2023) Silicon and bioagents pretreatments synergistically improve upland rice performance during water stress. *Plant Stress* 7:100142. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2023.100142>
- Del Longo OT, Gonzalez CA, Pastori GM, Trippi VS (1993) Antioxidant defences under hyperoxygenic and hyperosmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential sensitivity to drought. *Plant Cell Physiol* 34:1023–1028. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a078515>
- Ding GC, Piceno YM, Heuer H, Weinert N, Dohrmann AB (2013) Changes of soil bacterial diversity as a consequence of

- agricultural land use in a semi-arid ecosystem. PLoS ONE 8:e59497. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059497>
- Dubey SC, Singh V, Priyanka K, Upadhyay BK, Singh B (2015) Combined application of fungal and bacterial bio-agents, together with fungicide and *Mesorhizobium* for integrated management of *Fusarium* wilt of chickpea. BioControl 60:413–424. <https://doi.org/10.1007/s10526-015-9653-8>
- Enebe MC, Babalola OO (2018) The influence of plant growth-promoting rhizobacteria in plant tolerance: a to abiotic stress survival strategy. Appl Microbiol Biotechnol 102:7821–7835. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9214-z>
- Etesami H, Jeong BR (2018) Silicon (Si): review and future prospects on the action mechanisms in alleviating biotic and abiotic stresses in plants. Ecotoxicol Environ Saf 147:881–896. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.09.063>
- Faria DR (2021) Rizobactérias e silício na intensificação da mitigação do arroz de terras altas ao déficit hídrico e à brusone. Dissertação (Mestrado em agronomia)—Universidade Federal de Goiás, Goiânia., p 117
- Faria DR, Mendonça SM, Sousa OMI, Lanna AC, Filipp MCC (2023) Rhizobacteria and silicon mitigate multiple stresses in upland rice. Trop Plant Pathol 48:508–522. <https://doi.org/10.1007/s40858-023-00593-6>
- Ferreira DF (2011) Sisvar: a computer statistical analysis system. Ciênc Agrotec 35:1039–1042
- Filippi MCC, Silva GB, Silva-Lobo V, Côrtes MCVB, Moraes AJG, Prabhu AS (2011) Leaf blast (*Magnaporthe oryzae*) suppression and growth promotion by rhizobacteria on aerobic rice in Brazil. Biol Control 58(2):160–166. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2011.04.016>
- Fisher RA (1929) A preliminary note on the effect of sodium silicate in increasing the yield of barley. J Agric Sci 19(1):132–139. <https://doi.org/10.1017/S0021859600011217>
- García-Cristobal J, García-Villaraco A, Ramos B, Gutierrez-Mañero J, Lucas JA (2015) Priming of pathogenesis related-proteins and enzymes related to oxidative stress by plant growth promoting rhizobacteria on rice plants upon abiotic and biotic stress challenge. J Plant Physiol 188:2–79. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.09.011>
- Gill SS, Tuteja N (2010) Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiol Biochem 48(12):909–930. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>
- Gu D, Zhen F, Hannaway DB, Zhu Y, Liu L, Cao W, Tang L (2017) Quantitative classification of rice (*Oryza sativa* L.) root length and diameter using image analysis. PLoS One 12(1):e0169968. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169968>
- Guimarães PHR, Lima IP, Castro AP, Lanna AC, Guimarães SMP, Raïssac M (2020) Phenotyping root systems in a set of japonica rice accessions: can structural traits predict the response to drought? Rice 13:1–19. <https://doi.org/10.1186/s12284-020-00404-5>
- Guntamukkala BR, Poornima YP, Elizabeth KS (2017) Silicon nutrition in rice: a review. J Pharmacogn Phytochem 6(6):390–392
- Gusain YS, Singh US, Sharma AK (2015) Bacterial mediated amelioration of drought stress in drought tolerant and susceptible cultivars of rice (*Oryza sativa* L.). Afr J Biotechnol 14(9):764–773. <https://doi.org/10.5897/AJB2015.14405>
- Hassan MN, Afghan S, Ul Hassan Z, Hafeez FY (2014) Biopesticide activity of sugarcane associated rhizobacteria: *Ochrobactrum intermedium* strain NH-5 and *Stenotrophomonas maltophilia* strain NH-300 against red rot under field conditions. Phytopathol Mediter 53(2): 229–239. <https://www.jstor.org/stable/43871776>
- Hernandez-Apaolaza L (2014) Can silicon partially alleviate micronutrient deficiency in plants? Rev Planta 240(3):447–458. <https://doi.org/10.1007/s00425-014-2119-x>
- Hodson MJ, Bryant HJ (2012) Functional biology of plants. John Wiley & Sons, Oxford
- Howarth CJ (2005) Genetic improvements of tolerance to high temperature. In: Ashraf M, Harris PJC (eds) Abiotic stresses: plant resistance through breeding and molecular approaches. Howarth Press, New York, pp 277–300
- Hussain M, Begum SS, Kalita MK, Ahmed KU, Nath R (2018) Additives used in semen preservation in animals: a short review. Int J Chem Stud 6(5):354–361
- International rice research institute—Irri (1996) Standard evaluation system for rice, 4th edn. International Rice Research Institute, Manila, p 52
- Joshi B, Chaudhary A, Singh H, Kumar PA (2020) Prospective evaluation of individual and consortia plant growth promoting rhizobacteria for drought stress amelioration in rice (*Oryza sativa* L.). Plant Soil 457:225–240. <https://doi.org/10.1007/s11104-020-04730-x>
- Junglee S, Urban L, Sallanon H, Lopez-Lauri F (2014) Optimized assay for hydrogen peroxide determination in plant tissue using potassium iodide. Am J Anal Chem 5(11):730. <https://doi.org/10.4236/ajac.2014.511081>
- Kar M, Mishra D (1976) Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. Plant Physiol 57(2):315–319. <https://doi.org/10.1104/pp.57.2.315>
- Khan AR, Park GS, Asaf S, Hong SJ, Jung BK, Shin JH (2017) Complete genome analysis of *Serratia marcescens* RSC-14: a plant growth-promoting bacterium that alleviates cadmium stress in host plants. PLoS ONE 12:0171534. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171534>
- Kim YH, Khan AL, Waqas M, Lee IJ (2017) Silicon regulates antioxidant activities of crop plants under abiotic-induced oxidative stress: a review. Front Plant Sci 8:510. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00510>
- Kostic L, Nikolic N, Bosnic D, Samardzic J, Nikolic M (2017) Silicon increases phosphorus (P) uptake by wheat under low P acid soil conditions. Plant Soil 419:447–455. <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3364-0>
- Kukreti B, Sharma A, Chaudhary P, Agri U, Maithani D (2020) Influence of nanosilicon dioxide along with bioinoculants on *Zea mays* and its rhizospheric soil. 3Biotech 10:345. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02329-8>
- Kumar H, Ahmad S, Zacharia S, Kumar S, Ali A (2017) Impact of different fungicides combination against brown leaf spot (*Drechslera oryzae*) of rice under the invitro and in vivo. J Pharmacogn Phytochem 6(1):341–344
- Kurabachew H, Wydra K (2014) Induction of systemic resistance and defense-related enzymes after elicitation of resistance by rhizobacteria and silicon application against *Ralstonia solanacearum* in tomato (*Solanum lycopersicum*). Crop Prot 57:1–7. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2013.10.021>
- Mahmood S, Daur I, Al-Solaimani SG, Ahmad S, Madkour MH, Yasir M, Ali Z (2016) Plant growth promoting rhizobacteria and silicon synergistically enhance salinity tolerance of mung bean. Front Plant Sci 7:876. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00876>
- Marschner H (1995) Mineral nutrition of higher plants, 2nd edn. Academic Press, London
- Mohamed EA, Farag AG, Youssef SA (2018) Phosphate solubilization by *Bacillus subtilis* and *Serratia marcescens* isolated from tomato plant rhizosphere. J Environ Protect 9(3):266. <https://doi.org/10.4236/jep.2018.93018>
- Nakano Y, Asada K (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell

- Physiol 22(8):67–880. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232>
- Nascente AS, Crusciol CAC, Cobucci T (2013) The no-tillage system and cover crops—alternatives to increase upland rice yields. *Eur J Agron* 45:124–131. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2012.09.004>
- Nascente AS, Ishola ZT, Filippi MCCD, Silva MA, Cruz DRC, Bezerra GDA (2023) Biochemical characterization of individual and combined plant growth-promoting microorganisms. *Pesq Agropec Trop* 53:1–8. <https://doi.org/10.1590/1983-40632023v5375376>
- Neu S, Schaller J, Dudel E (2017) Silicon availability modifies nutrient use efficiency and content, C:N:P stoichiometry, and productivity of winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Sci Rep* 7:40829. <https://doi.org/10.1038/srep40829>
- Notteghem JL (1981) Cooperative experiment on horizontal resistance to rice blast. In: Blast and upland rice: report and recommendation from the meeting for international collaboration in upland rice improvement. Los Baños, pp 43–51
- Ogoschi C, Carlos FS, Ulguim ADR, Zanon AJ, Nunes CDM, Bittencourt CDC, Martins JDS (2018) Potencial de cultivares de arroz irrigado resistentes à brusone para redução do uso de fungicidas no litoral norte do Rio Grande do Sul. *Embrapa Clima Temp. - Circular Técnica* 192
- Pan SQ, Ye XS, Kuć J (1991) Association of a  $\beta$ -1,3-glucanase activity and isoform pattern with systemic resistance to blue mold in tobacco induced by stem injection with *Peronospora tabacina* or leaf inoculation with tobacco mosaic virus. *Physiol Mol Plant Pathol* 39:25–39. [https://doi.org/10.1016/0885-5765\(91\)90029-H](https://doi.org/10.1016/0885-5765(91)90029-H)
- Pearson K (1895) Note on regression and inheritance in the case of two parents. *Proc Royal Soc London* 58:240–242. <https://doi.org/10.1098/rsp1.1895.0041>
- Pieterse CM, Zamioudis C, Berendsen RL, Weller DM, Van WSC, Bakke PA (2014) Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annu Rev Phytopathol* 52:347–375. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102340>
- Pignata ML, Gudiño GL, Wannaz ED, Plá RR, González CM, Carreras HA, Orellana L (2002) Atmospheric quality and distribution of heavy metals in Argentina employing *Tillandsia capillaris* as a biomonitor. *Environ Pollut* 120:59–68. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(02\)00128-8](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(02)00128-8)
- Prabhu AS, Araújo LGD, Faustina C, Berni RF (2003) Estimativa de danos causados pela brusone na produtividade de arroz de terras altas. *Pesq Agropec Bras* 38:1045–1051. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2003000900004>
- Prado LFS, Costa CHM, Oliveira PRB, Moura BDFS, Costa FLA (2020) Adubação silicatada foliar associada ao nitrogênio em cobertura na cultura do arroz de terras altas. *Magistra* 30:384–390
- Racchi ML (2013) Antioxidant defenses in plants with attention to *Prunus* and *Citrus* spp. *Antioxidants* 2:340–369. <https://doi.org/10.3390/antiox2040340>
- Roca A, Cabeo M, Enguidanos C, Martínez-Checa F, Sampedro I, Llamas I (2024) Potential of the quorum-quenching and plant-growth promoting halotolerant *Bacillus toyonensis* AA1EC1 as biocontrol agent. *Microbial Biotechnol* 17(3):e14420. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.14420>
- Rodríguez Y, Fernández A, Peteira B, Fernández F, Solórzano E (2006) Inducción de enzimas de defensa en dos variedades de arroz (*Oryza sativa*) por el hongo micorrízico arbuscular *G. mosseae*. *Rev Colomb Biotecnol* 8(2):35–49
- Ryu CM, Choi HK, Lee CH, Murphy JF, Lee JK, Kloepper JW (2013) Modulation of quorum sensing in acylhomoserine lactone-producing or-degrading tobacco plants leads to alteration of induced systemic resistance elicited by the rhizobacterium *Serratia marcescens* 90–166. *Plant Pathol J* 29(2):182–192. <https://doi.org/10.5423/PPJ.SL.11.2012.0173.R2>
- Santos AB, Stone LF, Vieira NDA (2006) A cultura do arroz no Brasil. Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás
- Saud S, Fahad S, Yajun C, Ihsan MZ, Hammad HM, Nasim W, Júnior A, Arif M, Alharby H (2017) Effects of nitrogen supply on water stress and recovery mechanisms in Kentucky bluegrass plants. *Front Plant Sci* 8:983. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00983>
- Shakeela S, Padder SA, Bhat ZA (2017) Isolation of phosphate solubilizing rhizobacteria and endorhizobacteria from medicinal plant *Picrorhiza kurroa* and their optimization for tricalcium phosphate solubilization. *Pharma Innov* 6(6):160–170
- Shaner G, Finney RE (1977) The effect of nitrogen fertilization on the expression of slowmildewing resistance in knox wheat. *Phytopathology* 67(8):1051–1056
- Shi Y, Wang Y, Flowers TJ, Gong H (2013) Silicon decreases chloride transport in rice (*Oryza sativa* L.) in saline conditions. *J Plant Physiol* 170(9):847–853. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2013.01.018>
- Silva GB, Rêgo MCF, França SS, Sousa TP, Nascente AS, Lanna AC, Andrade GB (2019) Uso do *Trichoderma* na cultura do arroz, 1st edn. Brasília, Embrapa, p 349
- Silva-Lobo VL, Filippi MCC, Silva GB, VenancioWL PAS (2012) Relação entre o teor de clorofila nas folhas e a severidade de brusone nas panículas em arroz de terras altas. *Trop Plant Pathol* 37:83–87
- Sousa TP, Souza ACA, Filippi MCC, Lanna AC, Cortês MV, Pinheiro HA, Silva GB (2018) Bioagents and silicon promoting fast early upland rice growth. *Environ Sci Pollut Res* 25:3657–3668. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0753-0>
- Sousa OMI, Chaibub AA, Sousa TP, Cortes MCVB, Souza ACA, Conceição EC, Filippi MCC (2020) Formulations of *Pseudomonas fluorescens* and *Burkholderia pyrocinia* control rice blast of upland rice cultivated under no-tillage system. *Biol Control* 144:104153. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.104153>
- Souza AD, Sousa TP, Cortes MVB, Rodrigues F, Silva GB, Filippi MCC (2015) Enzyme-induced defense response in the suppression of rice leaf blast (*Magnaporthe Oryzae*) by silicon fertilization and bioagents. *Int J Res Stud Biosci* 3(5):22–32
- Souza ACA, Filippi MCC, Nascente AS, Prabhu AS, Alves E (2021) Silicon rates and beneficial microorganism on blast suppression and productivity of upland rice. *J Plant Sci Phytopathol* 5:20–27. <https://doi.org/10.29328/journal.jpssp.1001057>
- Spence C, Alff E, Johnson C, Ramos C, Donofrio N, Sundaresan V, Bais H (2014) Natural rice rhizospheric microbes suppress rice blast infections. *BMC Plant Biol* 14:130. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-14-130>
- Sperandio EM, Vale HMM, Souza RM, Carvalho BCMV, Lanna AC, Filippi MCC (2017) Evaluation of rhizobacteria in upland rice in Brazil: growth promotion and interaction of induced defense responses against leaf blast (*Magnaporthe oryzae*). *Acta Physiol Plant* 39:259. <https://doi.org/10.1007/s11738-017-2547-x>
- Sun YI, Oberley LW, Li Y (1988) A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 34(3):497–500. <https://doi.org/10.1093/clinchem/34.3.497>
- Tantray AY, Ali HM, Ahmad A (2020) Analysis of proteomic profile of contrasting phosphorus responsive rice cultivars grown under phosphorus deficiency. *Agronomy* 10(7):1028. <https://doi.org/10.3390/agronomy10071028>
- Vaghela B, Vashi R, Rajput K, Joshi R (2022) Plant chitinases and their role in plant defense: a comprehensive review. *Enzyme Microb Technol* 159:110055. <https://doi.org/10.1016/j.enzmtec.2022.110055>
- Verma KK, Singh P, Song XP, Malviya MK, Singh RK, Chen GL, Li YR (2020a) Mitigating climate change for sugarcane improvement: role of silicon in alleviating abiotic stresses. *Sugar Tech* 22:741–749. <https://doi.org/10.1007/s12355-020-00831-0>

- Verma KK, Song XP, Li DM, Singh M, Rajput VD, Malviya MK, Li YR (2020b) Interactive role of silicon and plant–rhizobacteria mitigating abiotic stresses: a new approach for sustainable agriculture and climate change. *Plants* 9(9):1055. <https://doi.org/10.3390/plants9091055>
- Vishwakarma K, Singh VP, Prasad SM, Chauhan DK, Tripathi DK, Sharma S (2020) Silicon and plant growth promoting rhizobacteria differentially regulate AgNP-induced toxicity in *Brassica juncea*: implication of nitric oxide. *J Hazard Mater* 390:121806. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121806>
- Wang Y, Liu M, Wang X, Zhong L, Shi G, Xu Y, Cui Z (2021) A novel  $\beta$ -1, 3-glucanase Gns6 from rice possesses antifungal activity against *Magnaporthe oryzae*. *J Plant Physiol* 265:153493. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2021.153493>
- Xie J, Yan Z, Wan G, Xue W, Li C, Chen X, Chen D (2021) A bacterium isolated from soil in a Karst rocky desertification region has efficient phosphate-solubilizing and plant growth-promoting ability. *Front Microbiol* 11:625450. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.625450>
- Yarullina LG, Akhatova AR, Kasimova RI (2016) Hydrolytic enzymes and their proteinaceous inhibitors in regulation of plant–pathogen interactions. *Russ J Plant Physiol* 63:193–203. <https://doi.org/10.1134/S1021443716020151>
- Zeng Q, Ding X, Wang J, Han X, Iqbal H, Bilal M (2022) Insight into soil nitrogen and phosphorus availability and agricultural sustainability by plant growth-promoting *rhizobacteria*. *Environ Sci Pollut Res* 29:45089–45106. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-20399-4>
- Zhong C, Cao X, Hu J, Zhu L, Zhang J, Huang J, Jin Q (2017) Nitrogen metabolism in adaptation of photosynthesis to water stress in rice grown under different nitrogen levels. *Front Plant Sci* 8:1079. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01079>

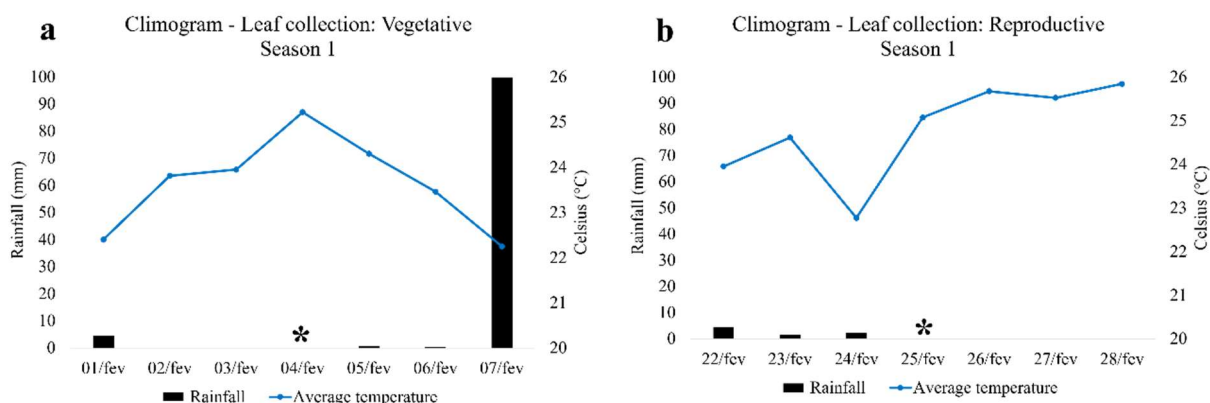
**Publisher's Note** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Springer Nature or its licensor (e.g. a society or other partner) holds exclusive rights to this article under a publishing agreement with the author(s) or other rightsholder(s); author self-archiving of the accepted manuscript version of this article is solely governed by the terms of such publishing agreement and applicable law.

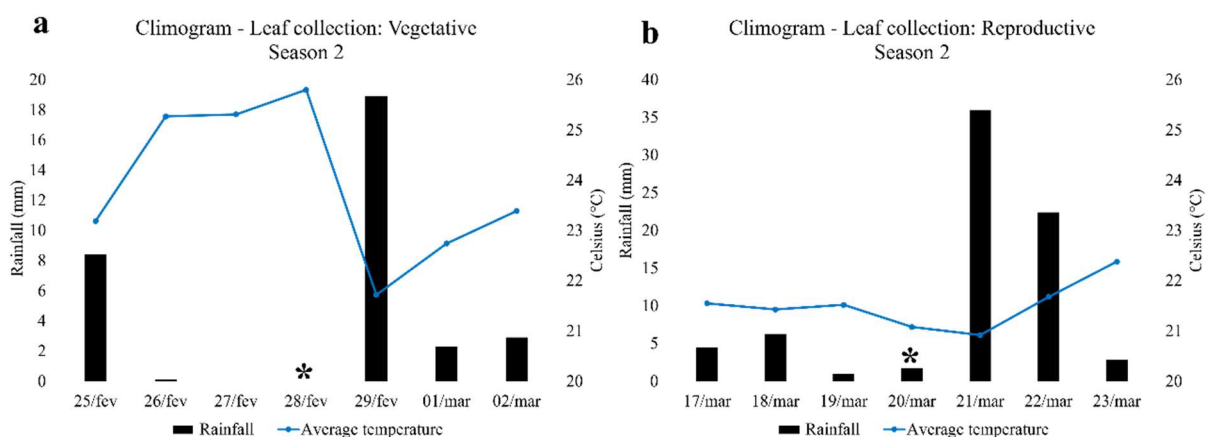
**Supplementary Information (SI)****CAPÍTULO 4****Rhizobacteria and silicon modulate defense, oxidative stress, and suppress blast disease in upland rice plants in low phosphorus soils under field conditions**

**Rodrigo Silva de Oliveira**<sup>1</sup>, Akintunde Abiodun Ajulo<sup>2</sup>, Marco Antônio Adorno Cardoso; Ariany Rosa Gonçalves<sup>3</sup>, Gustavo Andrade Bezerra; Anna Cristina Lanna<sup>4</sup>, Adriano Castro; Marta Cristina Corsi de Filippi<sup>5</sup>

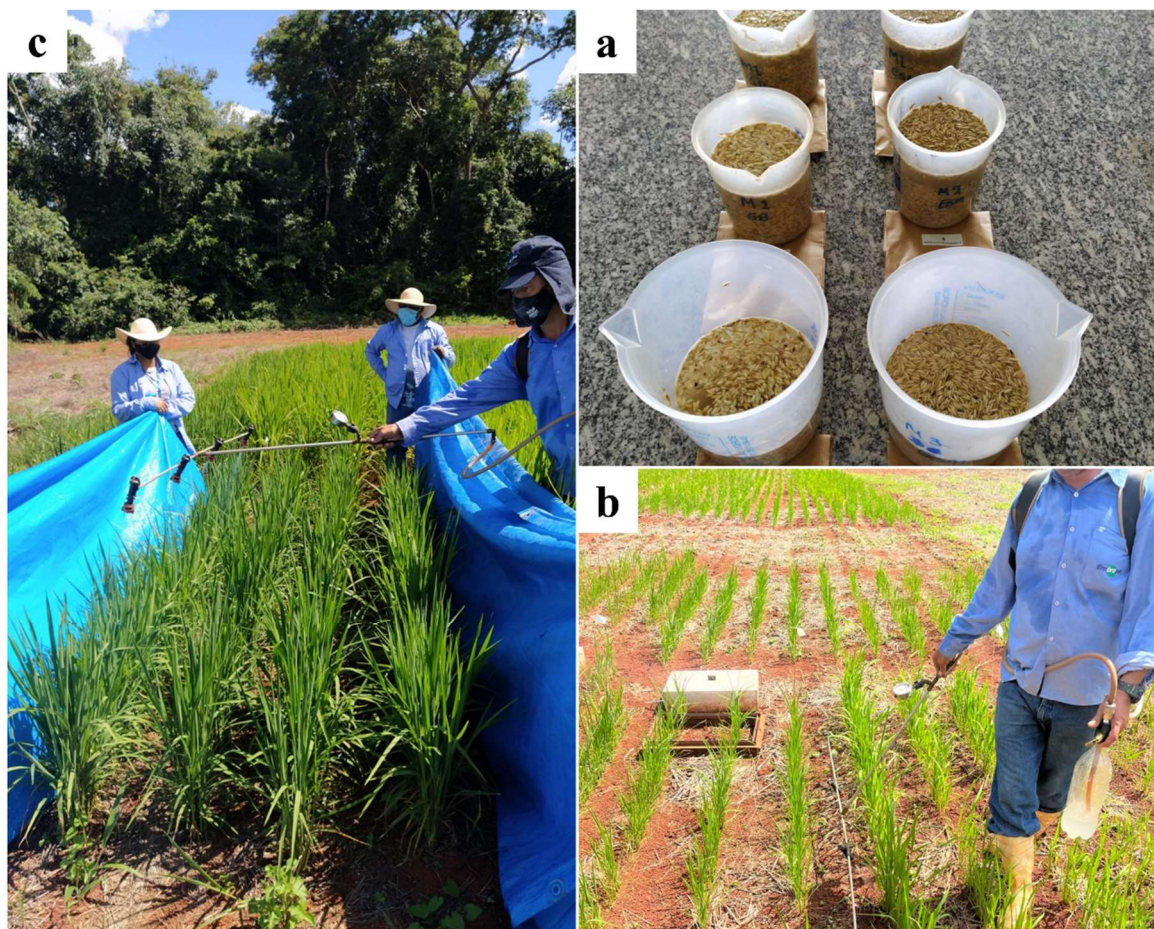
**FIGURES AND CAPTIONS****Figures**



**Fig. S1** Precipitação (mm) e temperatura média (Celsius) durante o período de coleta de folhas para análises enzimáticas nos estádios vegetativo (a) e reprodutivo (b) da cultivar de arroz de terras altas BRS Esmeralda, Safra 1, em condições de campo na Fazenda Capivara da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio, Goiás, Brasil. Lat: 16°28' (16.4666); Long: 49°17' (49.2833); Alt: 823 m. Fonte: InfoClima – Informações Climáticas, Embrapa. a = estágio vegetativo - Safra 1, b = estágio reprodutivo - Safra 1. \* = Dia da coleta das folhas em campo para os ensaios enzimáticos



**Fig. S2** Precipitação (mm) e temperatura média (Celsius) durante o período de coleta de folhas para análises enzimáticas nos estádios vegetativo e reprodutivo da cultivar de arroz de terras altas BRS Esmeralda, Safra 2, em condições de campo na Fazenda Capivara da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio, Goiás, Brasil. Lat: 16°28' (16.4666); Long: 49°17' (49.2833); Alt: 823 m. Fonte: InfoClima – Informações Climáticas, Embrapa. a = estágio vegetativo - Safra 2, b = estágio reprodutivo - Safra 2. \* = Dia da coleta das folhas em campo para os ensaios enzimáticos.



**Fig. S3** Aplicação de bioagentes *Serratia marcescens* e *Bacillus toyonensis* no cultivo de arroz de terras altas em condições de campo. **a** = tratamento de sementes (TS); **b** = rega no solo (RG); **c** = pulverização das plantas (PV). Fonte: De Oliveira, 2023.

## CAPÍTULO 5

### **Combinação de rizobactérias e silício reduz a severidade de brusone, melhora absorção de nutrientes e rendimento de plantas de arroz de terras altas cultivadas em baixo fosforo em condições de campo**

Capítulo elaborado conforme as normas do periódico científico: *Planta*

**Rodrigo Silva de Oliveira**<sup>1</sup>, Anna Cristina Lanna<sup>2</sup>, Marta Cristina Corsi de Filippi<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Doutorando, Universidade Federal de Goiás, Goiânia – GO, Brasil.

<sup>2</sup>Doutora em Fisiologia Vegetal, pesquisadora da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO

<sup>3</sup>Doutora em Plant Pathology and Microbiology- Texas A & M University, pesquisadora da Embrapa da Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO

## RESUMO

Rizobactérias promotoras do crescimento vegetal (PGPR) e silício (Si) são conhecidas por mitigar estresses biótico, e baixos níveis de fósforo (P) em plantas de arroz de terras altas. Este estudo teve como objetivo avaliar o potencial da interação entre bioagentes e silício na supressão da severidade da brusone das folhas e das panículas, no aumento dos teores de absorção de nutrientes e da produtividade, em plantas de arroz de terras altas, em condições de baixo P no campo. O experimento foi conduzido durante duas safras de cultivo (E1 e E2), em delineamento de blocos casualizados e quatro repetições, e foi composto por cinco tratamentos, combinando uma mistura de três rizobactérias, BRM 32114 e BRM62523 (*Serratia marcescens*) e BRM32110 (*Bacillus toyonensis*), e três métodos de aplicação (tratamento de sementes; rega; pulverização). Silicato de cálcio e magnésio (2 t/ha) foi aplicado sobre um solo com baixo teor de P, 30 dias antes da semeadura. Foram avaliados a brusone foliar (LBS) e das panículas (PBS), Área sob a Curva de Progresso da Doença (AACPD), teor de nutrientes da parte área, biomassa, os componentes de produção, e a produtividade. Os bioagentes e o silício suprimiram a LBS em 77,93 e a PBS em 62,37%, reduziram a AACPD em 77,3 (LBS) e 60,6% (PBS). As plantas acumularam maior teor de fósforo (45%), potássio (21%), Fe (94%), manganês (50%), zinco (10%). Aumentaram a altura das plantas (10%), no número de perfilhos (19%), no número de panículas (43%) e na biomassa aérea (49%), além de redução na esterilidade das panículas em 49%. A produtividade em E1 foi 25% maior do que em E2. Os tratamentos diferiram estatisticamente apenas em E2, onde a produtividade com bioagentes e silício (2435,72 kg.ha<sup>-1</sup>) foi 72% superior em comparação ao controle absoluto. A aplicação de rizobactérias e Si representa uma combinação promotora de crescimento e bioprotetora para o manejo do cultivo de arroz de terras altas sob baixa disponibilidade de nutrientes.

**Palavras chave:** PGPR, estresse biótico; absorção de minerais

## ABSTRACT

Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) and silicon (Si) are known for mitigating biotic stress and low phosphorus (P) levels in upland rice plants. This study aimed to evaluate the potential interaction between bioagents and silicon in suppressing the severity of leaf and panicle blast, increasing nutrient absorption, and improving yield in upland rice plants under low P field conditions. The experiment was conducted over two growing seasons (E1 and E2) in a randomized block design with four replications, consisting of five treatments that combined a mixture of three rhizobacteria: BRM 32114 and BRM62523 (*Serratia marcescens*) and BRM32110 (*Bacillus toyonensis*), and three application methods (seed treatment, irrigation, and spraying). Calcium and magnesium silicate (2 t/ha) was applied to low-P soil 30 days before sowing. Evaluations included leaf blast (LBS) and panicle blast (PBS), the area under the disease progress curve (AUDPC), nutrient content in the aerial parts, biomass, production components, and yield. The bioagents and silicon suppressed LBS by 77.93% and PBS by 62.37%, reducing AUDPC by 77.3% (LBS) and 60.6% (PBS). Plants accumulated higher levels of phosphorus (45%), potassium (21%), iron (94%), manganese (50%), and zinc (10%). They also showed an increase in plant height (10%), tiller number (19%), panicle number (43%), aerial biomass (49%), and a reduction in panicle sterility by 49%. The yield in E1 was 25% higher than in E2. Treatments differed statistically only in E2, where yield with bioagents and silicon (2435.72 kg.ha<sup>-1</sup>) was 71.95% higher compared to the absolute control. The application of rhizobacteria and Si represents a growth-promoting and bioprotective combination for managing upland rice cultivation under low nutrient availability.

**Keywords:** PGPR, biotic stress; mineral absorption

## 1 INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é o principal alimento básico a nível global, sendo uma fonte essencial de nutrição para mais da metade da população mundial (Rehman et al. 2019). No Brasil, seu cultivo ocorre predominantemente em dois sistemas: irrigado e de terras altas. Ambos enfrentam o desafio de aumentar a produtividade de forma sustentável (Araújo et al. 2016). No cultivo em terras altas, o sistema de plantio direto (SPD) tem se destacado por permitir a manutenção da cobertura vegetal na superfície do solo, contribuindo para a regulação térmica, a melhoria da umidade e o aumento do teor de matéria orgânica, além de favorecer a atividade biológica do solo. Representa um sistema mais sustentável, pois depende da água da chuva, possui menor emissão de gases de efeito estufa (Nascente et al. 2013). Entretanto, a baixa disponibilidade de fósforo (P) no solo é um dos principais fatores limitantes da produtividade nesse sistema (Prado et al. 2020). Nos solos do Cerrado, apenas uma fração de 5% a 25% do P aplicado está disponível para absorção pelas plantas, enquanto 75% a 95% fica quimicamente fixado, tornando-se indisponível para a cultura (Batool & Iqbal, 2019).

Outro fator limitante na cultura do arroz de terras altas é a brusone causada por *Magnaporthe oryzae* e representa uma ameaça significativa à produção desse cereal, resultando em perdas substanciais (Klotzbücher et al. 2018). Populações de *M. oryzae* se destaca pela alta variabilidade e complexa biologia, que permite rápida adaptação aos genes de resistência do hospedeiro. Brusone nas folhas causa redução da área foliar e da taxa fotossintética, e nas panículas causa danos como redução do peso dos grãos e, em alguns casos, perda completa das panículas. Estudos indicam que a infecção pelo fungo *M. oryzae* pode causar uma redução no rendimento do arroz de aproximadamente 30% a 50% (Khan et al. 2014).

Nesse sentido, a exploração de P não disponível e a mitigação de brusone em plantas de arroz de terras altas, requer demandas biotecnológicas sustentáveis. A solubilização do fósforo não lábil pelas rizobactérias ocorre pela ação de ácidos orgânicos, como os ácidos acético, cítrico, fórmico, málico, oxálico e glucônico (Zeng et al. 2022). Dentre estes, o ácido glucônico é considerado o ácido orgânico predominante na solubilização do fosfato (Xie et al. 2021). Em relação ao manejo da brusone, rizobactérias são uma ferramenta promissora que pode ser utilizada de forma independente, bem como integrado com outros métodos de forma sustentável (Dubey et al. 2015). No controle de patógenos, as rizobactérias agem por

diferentes mecanismos de ação, como competição por espaços e nutrientes, produção de vários metabólitos, como antibióticos, sideróforos e enzimas hidrolíticas. Em muitos casos, os metabólitos suprimem o patógeno interferindo em seu mecanismo de respiração e hidrolisando sua parede celular (Lugtenberg e Kamilova 2009; Hassan et al. 2014).

A aplicação de silício (Si) na agricultura é outra alternativa promissora e sustentável para mitigar os efeitos de estresses em diferentes culturas (Rodrigues et al. 2005; Etesami e Jeong, 2018). Na solução do solo, o silício encontra-se disponível para as plantas na forma de ácido monossilícico ( $H_4SiO_4$ ), sendo um elemento móvel e absorvido pelas plantas por fluxo de massa (Meharg, 2015). A cultura do arroz é caracterizada como acumuladora de silício e responsiva a adubação silicatada (Shi et al. 2013), após a absorção pela planta, são depositados na parede celular formando dupla camada sílica-cutícula e sílica-celulosa, contribuindo para a redução da transpiração e melhor eficiência de uso da água (Ma e Yamaji, 2006). O Si influencia o desenvolvimento da área radicular, o diâmetro, o volume e o comprimento da raiz principal e da biomassa radicular em plantas cultivadas sob variáveis ambientais adversas (Lee et al. 2010). Além disso, o silício atua na mitigação de fatores biótico, no controle de doenças a adubação silicatada proporciona formação de barreira física principalmente na parede célula do vegetal. Esse acúmulo resulta em camada insolúvel de silício depositada nas células epidérmica que impede a penetração do fungo, sendo denominada a “hipótese da barreira mecânica” (Brunings et al. 2009; Pozza et al. 2015)

A combinação de bioagentes pode exercer um efeito sinérgico na absorção de nutrientes pelas plantas. Estudos demonstram que o Si e as rizobactérias atenuam os impactos negativos do estresse causado pelo desequilíbrio nutricional, promovendo melhor desenvolvimento e eficiência na utilização de nutrientes (Etesami e Jeong, 2018). As rizobactérias contribuem para o desenvolvimento das plantas e a melhoria da disponibilidade de nutrientes. Esse efeito ocorre por meio de mecanismos como a solubilização de fósforo (P), potássio (K) e zinco (Zn), além da fixação biológica de nitrogênio e outras funções essenciais para a nutrição vegetal (Verma et al. 2022).

Portanto, o presente estudo foi realizado para avaliar o efeito combinado do Si e rizobactérias na mitigação do estresse biótico causado pela *M. oryzae*, na absorção de nutrientes, no crescimento e na produtividade do arroz de terras altas sob baixo fósforo no solo em condições de campo.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 MICRORGANISMOS

As rizobactérias BRM32114 e BRM63525 (*Serratia marcescens*, NCBI: KX378747 e PP025422), e BRM32110 (*Bacillus toyonensis* NCBI: KX378746) utilizadas nos ensaios são cepas bacterianas isoladas de plantas de arroz e pertencentes à Coleção Multifuncional de Microrganismos da Embrapa Arroz e Feijão. Os isolados foram multiplicados em placas de Petri contendo meio de cultura Ágar Nutriente (AN) e incubados por 48 h a 28 °C.

### 2.2 MICROBIOLIZAÇÃO DE SEMENTES

As sementes de arroz da cultivar BRS-Esmeralda (ESM) passaram por um processo de desinfestação prévia utilizando hipoclorito de sódio a 0,5% (v/v) por 7 minutos, seguido por imersão em álcool 70% (v/v) durante 5 minutos, sendo posteriormente enxaguadas com água destilada. Os isolados BRM 32114 e BRM 32110 foram cultivados separadamente em caldo nutriente (CN) (8 g L<sup>-1</sup>) a 28 °C por 24 h sob agitação constante a 150 rpm. Em espectrofotômetro ajustado para 540 nm de densidade óptica, a absorbância das suspensões bacterianas de cada um dos isolados foi ajustada (0,5 ABS), de modo que, a concentração atingisse 1x10<sup>8</sup> UFC mL<sup>-1</sup>. Em seguidas, foram misturados em volume iguais, e adicionado as sementes onde permaneceram sob agitação a 150 rpm por um período adicional de 24 horas, a 29 °C. As sementes dos tratamentos não microbiolizados, foram imersas em CN e mantidas nas mesma condições de agitação e temperatura. Ao final do processo, foram espalhadas em papel filtro, dentro da câmara de fluxo laminar para secagem (Filippi et al. 2011).

### 2.3 CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os ensaios foram conduzidos nas safras 2021/2022 e 2022/2023 no campo experimental localizado na Fazenda Capivara, Embrapa Arroz e Feijão, no município de Santo Antônio de Goiás, GO, Brasil (16° 28'00" S e 49° 17'00" W). Solo classificado como Latossolo Vermelho Distrófico, que apresentou as seguintes características químicas: Safra 1: pH = 4.9; Ca = 1.1 cmolc/dm<sup>3</sup>; Mg = 0.9 cmolc/dm<sup>3</sup>; H+Al= 3.6 cmolc/dm<sup>3</sup>; P = 1,5 mg/dm<sup>3</sup>; K = 0.11 cmolc/dm<sup>3</sup>; Cu = 1.5 mg/dm<sup>3</sup>; Zn = 2.6 mg/dm<sup>3</sup>; Fe = 62.70 mg/dm<sup>3</sup>; Mn = 0.90 cmolc/dm<sup>3</sup>; e M.O = 3.12%. Safra 2 pH = 5.1; Ca = 1.1 cmolc/dm<sup>3</sup>; Mg = 0.5 cmolc/dm<sup>3</sup>; H+Al= 2.5 cmolc/dm<sup>3</sup>; P = 0.5 mg/dm<sup>3</sup>; K = 32 mg/dm<sup>3</sup>; Cu = 1.6 mg/dm<sup>3</sup>; Zn = 4.3 mg/dm<sup>3</sup>; Fe = 42.3 mg/dm<sup>3</sup>; Mn = 9.2 mg/dm<sup>3</sup>; e M.O = 24 mg/dm<sup>3</sup>. O ensaio foi

conduzido em baixo fósforo BP, safra 1 ( $1.5 \text{ mg/dm}^3$ ) e safra 2 ( $0.5 \text{ mg/dm}^3$ ). Para o cultivo de arroz de terras altas, níveis de fósforo (P) considerado baixo (BP) apresenta até  $2,6 \text{ mg dm}^{-3}$  de P, médio ( $3,1$  a  $6 \text{ mg dm}^{-3}$  de P) e alto (acima de  $6 \text{ mg dm}^{-3}$  de P) (Santos, et al. 2006). Antes do plantio, foi realizada a adubação dos macronutrientes, exceto fósforo, conforme recomendação com base na análise de solo:  $\text{K}_2\text{O}$  (cloreto de potássio) –  $46 \text{ mg.kg}^{-1}$  de solo, N (sulfato de amônio) –  $36 \text{ mg.kg}^{-1}$  de solo. Para adubação silicatada, utilizou-se o silicato de cálcio e magnésio (SiCaMg) contendo 10,5% de silício, 27% de cálcio, 6% de magnésio, na recomendação de  $2 \text{ t.ha}^{-1}$ .

Utilizou-se o delineamento experimental em blocos casualizados, parcelas de 4 linhas de 2 metros, com 5 tratamentos e 4 repetições. Os tratamentos consistiram no mix das três rizobactérias (item 2.1), em 3 formas de aplicações (TS – tratamento de sementes; RG – rega (30 dias); PV – pulverização (60 dias) e adubação silicatada nos tratamentos, exceto no controle absoluto: T1 (TS e RG com BRM32114 + BRM32110 e PV com BRM32110); T2 (TS e RG com BRM32114 + 63523; PV com BRM32114); T3 (TS, RG e PV com BRM32114 + BRM32110 + BRM62523); T4 controle (sem bactéria e com adubação silicatada); T5 controle absoluto (sem bactéria e sem adubação silicatada).

#### 2.4 AVALIAÇÃO SEVERIDADE DE BRUSONE

A área sob a curva de progresso da doença (AUDPC) foi calculada a partir de três avaliações com intervalos de dois dias. A partir do surgimento dos primeiros sintomas da doença, quantificou-se a severidade de brusone foliar (LBS) com o auxílio da escala de notas de Nottheghem (1981), na primeira e segunda folha expandidas, totalizando oito plantas avaliadas por parcela. Para a avaliação da severidade da panícula (PBS%), foram pontuadas aleatoriamente dez panículas de cada parcela e avaliadas usando uma escala de seis notas (0: nenhuma doença observada, 1:  $<5\%$ , 3:  $5-10\%$ , 5:  $11-25\%$ , 7:  $26-50\%$  e 9: mais de  $50\%$ ), de acordo com (IRRI, 2013). As estimativas da área sob a curva de progresso da doença (AACPD) da folha e da panícula foram calculadas de acordo com o método de Shaner e Finney (1977).

#### 2.5 COMPONENTES DE PRODUÇÃO E PRODUTIVIDADE

A colheita do arroz foi realizada com o auxílio de uma colhedora de precisão, na área útil de cada parcela. Os grãos colhidos e pesados e com base na massa dos grãos colhidos e a porcentagem de umidade, foi calculada a produtividade e estimada em  $\text{Kg ha}^{-1}$ . Foram avaliados os parâmetros: altura de planta com auxílio de régua milimetrada em cm, número de panícula

por metro linear (PN), número de perfilho por metro linear (NT), esterilidade das panículas (SP) e biomassa da parte área. O peso da biomassa foi determinado com base na massa das plantas coletadas em um metro linear de cada parcela, após secagem em estufa a 70 °C e pesagem em balança de precisão (Prabhu et al. 2003).

## 2.6 DETERMINAÇÃO DO DOS NUTRIENTES FOLIARES

O tecido vegetal da parte área foi triturado em um moinho e enviado ao Laboratório TERRA Análises para Agropecuária, para análise de nível de macronutrientes (P, K, Ca, Mg e S – g kg<sup>-1</sup>) e micronutrientes (B, Mn, Fe, Cu e Zn - mg kg<sup>-1</sup>), com base na metodologia de Malavolta et al. (1997).

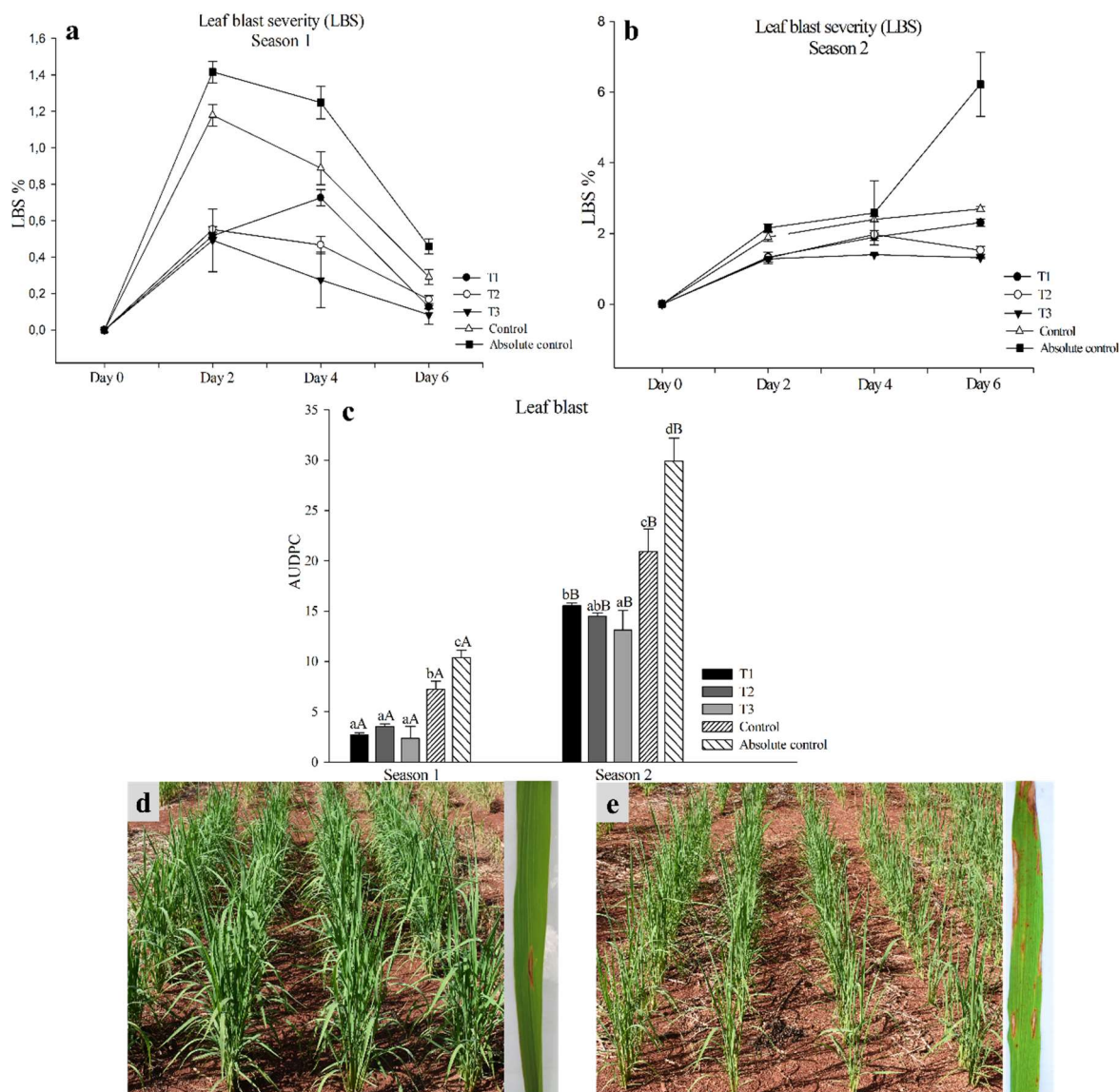
## 3. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Utilizou-se o programa SIVAR versão 5.3 (FERREIRA, 201) para a análise de variância (ANOVA) em esquema fatorial de 5 (tratamentos) x 2 (duas safras). Quando o teste F foi significativo, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Os gráficos da análise fatorial foram criados usando o software Sigma Plot 12.0. As correlações entre variáveis quantitativas foram determinadas usando a correlação de Pearson (Pearson, 1895) com a linguagem de programação Python (versão 3.9.7; Python Software Foundation), e um mapa de calor foi gerado para visualizar os resultados.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 SEVERIDADE DE BRUSONE FOLIAR E BRUSONE NA PANÍCULA

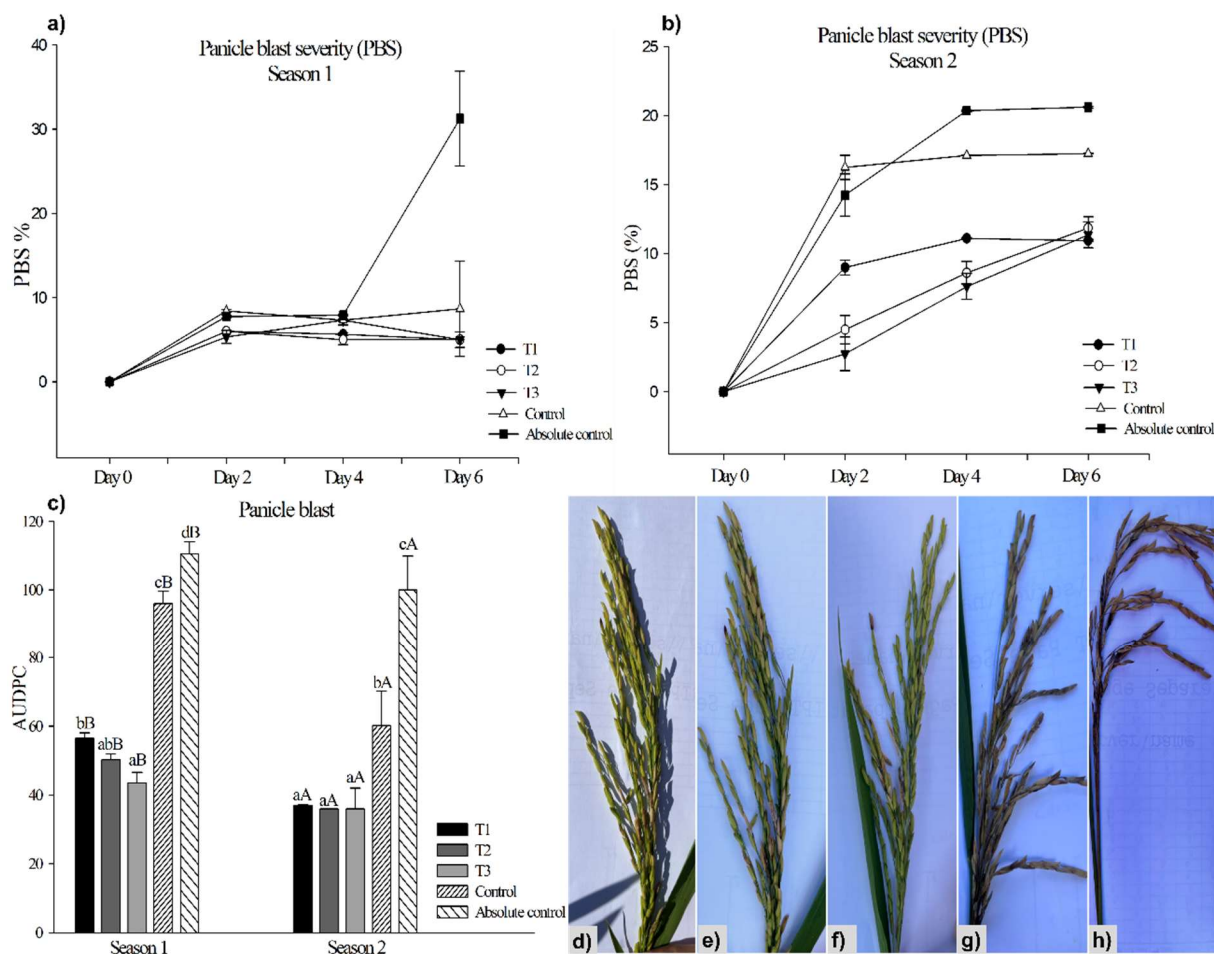
Os tratamentos combinando as rizobactérias *S. marcescens* e *B. toyonensis* mais Si reduziram significativamente ( $P < 0,05$ ) o LBS e o PBS (Figs. 1 e 2) em plantas de arroz de terras altas em ambas as safras (2021/2022 e 2023/2024). Quatro avaliações para LBS foram conduzidas. Na Safra 1, durante a primeira avaliação no dia 0, nenhum sintoma de brusone foi observado nas folhas. Nos dias 2, 4 e 6, os tratamentos T1, T2 e T3, que combinaram os bioagentes BRM32114, BRM32110, BRM63523 e Si, foram semelhantes entre si, mas diferiram dos controles (T4 e T5) (Fig. 1a). Na Safra 2, no dia 4, a supressão da doença foi maior em T3, com reduções de 41,84% e 46,12% em comparação com T4 e T5, respectivamente. No dia 6, T2 e T3 apresentaram LBS menor, com reduções de 49,07% e 77,93% em comparação ao controle (T4) e controle absoluto (T5), respectivamente (Fig. 1b). O Si reduziu o LBS em 81,57% (Safra 1) e 79,03% (Safra 2) em comparação ao controle absoluto (sem bactérias e apenas fertilização com Si) (Fig. 1). No final do período de avaliação, o cálculo da AUDPC mostrou que os tratamentos combinando bioagentes reduziram a severidade em 77,31% (Safra 1) e 58,15% (Safra 2) em comparação aos controles T4 e T5 (Fig. 1c).



**Figura 1.** Severidade da brusone foliar (LBS; %) e Área sob a Curva de Progresso da Doença (AACPD) em plantas de arroz de terras altas (cultivar BRS Esmeralda) submetidas a tratamentos com rizobactérias e Si. T1: BRM32114+32110 (TS e RG), BRM32110 (PV); T2: BRM32114+63523 (TS e RG), BRM32114 (PV); T3: BRM32114 + BRM32110 + BRM63523 (TS, RG, PV); T4: controle (sem bactérias e com fertilização com Si); T5: controle absoluto (sem bactérias e sem fertilização com Si). a: LBS na Safra 1 (2021/2022); b: LBS na Safra 2 (2022/2023); c: AACPD, safras 1 e 2; d, Plantas de arroz de parcela do ensaio de campo e severidade da LBS, tratamentos T3 (d) e T4 (e); . Em (a), os resultados médios (n = 60) seguidos por diferentes letras minúsculas dentro de cada Safra são significativamente diferentes em P = 0,05. Os resultados médios (n = 60) seguidos por diferentes letras maiúsculas ao longo das duas estações são significativamente diferentes em P = 0,05, de acordo com a análise fatorial usando o software SISVAR

Em relação à avaliação do PBS (Safra 1), nenhum sintoma foi observado no dia 0. No dia 2, os tratamentos microbilizados diferiram dos controles. No dia 4, a supressão da doença foi maior em T1 e T2. No dia 6, os tratamentos diferiram apenas do controle absoluto (T5) (Fig. 2a). Para o PBS (Safra 2), no dia 2, a supressão da doença foi maior em T1 e T3 em comparação aos controles T4 e T5. Nos dias 4 e 6, T1, T2 e T3 foram semelhantes entre

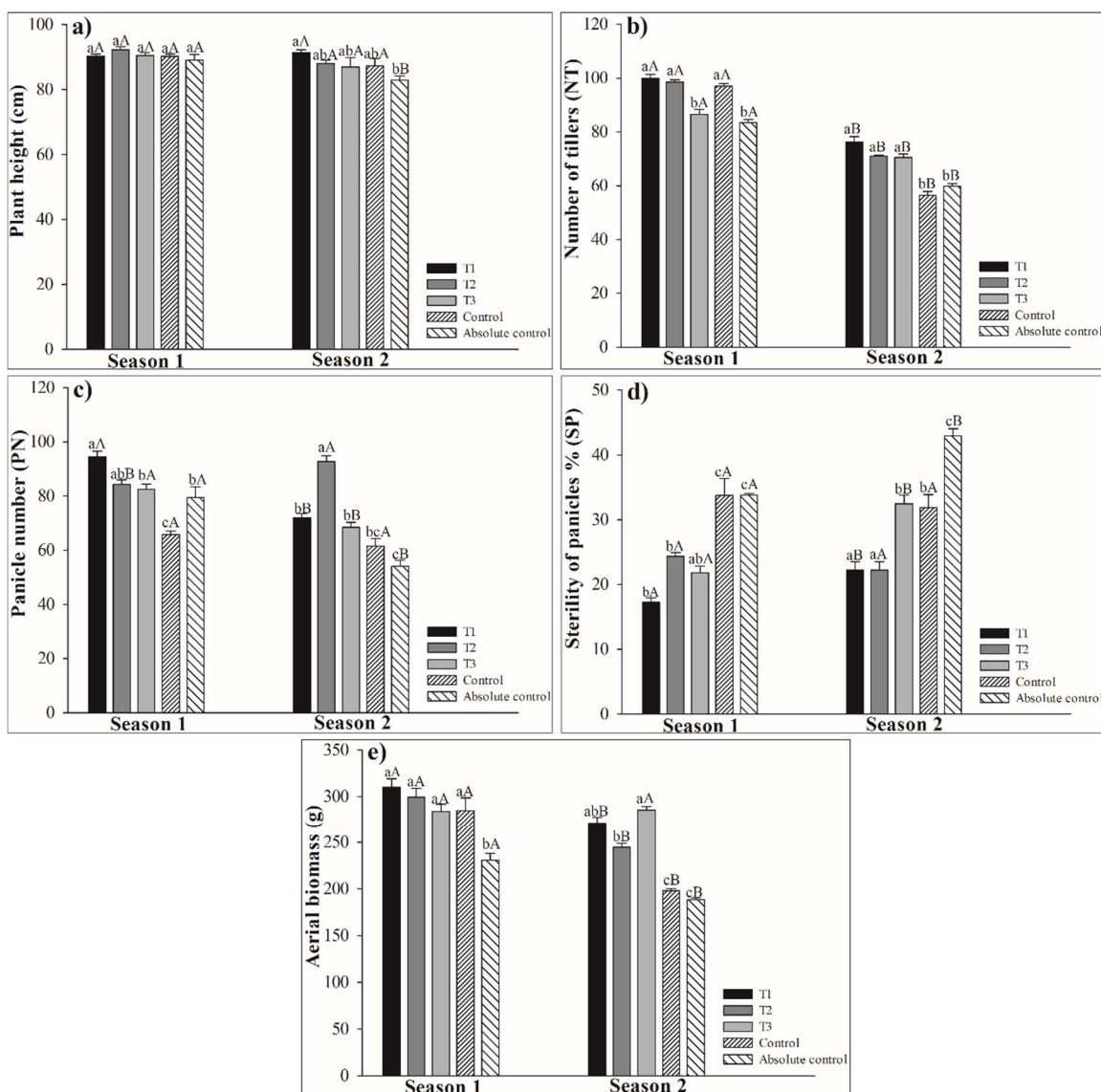
si, mas diferiram dos controles T4 e T5, com reduções de 62,37% e 49,07%, respectivamente (Fig. 2b). O Si reduziu o PBS em 84% (Safrá 1) e 49,07% (Safrá 2) quando comparado ao controle absoluto (sem bactérias e sem fertilização com Si). Ao final do período de avaliação, o cálculo da AUDPC mostrou que os tratamentos com bioagentes e Si reduziram a AUDPC em até 60,63% (Safrá 1) e 56,63% (Safrá 2) em comparação aos controles (Fig. 2c).



**Figura 2.** Severidade da brusone nas panículas (PBS; %) e Área sob a Curva de Progresso da Doença (AACPD) em plantas de arroz de terras altas (cultivar BRS Esmeralda) submetidas a tratamentos com rizobactérias e Si. T1: BRM32114+32110 (ST e RG), BRM32110 (PV); T2: BRM32114+63523 (ST e RG), BRM32114 (PV); T3: BRM32114 + BRM32110 + BRM63523 (TS, RG, PV); controle (sem bactérias e com fertilização com Si); AC: controle absoluto (sem bactérias e sem fertilização com Si). **a:** PBS Safrá 1 (2021/2022); **b:** PBS - Ssafrá2 (2022/2023); **c:** AACPD. **d, e, f, g e h:** Panículas saudáveis de plantas de arroz dos tratamentos T1, T2, T3, controle e controle absoluto, respectivamente. Para AUDPC (a), médias ( $n = 40$ ) seguidas por diferentes letras minúsculas dentro de cada estação são significativamente diferentes em  $P = 0,05$ . Para AUDPC (a), médias ( $n = 40$ ) seguidas por diferentes letras maiúsculas ao longo das duas estações são significativamente diferentes em  $P = 0,05$ , de acordo com análise fatorial usando o software SISVAR

## 4.2 PARÂMETROS AGRONÔMICOS

A análise estatística fatorial mostrou interação significativa ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos. As combinações entre as rizobactérias *S. marcescens*, *B. toyonensis* e a fertilização com Si melhoraram os parâmetros agrônômico das plantas da cultivar BRS Esmeralda nas duas safras (2021/2022 e 2023/2024), conduzidas na mesma área experimental (Figura 3).



**Figura 3.** Parâmetros agrônômicos (a) altura de planta, (b) número de perfilho, (c) número de panícula, (d) esterilidade de panícula, (e) biomassa da parte aérea de plantas de arroz de terras altas cultivar BRS Esmeralda submetida a tratamentos com rizobactérias e Si cultivadas em condições de baixo fósforo. T1: BRM32114+32110 (TS e RG), BRM32110 (PV); T2: BRM32114+63523 (TS e RG), BRM32114 (PV); T3: BRM32114 + BRM32110 + BRM63523 (TS, RG, PV); T4: controle (sem bactérias e com fertilização com Si); T5: controle absoluto (sem bactérias e sem fertilização com Si). Médias (n = 4) seguidas por diferentes letras minúsculas dentro de cada Safra são significativamente diferentes em  $P = 0,05$ . Médias (n = 4) seguidas por

diferentes letras maiúsculas entre as duas estações são significativamente diferentes em  $P = 0,05$ , de acordo com análise fatorial usando o software SISVAR

*Altura de planta:* Na safra 1, os tratamentos foram semelhantes entre si. Na Safra 2, T1 apresentou maior altura e diferiu do controle absoluto, apresentando um incremento de 10%. Na análise comparativa dos tratamentos entre safras, todos foram semelhantes entre si, exceto controle absoluto maior na safra 1.

*Número de perfilho (NT):* Os tratamentos T1, T2 e controle apresentaram maior NT na safra 1. Na safra 2, o NT dos tratamentos microbiolizados destacaram-se, com 19% a mais em relação aos controles. Na análise comparativa dos tratamentos entre safras, as plantas apresentaram maior NT na safra 1.

*Número de Panículas (NP):* T1 apresentou o maior NP na Safra 1, com um aumento de 43% em relação ao controle. Na Safra 2, o maior NP foi observado no T2, com um incremento de 71% em comparação ao controle absoluto. Na análise comparativa entre safras, os tratamentos T1, T3 e o controle absoluto apresentaram maior NP na Safra 1, enquanto T2 obteve superioridade na Safra 2. O controle apresentou resultados semelhantes entre as safras.

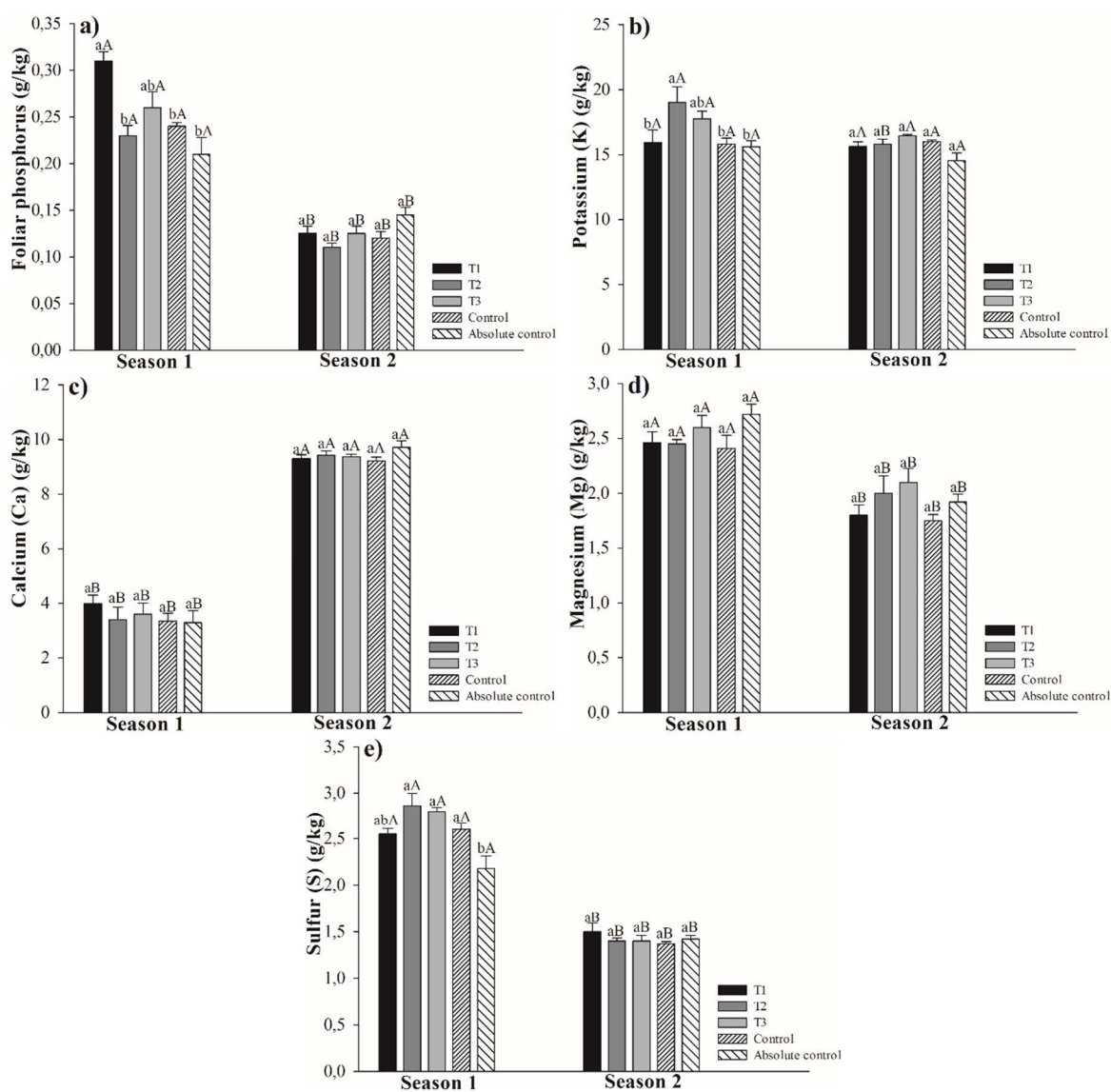
*Esterilidade de panícula (SP):* Na Safra 1, T1 apresentou a menor porcentagem de SP, com uma redução de 49% em comparação ao controle absoluto. Na Safra 2, T1 e T2 registraram as menores reduções, 48% em relação ao controle absoluto. Na análise comparativa entre safras, T1 e o controle absoluto apresentaram maior SP na Safra 1, enquanto T2, T3 e o controle mantiveram resultados semelhantes entre as safras.

*Biomassa:* Na Safra 1, os tratamentos microbiolizados e controle foram semelhantes e superior ao controle absoluto. Na Safra 2, a maior biomassa foi em T3, aumentou em 49% em relação ao controle. Na análise comparativa entre safras, T3 manteve resultado semelhante entre as safras, e os demais tratamentos apresentaram maior biomassa na safra 1.

#### 4.3 MACRONUTRIENTES FOLIARES

A análise estatística fatorial mostrou uma interação significativa ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos. As combinações das rizobactérias *Serratia marcescens* e *Bacillus toyonensis*, associadas à fertilização com Si, promoveram um aumento nos teores de macronutrientes

nas plantas do cultivar BRS Esmeralda ao longo das diferentes safras, conduzidas na mesma área do campo experimental (Figura 4).



**Figura 4.** Parâmetros nutricionais dos macronutrientes P, K, Ca, Mg e S ( $\text{g kg}^{-1}$ ); obtidos em plantas de arroz de terras altas cultivar BRS Esmeralda submetida a tratamentos com rizobactérias e Si cultivadas em condições de baixo fósforo. T1: BRM32114+32110 (ST e RG), BRM32110 (PV); T2: BRM32114+63523 (TS e RG), BRM32114 (PV); T3: BRM32114 + BRM32110 + BRM63523 (ST, RG, PV); T4: controle (sem bactérias e com fertilização com Si); T5: controle absoluto (sem bactérias e sem fertilização com Si). Médias ( $n = 4$ ) seguidas por diferentes letras minúsculas dentro de cada Safra são significativamente diferentes em  $P = 0,05$ . Médias ( $n = 4$ ) seguidas por diferentes letras maiúsculas entre as duas estações são significativamente diferentes em  $P = 0,05$ , de acordo com análise fatorial usando o software SISVAR

*Fósforo (P)*: Na Safra 1, T1 apresentou maior teor de P, com aumento de 45% em relação ao controle absoluto. Na Safra 2, os tratamentos foram semelhantes. Na análise comparativa entre safras, todos os tratamentos apresentaram maiores teores de P na Safra 1.

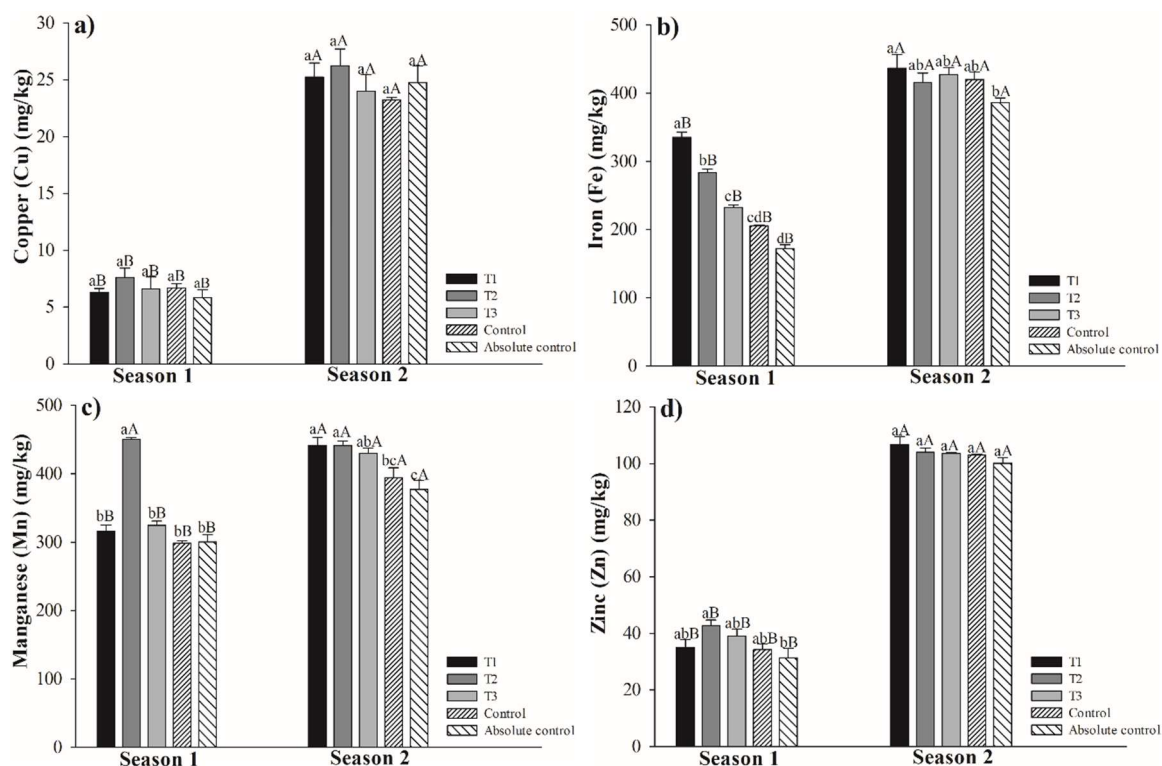
*Potássio (K)*: Na Safra 1, T2 apresentou maior teor de K, aumentou 21% em relação ao controle absoluto. Na Safra 2, os tratamentos foram semelhantes. Na análise comparativa entre safras, T2 obteve maior biomassa na Safra 1, enquanto os demais tratamentos foram semelhantes.

*Cálcio (Ca)*: Os tratamentos apresentaram semelhança entre-si, em ambas as safras. Na análise comparativa entre safras, todos os tratamentos apresentaram maiores teores de Ca na Safra 2

*Magnésio (Mg)*: Os tratamentos apresentaram semelhança entre-si em ambas as safras. Na análise comparativa entre safras, todos os tratamentos apresentaram maiores teores de Mg na Safra 1

*Enxofre (S)*: Na Safra 1, T1, T2 e controle apresentaram maior teor de S. Na Safra 2, os tratamentos foram semelhantes. Na análise comparativa entre safras, todos os tratamentos apresentaram maior teores de S na Safra 1.

#### 4.4 MICRONUTRIENTES FOLIARES



**Figura 5.** Parâmetros nutricionais dos micronutrientes – Cu, Fe, Mn and Zn ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), obtidos em plantas de arroz de terras altas cultivar BRS Esmeralda submetida a tratamentos com rizobactérias e Si cultivadas em condições de baixo fósforo. T1: BRM32114+32110 (ST e WG), BRM32110 (SP); T2: BRM32114+63523 (ST e WG), BRM32114 (SP); T3: BRM32114 + BRM32110 + BRM63523 (ST, WG, SP); T4: controle (sem bactérias e com fertilização com Si); T5: controle absoluto (sem bactérias e sem fertilização com Si). Médias ( $n = 4$ ) seguidas por diferentes letras minúsculas dentro de cada Safra são significativamente diferentes em  $P = 0,05$ . Médias ( $n = 4$ ) seguidas por diferentes letras maiúsculas entre as duas estações são significativamente diferentes em  $P = 0,05$ , de acordo com análise fatorial usando o software SISVAR

**Cobre (Cu):** Os tratamentos apresentaram semelhança entre-si em ambas as safras. Na análise comparativa entre safras, todos os tratamentos apresentaram maiores teores de Cu na Safra 2 (Figura 5 a).

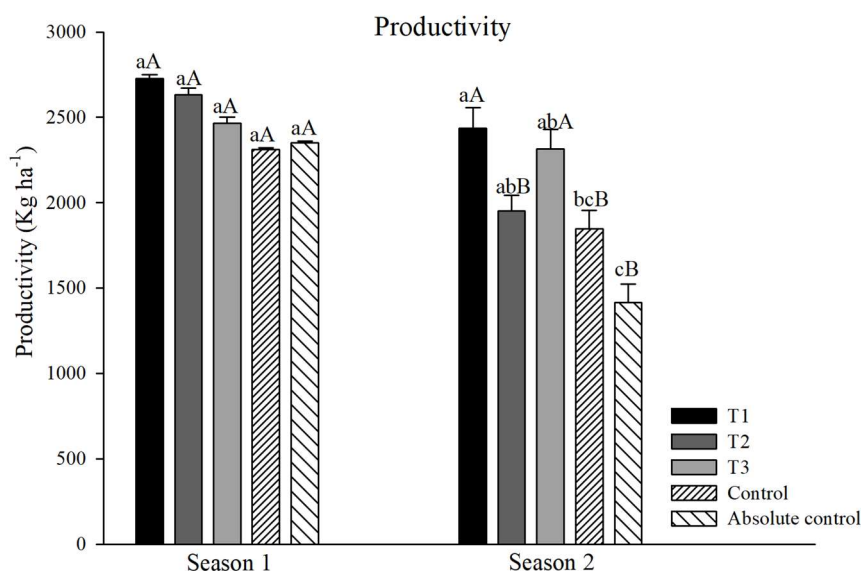
**Ferro (Fe):** T1 apresentou maior teor de Fe em ambas a safras, aumento de 94% na Safra 1 e 13% na Safra 2 em relação ao controle. Na análise comparativa entre safras, todos os tratamentos apresentaram maiores teores de Fe na Safra 2 (Figura 5 b).

**Manganês (Mn):** Na Safra 1, T2 apresentou maior teor de Mn, aumentou 50% em relação ao controle. Na Safra 2, os tratamentos microbiolizados foram superiores aos controles, aumento de 17%. Na análise comparativa entre safras, T1 apresentou maior teor na Safra 1, T3, controle e controle absoluto na Safra2, enquanto T2 foi semelhante entre as safras (Figura 5 c).

**Zinco (Zn):** Na Safra 1, T2 apresentou maior teor de Zn, aumentou 10% em relação ao controle absoluto. Na Safra 2, os tratamentos foram semelhantes. Na análise comparativa entre safras, todos os tratamentos apresentaram maiores teores Zn na Safra 2 (Figura 5 d).

#### 4.5 PRODUTIVIDADE DA CULTIVAR BRS ESMERALDA

Observou-se interação significativa ( $P < 0,05$ ) na análise fatorial (tratamento x safra). Na Safra 1, os tratamentos foram semelhantes. Na Safra 2, a combinação das rizobactérias *S. marcescens* e *B. toyonensis*, associada à adubação com silício no tratamento T1, resultou na maior produtividade, com um aumento de 72% em relação ao controle absoluto. Na comparação entre safras, T1 e T3 apresentaram produtividades semelhantes, enquanto T2, controle e controle absoluto obtiveram maiores produtividades na Safra 2 (Figura 6).

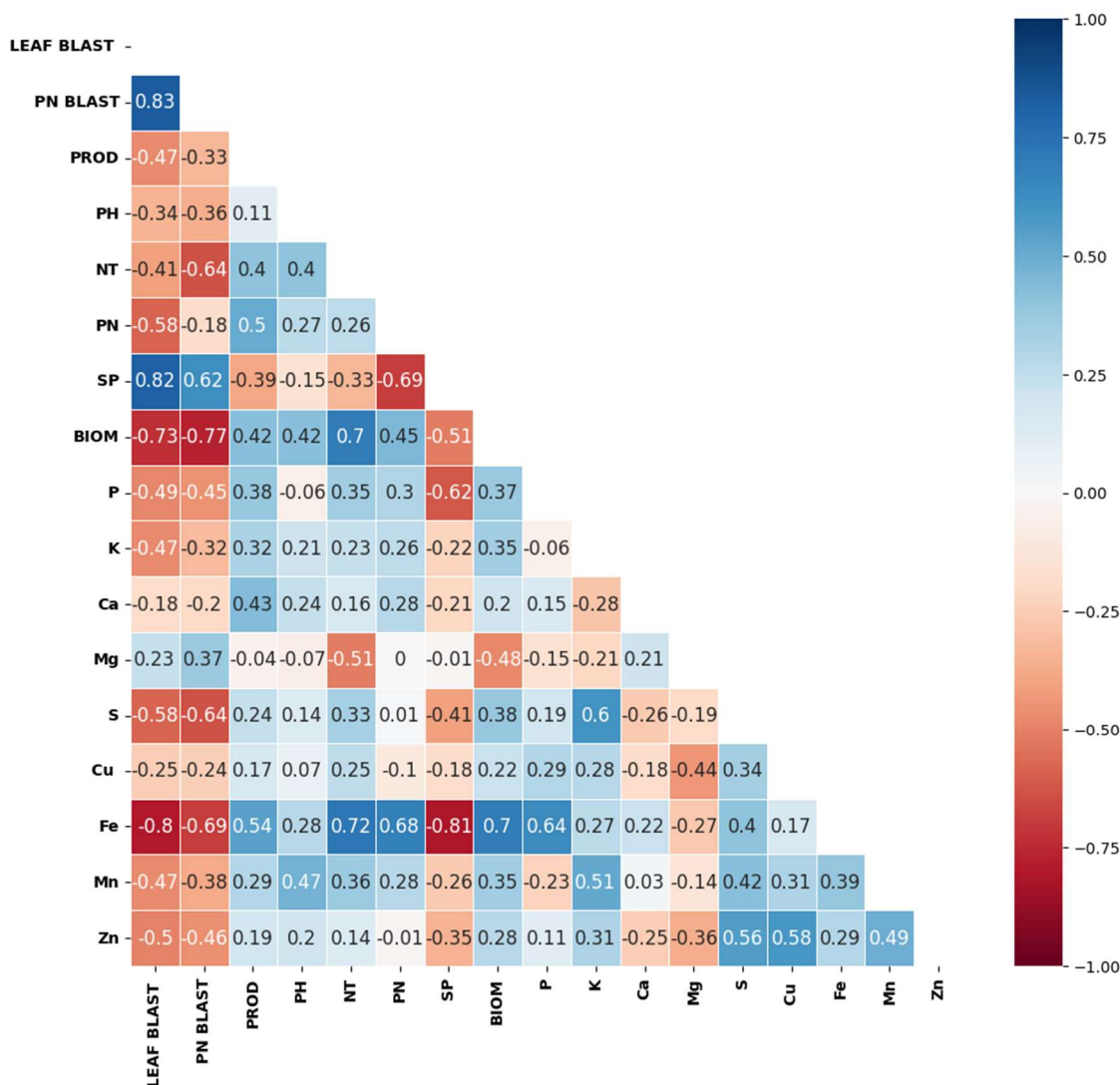


**Figura 6.** Produtividade da cultivar BRS Esmeralda submetida a tratamentos com rizobactérias e Si cultivadas em condições de baixo fósforo. T1: BRM32114+32110 (TS e RG), BRM32110 (PV); T2: BRM32114+63523 (TS e RG), BRM32114 (PV); T3: BRM32114 + BRM32110 + BRM63523 (TS, RG, PV); T4: controle (sem bactérias e com fertilização com Si); T5: controle absoluto (sem bactérias e sem fertilização com Si). Médias ( $n = 4$ ) seguidas por diferentes letras minúsculas dentro de cada Safra são significativamente diferentes em  $P = 0,05$ . Médias ( $n = 4$ ) seguidas por diferentes letras maiúsculas entre as duas estações são significativamente diferentes em  $P = 0,05$ , de acordo com análise fatorial usando o software SISVAR

#### 4.6 CORRELAÇÃO DE PEARSON ENTRE VARIÁVEIS DA SAFRA 1 E SAFRA 2

Na análise de correlação de Pearson das variáveis, foram observados resultados significativos ( $P < 0,05$ ) na Safra 1 (Figura 7). O LBS e PBS apresentaram correlações negativas e significativas com os parâmetros agrônômicos, macronutrientes e micronutrientes nessa safra (Figura 7 a). O LBS mostrou uma forte correlação negativa e significativa com PROD, PN, BIOM, P, K, S, Fe, Mn e Zn. A PBS correlacionou

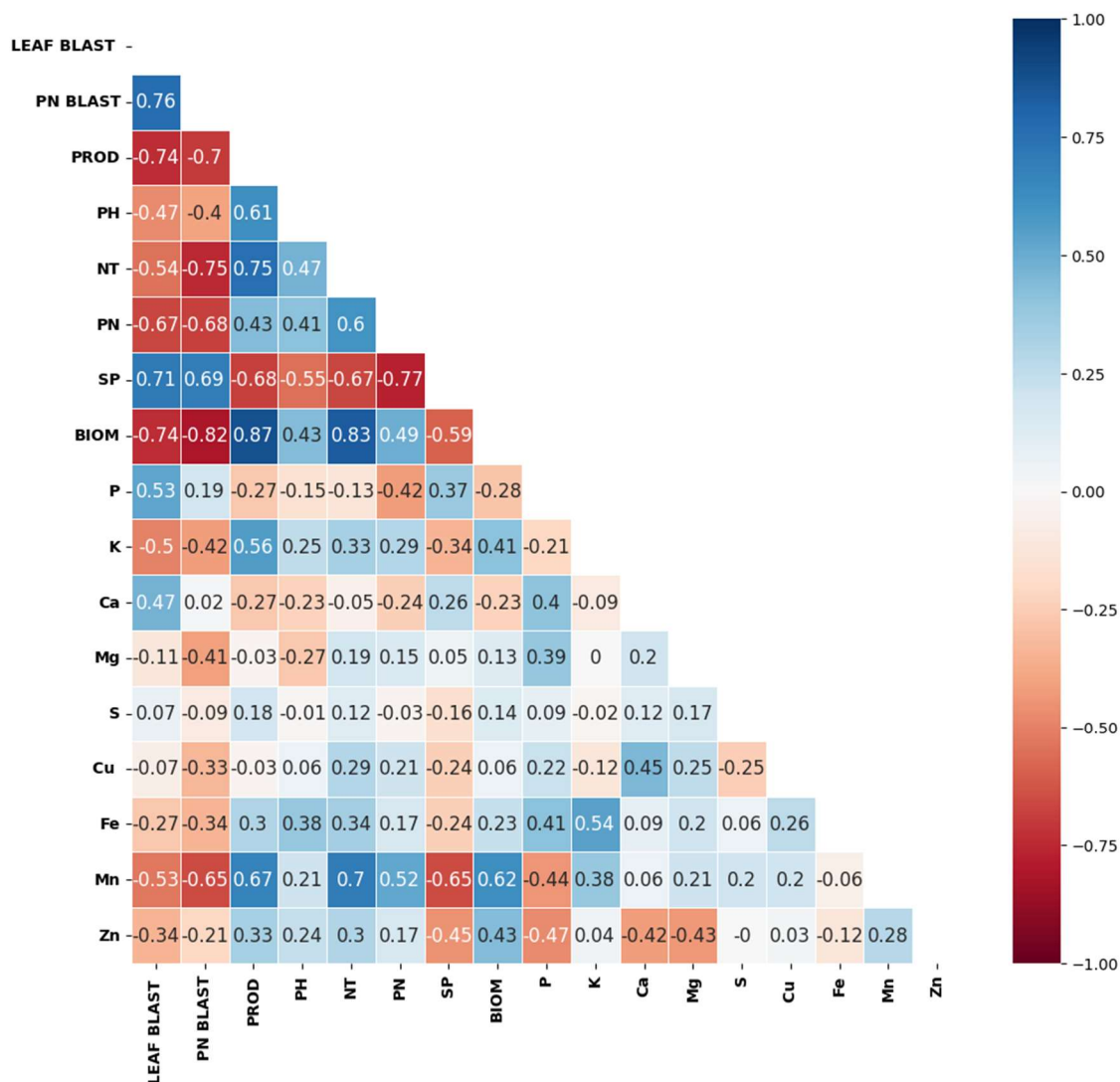
negativamente e significativamente com NT, BIOM, P, S, Fe e Zn. Por outro lado, o parâmetro SP apresentou correlação positiva e significativa com LBS e PBS.



**Figura 7.** Mapa de calor da matriz de correlação mostrando os valores do coeficiente de correlação de Pearson das variáveis avaliadas na Safra 1. Os valores positivos estão em azul e os negativos em vermelho. A escala varia de -1 a +1, onde -1 indica uma forte relação linear negativa entre as variáveis, 1 indica uma perfeita relação linear positiva forte entre as variáveis e 0 indica nenhuma relação entre as variáveis estudadas. Coeficiente branco = correlação significativa ( $P < 0,05$ ). Coeficiente preto = correlação não significativa ( $P > 0,05$ ). PN BLAST = Brusone na panícula; PROD = Produtividade; PH = Altura de planta; NT = Número de perfilho; PN = Número de panícula; SP = Esterilidade de panícula; BIOM = Biomassa da parte aérea; P = Fósforo, K = Potássio; Ca = Cálcio; Mg = Magnésio; S = Enxofre; Cu = Cobre; Fe = Ferro, Mn = Manganês; Zn = Zinco

Para Safra 2, foram observados resultados significativos ( $P < 0,05$ ). O LBS e PBS apresentaram correlações negativas e significativas com os parâmetros agrônômicos, macronutrientes e micronutrientes nessa safra (Figura 7a). O LBS mostrou uma forte correlação negativa e significativa com PROD, PH, NT, PN, SP, BIOM, P, K, Ca e Mn. A

PBS correlacionou negativamente e significativamente com PROD, NT, SP, BIOM, Mn (Figura 8).



**Figura 8.** Mapa de calor da matriz de correlação mostrando os valores do coeficiente de correlação de Pearson das variáveis avaliadas na Safra 2. Os valores positivos estão em azul e os negativos em vermelho. A escala varia de -1 a +1, onde -1 indica uma forte relação linear negativa entre as variáveis, 1 indica uma perfeita relação linear positiva forte entre as variáveis e 0 indica nenhuma relação entre as variáveis estudadas. Coeficiente branco = correlação significativa ( $P < 0,05$ ). Coeficiente preto = correlação não significativa ( $P > 0,05$ ). PN BLAST = Brusone na panícula; PROD = Produtividade; PH = Altura de planta; NT = Número de perfilho; PN = Número de panícula; SP = Esterilidade de panícula; BIOM = Biomassa da parte aérea; P = Fósforo; K = Potássio; Ca = Cálcio; Mg = Magnésio; S = Enxofre; Cu = Cobre; Fe = Ferro; Mn = Manganês; Zn = Zinco

## 5 DISCUSSÃO

A produção de arroz de terras altas precisa ser ampliada e tem como desafios as condições ambientais mais adversas, intensificadas pelas mudanças climáticas, limitação de nutrientes e pelo aumento da incidência de doenças (Sathe et al. 2021). O arroz é suscetível a infecções causadas por mais de 70 microrganismos patogênicos, os quais são responsáveis por perdas de produtividade. Entre essas doenças, a brusone, provocada pelo fungo *Magnaporthe oryzae*, destaca-se como a mais destrutiva. Dependendo da gravidade da infecção, a doença pode reduzir o rendimento da cultura em 10% a 30%, podendo alcançar perdas totais de até 100% em casos severos (Li et al. 2019; Zhang et al. 2019). O manejo da brusone foliar e da panícula envolve a integração de práticas culturais, resistência genética e controle químico. Entretanto, devido à complexa biologia do *M. oryzae*, os produtores frequentemente realizam aplicações preventivas de fungicidas, muitas vezes de forma desnecessária. Além disso, o uso excessivo de fertilizantes nitrogenados na busca por alta produtividade agrava a severidade da doença. Diante desse cenário, torna-se fundamental adotar estratégias sustentáveis, incluindo o uso de agentes biológicos e Si que promovam tanto o controle da doença quanto o crescimento das plantas (Prabhu et al. 2003; Silva-Lobo et al. 2012).

Neste estudo, avaliamos o efeito sinérgico da combinação das rizobactérias BRM32114 e BRM63523 (ambas *S. marcescens*) e BRM32110 (*B. toyonensis*) com Si, utilizando diferentes métodos de aplicação, para suprimir a brusone em folhas e panículas durante duas safras conduzidas em campo com fertilização. A análise fatorial revelou que essa combinação de bioagentes com Si resultou em uma supressão de LBS e PBS de até 84%, além de reduzir a AACPD em até 77,31% (Figs. 1 e 2). Ambas as safras foram submetidas a condições desafiadoras, enfrentando estresse biótico (brusone – *M. oryzae*) e abiótico (déficit hídrico devido à ausência de chuvas), apresentando diferenças entre si. Em estudos anteriores (Faria et al. 2023), em plantas de arroz de terras altas fertilizadas com Si e tratadas com *Burkholderia cepacia* (BRM32111), a AACPC da brusone foliar foi 87,96% menor que o controle. As rizobactérias são uma ferramenta sustentável para o controle de doenças, protegendo as plantas ao modular a imunidade do hospedeiro e induzir respostas de defesa mais rápidas, conhecidas como resistência sistêmica induzida (ISR). Esse processo aumenta a produção de proteínas relacionadas à patogênese (PR), como quitinase (CHI), glucanase (GLU), fenilalanina amônia-liase (PAL) e lipoxigenase (LOX), consideradas essenciais no reconhecimento de patógenos e na interrupção de sua

progressão (Spence et al. 2014; García-Cristobal et al. 2015). Essas enzimas fornecem insights sobre os mecanismos envolvidos na supressão de brusone. A redução na severidade da doença sugere que os tratamentos com bioagentes e silício (Si) neste estudo estimularam mecanismos de defesa nas plantas contra a invasão de *M. oryzae*. De acordo com De Oliveira et al. (2025), os isolados BRM32114 (*S. marcescens*) e BRM32110 (*B. toyonensis*) combinados com Si aumentaram a atividade das enzimas quitinase (CHI), glucanase (GLU), lipoxigenase (LOX) e fenilalanina amônia-liase (PAL) em resposta a brusone em plantas de arroz de terras altas. A severidade da brusone nas plantas de arroz levou a uma maior porcentagem de esterilidade das panículas (SP) nos tratamentos sem o uso de bioagentes e silício (42%), em comparação com os tratamentos microbiolizados (17%) (Figura 3), apresentando uma correlação positiva e significativa entre SP e LBS (0,82 e 0,71) e entre SP e PBS (0,71 e 0,69) em ambas as safras.

A disponibilidade P é outro fator crítico de estresse, sendo um dos principais limitadores da produtividade do arroz em terras altas. Em solos de cerrado, apenas 5-25% do P aplicado é efetivamente absorvido pelas plantas, enquanto 75-95% é quimicamente fixado no solo, tornando-se insolúvel e indisponível para as culturas (Batool & Iqbal, 2019; Prado et al. 2020). As análises de solo realizadas no presente estudo indicaram teores de P de 1,5 mg/dm<sup>3</sup> na Safra 1 e 0,5 mg/dm<sup>3</sup> na Safra 2, valores considerados baixos para o cultivo de arroz de terras altas, de acordo com Santos et al. (2006). Para mitigar essa limitação, foram utilizados isolados microbianos com capacidade de solubilização de P inorgânico: BRM32114, com um índice de solubilização (IS) de 1,44, e BRM32110, com um IS de 1,11 (Faria, 2021), o que pode explicar o aumento de 45% de P no tratamento microbiolizado por esses isolados sugerindo interação benéfica entre solo-planta-microrganismo. A solubilização de P não lábil por rizobactérias ocorre pela ação de ácidos orgânicos (ácidos cítrico, fórmico, málico, oxálico e glucônico) (Zeng et al. 2022).

Outro nutriente essencial para as plantas de arroz é K, fundamental para processos como a fotossíntese, a regulação da abertura e fechamento estomático e a ativação de diversas enzimas. No entanto, a disponibilidade de K no solo é frequentemente limitada, com cerca de 90% do total encontrado em formas não disponíveis para as plantas (Prajapati, 2012). No presente estudo observamos um aumento de 21% de K nas folhas. O P em combinação com K estimula o desenvolvimento de cutículas e o espessamento da parede celular, formando uma barreira física mais eficaz contra a infecção por patógenos, sendo uma possível explicação para o aumento da resistência contra doenças (Datnoff et al. 2023).

Eneji et al. (2008) observaram fortes associações entre a absorção Si e P, independentemente das condições hídricas do solo. No entanto, a absorção de K apresentou uma correlação mais significativa com a de Si especificamente sob condições de déficit hídrico, sugerindo uma possível interação entre esses elementos na adaptação das plantas ao estresse hídrico. Miao et al. (2010) verificaram que o Si amenizou a peroxidação lipídica da membrana causada pela deficiência de K, reduzindo os danos oxidativos às células por meio da ativação de enzimas antioxidantes, que neutralizam espécies reativas de oxigênio (EROs), minimizando o estresse oxidativo e preservando a integridade celular.

O uso de rizobactérias e Si podem melhorar a rizosfera do hospedeiro, favorecendo a absorção de nutrientes e água pelas plantas. Isso pode resultar em uma maior eficiência na aquisição de nutrientes, além de estimular a atividade microbiana do solo, o que contribui para a melhoria da fertilidade do solo a longo prazo aumentando a produtividade agrícola (Hafez et al. 2019). Plantas infectadas por patógenos respondem ao fornecimento de macronutrientes de forma que, à medida que a biomassa seca aumenta em condições ideais de nutrição, a intensidade da doença tende a diminuir (Datnoff et al. 2023). No presente estudo, durante a safra 1, as plantas submetidas à microbiolização e adubação com Si acumularam maior teor de macronutrientes, exceto Ca, Mg e S, cujos níveis permaneceram estáveis. Nascente et al. (2017) também observaram efeitos semelhantes dos tratamentos com rizobactérias nos teores de Ca, Mg e Cu em arroz de terras altas. Além disso, as plantas de arroz tratadas com essa rizobactéria apresentaram diferenças significativas em relação ao tratamento controle nos teores de P, Fe, Mn e Zn, corroborando com o presente estudo.

Plantas microbiolização e adubação com Si em comparação com as plantas não microbiolizadas e sem Si, apresentaram um aumento de 45% na absorção de P (Figura 4), 21% a mais de K e um incremento de 49% na biomassa (Figura 3). O mapa de calor revelou uma forte correlação negativa e significativa entre os teores de P (0,49) e K (0,45) com a LBS e PBS (Figuras 7 e 8), indicando que os níveis desse macronutrientes adquiridos podem reduzir a severidade das doenças. As concentrações de micronutrientes também foram significativamente influenciadas pela interação entre os bioagentes e Si. Essa combinação resultou em um aumento de 94% no teor de Fe, 50% no de Mn e 10% no Zn, e corroboram com Suarez et al. (2015), que observaram que as plantas de feijão tratadas com Si e inoculadas com rizobactérias acumularam altas teores de minerais, como Zn ( $119,90 \text{ mg kg}^{-1}$ ) e Fe ( $310,79 \text{ mg kg}^{-1}$ ), e nas folhas em condições de estresse abiótico

(Suarez et al. 2015). As rizobactérias podem manter a acessibilidade de Zn no solo sintetizando vários componentes (carboxilatos e compostos fenólicos) e quelantes (fenólicos e ácidos orgânicos) (Verma et al. 2020). O Fe é essencial para atividade biológica de muitas proteínas que participam de transferência de elétrons e reações de redox, e é necessário para o processo de respiração e de fotossíntese. As rizobactérias promovem a disponibilização de Fe para as plantas principalmente por meio da produção de sideróforos, que são compostos orgânicos com alta afinidade pelo ferro na forma férrica ( $\text{Fe}^{3+}$ ). Os sideróforos quelam o  $\text{Fe}^{3+}$  presente no solo para a forma ferrosa ( $\text{Fe}^{2+}$ ), que é mais facilmente absorvida pelas raízes, formando complexos solúveis que impedem sua precipitação e tornam o nutriente mais acessível às plantas (Datnoff et al. 2023). Os isolados utilizados no presente estudo são produtores de sideróforos, na investigação por Faria (2021) BRM32114 e BRM32110 apresentaram 46,0 e 53,1% de unidade de sideróforos, respectivamente (Faria 2021). Rizobactérias produtoras de sideróforos no manejo integrado de doenças do arroz promove a captura do Fe na rizosfera (Naureen, et al. 2015) facilitando sua assimilação pelas raízes e contribuindo para a supressão de fitopatógenos por meio da indução de resistência na planta (Datnoff et al. 2023). Esse nutriente demonstrou uma forte correlação negativa e significativa com a LBS (0,8) e PBS (0,69) (Figura 7) indicando sua possível contribuição para a redução da severidade das doenças.

O rendimento da cultivar BRS Esmeralda aumentou 24,57% em relação ao controle e 72% em relação ao controle absoluto com a aplicação de bioagentes e silício (Si) (Figura 6). Além disso, nossos resultados demonstraram o impacto individual de cada fator: as rizobactérias elevaram o rendimento em 33,94%, enquanto a aplicação de Si (2 toneladas  $\text{ha}^{-1}$ ) resultou em um aumento de 38,06% na Safra 2. Souza et al. (2021) observaram que o Si (4 toneladas  $\text{ha}^{-1}$ ) proporcionou um aumento de 27%, e os bioagentes (*B. pyrrocinia* + *P. fluorescens* + um pool de *Trichoderma asperellum*) mostraram um aumento de 19,6% no rendimento do arroz de terras altas. A supressão de LBS e PBS demonstrada em nosso estudo com a aplicação de bioagentes e Si corrobora com o aumento de produtividade observado, correlacionando negativamente em ambas as safras, conforme o mapa de calor (Figuras 7 e 8). Neste estudo, a área de cultivo da cultivar BRS Esmeralda não recebeu fertilização fosfatada, e o experimento foi conduzido sob condições de baixo fósforo. As análises de solo indicaram teores de P de 1,5  $\text{mg}/\text{dm}^3$  na Safra 1 e 0,5  $\text{mg}/\text{dm}^3$  na Safra 2, valores considerados baixos para o cultivo de arroz em terras altas (Santos et al. 2006). Os

resultados obtidos confirmam que a combinação de rizobactérias e silício (Si) aumentou o rendimento de grãos em 72% sob condições de deficiência de P, além de apresentar correlação positiva e significativa com os teores de K, Fe e Mn (Figura 7).

## **6 CONCLUSÃO**

A combinação de bioagentes e silício (Si) na proteção do arroz de terras altas demonstrou reduzir a severidade da brusone foliar e da panícula, efeito associado à maior absorção de minerais e ao aumento da produtividade, especialmente em solos com baixo teor de fósforo. Essa abordagem tem o potencial de melhorar todos os parâmetros ligados a produção e reduzir a necessidade de aplicações de fungicidas, fortalecendo o manejo integrado das doenças da cultura. No entanto, para consolidar sua eficácia, são necessários mais ensaios em condições de campo.

## 7 REFERÊNCIAS

- Araújo L, Paschoalino RS, Rodrigues FA (2016) Microscopic aspects of silicon mediated rice resistance to leaf scald. *Phytopathology*. 106, 132-141.  
<https://doi.org/10.1094/PHTO-04-15-0109-R>
- Batool S, Iqbal Á (2019) Phosphate solubilizing rhizobacteria as alternative of chemical fertilizer for growth and yield of *Triticum aestivum*. *Saudi J Biol Sci* 26(7):1400-1410.  
<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.05.024>
- Brunings AM, Datnoff LE, Ma JF, Mitani N, Nagamura Y, Rathinasabapathi B, Kirst M (2009) Differential gene expression of rice in response to silicon and rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*. *Annals of Applied Biology*, 2, 161-170.
- Datnoff LE, Elmer WH, Rodrigues FA (2023) *Nutrição mineral de plantas*. 2ª ed. Piracicaba.
- De Oliveira RS, Gonçalves AR, Ajulo AA, Oliveira LR, Lanna AC, De Filippi, MCC (2024) Survey and genomic characterization of *Serratia marcescens* on endophytism, biofilm, and phosphorus solubilization in rice plants. *Environ Sci Pollut Res* (2024).  
<https://doi.org/10.1007/s11356-024-35554-2>
- Dubey SC, Singh V, Priyanka K, Upadhyay BK, Singh B (2015) Combined application of fungal and bacterial bio-agents, together with fungicide and *Mesorhizobium* for integrated management of *Fusarium* wilt of chickpea. *BioControl*, 60:413-424.  
<https://doi.org/10.1007/s10526-015-9653-8>
- Eneji AE, Inanaga S, Muranaka S, Li J, Hattori T, An P, Tsuji W (2008) Growth and nutrient use in four grasses under drought stress mediated by silicon fertilizers. *Journal of Plant Nutrition*, 31(2): 355–365. <https://doi.org/10.1080/01904160801894913>
- Etesami H, Jeong BR (2018) Silicon (Si): Review and future prospects on the action mechanisms in alleviating biotic and abiotic stresses in plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 147: 881-896.
- Etesami H, Maheshwari DK (2018) 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*, 156, 225-246.  
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.013>
- Faria DR 2021 *Rizobactérias e silício na intensificação da mitigação do arroz de terras altas ao déficit hídrico e à brusone*. Dissertação (Mestrado em agronomia) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO.
- Faria DR, Mendonça SM, Sousa OMI, Lanna AC, Filippi MCC (2023) Rhizobacteria and silicon mitigate multiple stresses in upland rice. *Tropical Plant Pathology*, 1-15.  
<https://doi.org/10.1007/s40858-023-00593-6>
- Ferreira DF (2011) Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciênc Agrotec* 35:1039-1042.

- Filippi MCC, Silva GB da, Silva-Lobo V, Côrtes MVCB, Moraes AJG, Prabhu AS (2011) Leaf blast (*Magnaporthe oryzae*) suppression and growth promotion by rhizobacteria on aerobic rice in Brazil. *Biological Control*, 58(2): 160-166.
- García-Cristobal J, García-Villaraco A, Ramos B, Gutierrez-Mañero J, Lucas JA (2015) Priming of pathogenesis related-proteins and enzymes related to oxidative stress by plant growth promoting rhizobacteria on rice plants upon abiotic and biotic stress challenge. *Journal of Plant Physiology*, 188, 72-79.
- Hafez EM, Alsohim AS, Farig M, Omara AED, Rashwan E, Kamara MM (2019) Synergistic effect of biochar and plant growth promoting rhizobacteria on alleviation of water deficit in rice plants under salt-affected soil. *Agronomy*, 9(12): 847.
- Hassan MN, Afghan S, Ul Hassan Z, Hafeez FY (2014) Biopesticide activity of sugarcane associated rhizobacteria: *Ochrobactrum intermedium* strain NH-5 and *Stenotrophomonas maltophilia* strain NH-300 against red rot under field conditions. *Phytopathol Mediterr* 53(2): 229-239, <https://www.jstor.org/stable/43871776>
- Khan MAI, Bhuiyan MR, Hossain MS, Sen PP, Ara A, Siddique MA, Ali MA (2014) Neck blast disease influences grain yield and quality traits of aromatic rice. *Comptes Rendus. Biologies*, 337(11): 635-641.
- Klotzbücher A, Klotzbücher T, Jahn R, Xuan LD, Cuong LQ, Van Chien H, Vetterlein D (2018) Effects of Si fertilization on Si in soil solution, Si uptake by rice, and resistance of rice to biotic stresses in Southern Vietnam. *Paddy and Water Environment*, 16: 243-252.
- Lee SK, Sohn EY, Hamayun M, Yoon JY, Lee IJ (2010) Effect of silicon on growth and salinity stress of soybean plant grown under hydroponic system. *Agroforestry Systems*, 80, 333-340.
- Li W, Chern M, Yin J, Wang J, Chen X (2019) Recent advances in broad-spectrum resistance to the rice blast disease. *Current Opinion in Plant Biology*, 50, 114-120.
- Lugtenberg B, Kamilova F (2009) Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology* 63, 541-556.
- Ma JF, Yamaji N (2006) Silicon uptake and accumulation in higher plants. *Trends in Plant Science*, 11, 392-397.
- Malavolta E, Vitti GC, Oliveira SA (1997) Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. 2ª ed. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato.
- Meharg C, Meharg AA (2015) Silicon, the silver bullet for mitigating biotic and abiotic stress, and improving grain quality, in rice?. *Environmental and Experimental Botany*, 120:8-17. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.07.001>
- Miao BH, Han XG, Zhang WH (2010) The ameliorative effect of silicon on soybean seedlings grown in potassium-deficient medium. *Annals of Botany*, 105(6): 967-973.

- Nascente AS, De Filippi MCC, Lanna AC, De Sousa TP, De Souza ACA, Da Silva Lobo VL, Da Silva GB (2017) Effects of beneficial microorganisms on lowland rice development, *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 25233-25242, <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0212-y>
- Nascente AS, De Filippi MCC, Lanna AC, De Souza ACA, Da Silva Lobo VL, Da Silva GB (2016) Biomass, gas exchange, and nutrient contents in upland rice plants affected by application forms of microorganism growth promoters, *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 2956-2965, <https://doi.org/10.1007/s11356-016-8013-2>
- Naureen Z, Hafeez FY, Hussain J, Al Harrasi A, Bouqellah N, Roberts MR (2015) Suppression of incidence of *Rhizoctonia solani* in rice by siderophore producing rhizobacterial strains based on competition for iron biocontrol of sheath blight in rice. *European Scientific Journal*, 11(3): 186-207.
- Notteghem JL (1981) Cooperative experiment on horizontal resistance to rice blast. in: blast and upland rice: report and recommendation from the meeting for international collaboration in upland rice improvement. Los Baños, 43-51.
- Prabhu AS, Araújo LGD, Faustina C, Berni RF (2003). Estimativa de danos causados pela brusone na produtividade de arroz de terras altas. *Pesq Agropec Bras* 38, 1045-1051. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2003000900004>
- Prabhu AS, Guimarães CM, Berni RF (2001) Influência da época de plantio no controle da brusone em folhas de arroz de terras altas. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2 p
- Prado LFS, Da Costa, CHM, De Oliveira Paz RB, Moura BDF, Da Costa, FLA (2020) Adubação silicatada foliar associada ao nitrogênio em cobertura na cultura do arroz de terras altas, *Magistra*, 30, 384-390.
- Prajapati K (2012) The importance of potassium in plant growth – a review. *Indian Journal of Plant Sciences*, 1, 177-186.
- Rehman MZ, Rizwan M, Rauf A, Ayub MA, Ali S, Qayyum MF, Sanaullah M (2019) Split application of silicon in cadmium (Cd) spiked alkaline soil plays a vital role in decreasing Cd accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) grains. *Chemosphere*, 226, 454-462.
- Santos AB, Stone LF, Vieira NDA (2006) A cultura do arroz no Brasil, Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão.
- Sathe AP, Kumar A, Mandlik R, Raturi G, Yadav H, Kumar N, Sonah H (2021) Role of silicon in elevating resistance against sheath blight and blast diseases in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Physiology and Biochemistry* 166, 128-139. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.05.045>
- Shaner G, Finney RE (1977) The effect of nitrogen fertilization on the expression of slowmildewing resistance in knox wheat. *Phytopathology* 67(8):1051-1056
- Shi Y, Wang Y, Flowers TJ, Gong H (2013) Silicon decreases chloride transport in rice (*Oryza sativa* L.) in saline conditions. *Journal of Plant Physiology*, 170(9): 847-853.

- Silva-Lobo VL, Filippi MCC, Silva GB, VenancioWL, Prabhu AS (2012). Relação entre o teor de clorofila nas folhas e a severidade de brusone nas panículas em arroz de terras altas. *Trop Plant Pathol* 37, 83-87
- Spence C, Alff E, Johnson C, Ramos C, Donofrio N, Sundaresan V, Bais H (2014) Natural rice rhizospheric microbes suppress rice blast infections. *BMC Plant Biology*, 14, 1-17. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-14-130>
- Suarez C, Cardinale M, Ratering S, Steffens D, Jung S, Montoya AMZ, Schnell S (2015) Plant growth-promoting effects of *Hartmannibacter diazotrophicus* on summer barley (*Hordeum vulgare* L.) under salt stress. *Applied Soil Ecology*, 95, 23-30.
- Verma KK, Song XP, Li DM, Singh M, Rajput VD, Malviya MK, Li YR (2020) Interactive role of silicon and plant–rhizobacteria mitigating abiotic stresses: A new approach for sustainable agriculture and climate change. *Plants*, 9(9): 1055.
- Verma KK, Song XP, Li DM, Singh M, Wu JM, Singh RK, Li YR (2022) Silicon and soil microorganisms improve rhizospheric soil health with bacterial community, plant growth, performance and yield. *Plant Signaling & Behavior*, 17(1). <https://doi.org/10.1080/15592324.202>
- Xie J, Yan Z, Wang G, Xue W, Li C, Chen X, Chen D (2021) A bacterium isolated from soil in a Karst rocky desertification region has efficient phosphate-solubilizing and plant growth-promoting ability, *Frontiers in Microbiology*, 11, 625450, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.625450>
- Zeng Q, Ding X, Wang J, Han X, Iqbal H, Bilal M (2022) Insight into soil nitrogen and phosphorus availability and agricultural sustainability by plant growth-promoting rhizobacteria, *Environmental Science and Pollution Research*, 29 , 45089–45106, <https://doi.org/10,1007/s11356-022-20399-4>
- Zhang M, Wang S, Yuan M (2019) An update on molecular mechanism of disease resistance genes and their application for genetic improvement of rice. *Molecular Breeding*, 39(10): 154.