



UFG

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

**RIZOBACTÉRIAS E SILÍCIO NA INTENSIFICAÇÃO DA
MITIGAÇÃO DO ARROZ DE TERRAS ALTAS AO DÉFICIT
HÍDRICO E À BRUSONE**

DENNER ROBERT FARIA

Orientadora:

Prof^a. Dr^a. Marta Cristina Corsi de Filippi

Fevereiro – 2021



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE AGRONOMIA

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

E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

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

1. Identificação do material bibliográfico

☒ Dissertação ☐ Tese

2. Nome completo do autor

Denner Robert Faria

3. Título do trabalho

Rizobactérias e silício na intensificação da mitigação 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 ☐ NÃO¹

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

a) consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a);

b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação.

O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

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



Documento assinado eletronicamente por **Marta Cristina Corsi de Filippi, Usuário Externo**, em 25/02/2021, às 15:12, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **DENNER ROBERT FARIA, Discente**, em 04/03/2021, às 12:28, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0 informando o código verificador **1863145** e o código CRC **764BEF3F**.

Referência: Processo nº 23070.007299/2021-38

SEI nº 1863145

DENNER ROBERT FARIA

**RIZOBACTÉRIAS E SILÍCIO NA INTENSIFICAÇÃO DA MITIGAÇÃO DO
ARROZ DE TERRAS ALTAS AO DÉFICIT HÍDRICO E À BRUSONE**

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

Área de concentração: Fitossanidade

Orientadora:

Prof^a. Dr^a. Marta Cristina Corsi de Filippi

Coorientadora:

Prof^a. Dr^a. Anna Cristina Lanna

Goiânia, GO - Brasil

2021

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

Faria, Denner Robert

Rizobactérias e silício na intensificação da mitigação do arroz de
terras altas ao déficit hídrico e à brusone [manuscrito] / Denner Robert
Faria. - 2021.

117, CXVII f.

Orientador: Prof. Marta Cristina Corsi de Filippi; co-orientador
Anna Cristina Lanna.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Escola
de Agronomia (EA), Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Goiânia,
2021.

Inclui fotografias, gráfico, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. *Oryza sativa* L.. 2. Rizobactérias. 3. Potencial osmótico. 4. Silício.
5. *Magnaporthe oryzae*. 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 29/2021 da sessão de Defesa de Dissertação de Denner Robert Faria que confere o título de Mestre em Agronomia, na área de concentração em Fitossanidade.

Aos 24/02/2021, vinte e quatro dias do mês de fevereiro do ano de dois mil e vinte e um, a partir das 8:30, oito horas e trinta minutos, por videoconferência, realizou-se a sessão pública de Defesa de Dissertação intitulada “Rizobactérias e silício na intensificação da mitigação do arroz de terras altas ao déficit hídrico e à brusone”. Os trabalhos foram instalados pela Orientadora e Presidente da Banca Examinadora, **Dra. Marta Cristina Corsi de Filippi (Embrapa Arroz e Feijão)** com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: **Dr. Alexandre Bryan Heinemann (Embrapa Arroz e Feijão)**, membro titular interno; **Prof. Alan Carlos Alves de Souza (UniEvangélica)**, membro titular externo. Durante a arguição, os membros da banca não fizeram sugestão de alteração do título do trabalho. Após a arguição, a Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Dissertação tendo sido o candidato APROVADO pelos seus membros. Proclamados os resultados pela Presidente da Banca Examinadora, Dra. Marta Cristina Corsi de Filippi, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora, aos 24/02/2021, vinte e quatro dias do mês de fevereiro do ano de dois mil e vinte e um.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA

Documento assinado eletronicamente por **Marta Cristina Corsi de Filippi, Usuário Externo**, em 25/02/2021, às 06:52, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Alexandre Bryan Heinemann, Usuário Externo**, em 25/02/2021, às 09:53, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1898890** e o código CRC **81F4EAEF**.

Referência: Processo nº 23070.007299/2021-38

SEI nº 1898890

Ao meu avós Cornélio Faria e Maria Helena, cuja presença foi essencial na minha vida.

“Para sempre em minha memória”

Dedico

AGRADECIMENTOS

Aquele que nunca vemos e ouvimos, mas que temos a certeza da presença, do qual me concedeu toda sabedoria, guiando no caminho no qual deveria seguir, pelos tropeços que me levaram ao acerto e me fizeram concluir essa etapa, Deus.

Aos meus pais, Claudio e Alenice, que são os pilares da minha vida e de todo o meu sucesso, por serem minhas fontes de inspiração e caráter. A minha irmã Layanny por ser tão esplêndida, sempre me ouvindo e aconselhando em momentos difíceis, me entendendo e fortalecendo.

Aos meus avós Gumercindo, Iolinda, Cornélio (*in memoriam*) e Maria Helena (*in memoriam*) por todo apoio, carinho e amor, sempre acreditando no meu sucesso.

Ao meu namorado Raul Martins por todo carinho e afeto, sempre estando ao meu lado, apoiando e me incentivando a seguir em frente, mesmo diante as dificuldades.

Aos meus amigos da vida, Laura Bauer, Marcos Antônio, Nívia Paiva e Mariely Moreira, por todo apoio que me concederam, pela motivação, amizade e companheirismo.

A minha orientadora Prof^a. Dr^a. 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 Prof^a. Dr^a. Anna Cristina Lanna que também sempre exerceu total dedicação, serenidade para ensinar, e nunca hesitou em medir esforços para me orientar.

As amizades construídas no mestrado, Marina, Gabriel, Karol, Nayara, Mariana, Geovanni, Gustavo, Niedja, Lana, Joice, Larissa, Aline, Daniela, Laura, Rayanne e Flávio, que estiveram comigo me auxiliando em várias atividades, me ensinando quando precisei.

Em especial aos meus amigos Sillas, Marília, João Pedro, Mayth e Cássia pelas brincadeiras e risadas em conversas jogadas fora, pelos conselhos e por me ouvir nos “maus bocados”, pelo companheirismo e todo apoio, por tudo que construímos juntos, obrigado. Serão amizades que levarei para a vida.

Aos técnicos do Laboratório de Microbiologia e de Análises de Sementes e demais funcionários da Embrapa Arroz e Feijão, Elder, Maria Mônica, Livia, Ronair, Anaires, José Paixão, Jadelso, Cleiciomar, Gesimaria e Divino, pelos ensinamentos e apoio no desenvolver das pesquisas e pela amizade.

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, transmitindo conhecimento acadêmico, político, religioso, cultural e pessoal.

A todos, meus sinceros e gratos agradecimentos!

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	9
LISTA DE FIGURAS.....	10
RESUMO.....	12
ABSTRACT.....	13
1 INTRODUÇÃO	20
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
2.1 A CULTURA DO ARROZ (<i>Oryza sativa</i> L.).....	23
2.2 FISILOGIA DA PLANTA DE ARROZ E CARACTERÍSTICAS QUE AFETAM SEU DESENVOLVIMENTO	24
2.3 BRUSONE NO ARROZ	26
2.4 INFLUÊNCIA DA DEFICIÊNCIA HÍDRICA NA FISILOGIA DA PLANTA.....	28
2.5 RIZOBACTÉRIAS COM MÚLTIPLAS BIOATIVIDADES	31
2.6 MECANISMOS DE AÇÃO DAS RIZOBACTÉRIAS	34
2.6.1 Fixação biológica de nitrogênio atmosférico	34
2.6.2 Características bioquímicas.....	34
2.6.2.1 Produção de AIA	34
2.6.2.2 Solubilização de fósforo	35
2.6.2.3 Síntese de sideróforos.....	36
2.6.2.4 Enzima ACC deaminase.....	36
2.6.2.5 Formação de biofilme	37
2.6.3 Efeitos diretos.....	37
2.6.4 Efeitos indiretos	39
2.6.4.1 Indução de resistência.....	39
2.7 O Si NA MITIGAÇÃO DE DOENÇAS E DÉFICIT HÍDRICO.....	44
3 OBJETIVO GERAL	47
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	47
4 HIPÓTESES	48
5 MATERIAL E MÉTODOS	49
5.1 CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DAS RIZOBACTÉRIAS.....	49
5.1.1 Produção de enzimas extracelulares	49
5.1.1.1 Amilase	49
5.1.1.2 Celulase	50
5.1.1.3 Lipase	50
5.1.1.4 Pectinase	50
5.1.1.5 Protease.....	50
5.1.1.6 Quitinase.....	51
5.1.1.7 Solubilização de fosfato inorgânico	51
5.1.2 Produção de biofilme.....	51
5.1.3 Produção de AIA	52

5.1.4 Produção de sideróforos.....	53
5.1.5 Produção da enzima ACC deaminase.....	53
5.2 SELEÇÃO <i>IN VITRO</i> DE ISOLADOS RESISTENTES AS CONDIÇÕES DE DEFICIÊNCIA HÍDRICA INDUZIDA POR POLIETILENOGLICOL NA PRESENÇA DE ÁCIDO MONOSSILÍCICO (SiO ₂ .NH ₂ O).....	54
5.3 DETERMINAÇÃO DE CÉLULAS VIÁVEIS.....	54
5.4 GERMINAÇÃO <i>IN VITRO</i> DE PLANTAS DE ARROZ EM CONDIÇÕES DE DEFICIÊNCIA HÍDRICA INDUZIDA POR POLIETILENOGLICOL, NA PRESENÇA DE RIZOBACTÉRIAS E ÁCIDO MONOSSILÍCICO (SiO ₂ .NH ₂ O).....	55
5.5 ANTAGONISMO <i>IN VITRO</i> ENTRE <i>M. oryzae</i> E AS RIZOBACTÉRIAS RESISTENTES AO POTENCIAL OSMÓTICO	56
5.6 ENSAIO EM CASA DE VEGETAÇÃO	56
5.6.1 Inoculação com <i>M. oryzae</i>	58
5.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	58
 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
6.1 PRODUÇÃO DE ENZIMAS EXTRACELULARES.....	60
6.2 SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO INORGÂNICO.....	61
6.3 PRODUÇÃO DE BIOFILME	64
6.4 PRODUÇÃO DE AIA.....	66
6.5 PRODUÇÃO DE SIDERÓFOROS	67
6.6 PRODUÇÃO DA ENZIMA ACC DEAMINASE	69
6.7 SELEÇÃO <i>IN VITRO</i> DE ISOLADOS RESISTENTES AS CONDIÇÕES DE DEFICIÊNCIA HÍDRICA INDUZIDA POR POLIETILENOGLICOL NA PRESENÇA DE ÁCIDO MONOSSILÍCICO (SiO ₂ .NH ₂ O).....	70
6.8 DETERMINAÇÃO DE CÉLULAS VIÁVEIS.....	75
6.9 GERMINAÇÃO <i>IN VITRO</i> DE PLANTAS DE ARROZ EM CONDIÇÕES DE DEFICIÊNCIA HÍDRICA INDUZIDA POR POLIETILENOGLICOL, NA PRESENÇA DE RIZOBACTÉRIAS E ÁCIDO MONOSSILÍCICO (SiO ₂ .NH ₂ O).....	78
6.10 ANTAGONISMO <i>IN VITRO</i> ENTRE <i>M. oryzae</i> E AS RIZOBACTÉRIAS RESISTENTES AO POTENCIAL OSMÓTICO	85
6.11 ENSAIO EM CASA DE VEGETAÇÃO	87
 7 CONCLUSÕES.....	94
 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	95

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Produção de enzimas extracelulares por nove isolados bacterianos, em condições de laboratório.....	60
Tabela 2.	Diâmetro do halo, da colônia e de índice de solubilização de fosfato inorgânico por nove rizobactérias cultivadas em meio NBRIP suplementado com fosfato de cálcio, em condições de laboratório.....	63
Tabela 3.	Produção qualitativa e quantitativa de biofilme por nove isolados de rizobactérias, em condições de laboratório.....	65
Tabela 4.	Taxas de crescimento bacteriano às 48 horas na presença de ácido monossilícico e polietilenoglicol (PEG-6000).....	73
Tabela 5.	Comprimento e área das principais classes de diâmetros de raízes de plântulas de arroz tratadas com rizobactérias e em meio com ácido monossilícico e diferentes potenciais osmóticos induzidos por diferentes doses de polietilenoglicol.....	79
Tabela 6.	Antagonismo <i>in vitro</i> de rizobactérias com <i>Magnaporthe oryzae</i> sob diferentes condições de pressão osmótica simulada por diferentes concentrações de polietilenoglicol e na presença de ácido monossilícico.	86

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Ciclo de desenvolvimento de <i>Magnaporthe oryzae</i> na folha de arroz (Ramos, 2009).....	27
Figura 2.	Modelo de resistência sistêmica em plantas e componentes envolvidos na geração de espécies reativas de oxigênio e ativação de genes e seus efeitos sobre o patógeno ou sobre a ativação de mecanismos de defesa das plantas (Fonte: o autor).....	43
Figura 3.	Solubilização de fosfato inorgânico por rizobactérias cultivadas em meio National Botanical Research Institute Phosphate (NBRIP) suplementado com fosfato de cálcio. (A) <i>Burkholderia pyrrocinia</i> (BRM 32113); (B) <i>Serratia marcescens</i> (BRM 63523), (C) <i>Serratia</i> sp. (BRM 32114); (D) <i>Serratia</i> sp. (BRM 63522); (E) <i>Serratia marcescens</i> (BRM 63521); (F) <i>Bacillus thuringiensis</i> (BRM 32110); (G) <i>Pseudomonas</i> sp. (BRM 32112); (H) <i>Pseudomonas fluorescens</i> (BRM 32111); (I) <i>Bacillus cereus</i> (BRM 32109).....	62
Figura 4.	Produção de biofilme por rizobactérias em meio ágar vermelho congo. Colônias rugosas e pretas quando acompanhadas pela mudança da coloração do meio adjacente para preto são consideradas produtoras de biofilme. (A) Controle; (B) <i>Pseudomonas</i> sp. (BRM 32112); (C) <i>Bacillus thuringiensis</i> (BRM 32110); (D) <i>Bacillus cereus</i> (BRM 32109); (E) <i>Serratia</i> sp. (BRM 32114); (F) <i>Serratia marcescens</i> (BRM 63521); (G) <i>Serratia</i> sp. (BRM 63522); (H) <i>Serratia marcescens</i> (BRM 63523); (I) <i>Burkholderia pyrrocinia</i> (BRM 32113) e (J) <i>Pseudomonas fluorescens</i> (BRM 32111).....	64
Figura 5.	Produção de ácido indolacético (AIA) por rizobactérias. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). (1) <i>Pseudomonas fluorescens</i> (BRM 32111); (2) <i>Serratia</i> sp. (BRM 32114); (3) <i>Burkholderia pyrrocinia</i> (BRM 32113)); (4) <i>Bacillus thuringiensis</i> (BRM110); (5) <i>Bacillus cereus</i> (BRM 32109); (6) <i>Pseudomonas</i> sp. (BRM 32112); (7) <i>Serratia marcescens</i> (BRM 63521); (8) <i>Serratia marcescens</i> (BRM 63523); (9) <i>Serratia</i> sp. (BRM 63522).....	66
Figura 6.	Produção de sideróforos por rizobactérias em porcentagem de unidades de sideróforos (SU%), obtido por $SU\% = [(Absorbância\ do\ controle - Absorbância\ da\ amostra) / Absorbância\ do\ controle] \times 100$. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). (1) <i>Pseudomonas</i> sp. (BRM 32112); (2) <i>Pseudomonas fluorescens</i> (BRM 32111); (3) <i>Serratia marcescens</i> (BRM 63521); (4) <i>Serratia marcescens</i> (BRM 63523); (5) <i>Bacillus thuringiensis</i> (BRM 32110); (6) <i>Serratia</i> sp. (BRM 63522); (7)	68

Serratia sp. (BRM 32114); (8) *Burkholderia pyrrocinia* (BRM113); (9) *Bacillus cereus* (BRM 32109).....

Figura 7. Produção da enzima ACC deaminase por rizobactérias. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). (1) *Pseudomonas fluorescens* (BRM 32111); (2) *Serratia* sp. (BRM 63522); (3) *Serratia marcescens* (BRM 63521); (4) *Burkholderia pyrrocinia* (BRM 32113); (5) *Serratia marcescens* (BRM 63523); (6) *Serratia* sp. (BRM 32114); (7) *Bacillus thuringiensis* (BRM 32110); (8) *Bacillus cereus* (BRM 32109) e (9) *Pseudomonas* sp. (BRM 32 112)..... 69

Figura 8. Curvas de crescimento bacteriano em meio de cultura contendo polietilenoglicol (PEG-6000) e na presença de ácido monossilícico ($0,5 \text{ g L}^{-1}$). (A) *Bacillus thuringiensis* (BRM 32 110); (B) *Serratia marcescens* (BRM 63523); (C) *Pseudomonas fluorescens* (BRM 32111); (D) *Serratia marcescens* (BRM 63521); (E) *Serratia* sp. (BRM 63522); (F) *Serratia* sp (BRM 32114); (G) *Bacillus cereus* (BRM 32109); (H) *Pseudomonas* sp. (BRM 32112) e (I) *Burkholderia pyrrocinia* (BRM 32113)..... 71

Figura 9. Densidade óptica de isolados bacterianos, às 48 horas, em meio de cultura contendo diferentes doses de PEG-6000 e ácido monossilícico ($0,5 \text{ g L}^{-1}$). (A) *Bacillus cereus* (BRM 32109), *Bacillus thuringiensis* (BRM 32110) e *Burkholderia pyrrocinia* (BRM 32 113); (B) *Pseudomonas fluorescens* (BRM 32111), *Pseudomonas* sp. (BRM 32112) e, e *Serratia* sp. (BRM 32114); (C) *Serratia marcescens* (BRM 63523), *Serratia marcescens* (BRM 63521) e *Serratia marcescens* *Serratia* sp. (BRM 63522)..... 74

Figura 10. Log 10 do número de células viáveis dos isolados bacterianos em meio de cultura contendo diferentes doses de PEG-6000 e ácido monossilícico ($0,5 \text{ g L}^{-1}$). (A) *Serratia marcescens* (BRM 63523); (B) *Pseudomonas fluorescens* (BRM 32111) e (C) *Bacillus thuringiensis* (BRM 32110)..... 77

Figura 11. Comprimento total de raízes (A) e área de superfície total de raízes (B) de plântulas de arroz aos 15 dias, germinadas *in vitro*, em diferentes doses de PEG-6000, na presença de ácido monossilícico ($0,5 \text{ g L}^{-1}$) e inoculadas com as rizobactérias *Pseudomonas fluorescens* (BRM 32111), *Bacillus thuringiensis* (BRM 32110) e *Serratia marcescens* (BRM 63523)..... 82

Figura 12. Comprimento de raízes muito finas (A) e área de superfície de raízes muito finas (B) de plântulas de arroz aos 15 dias, germinadas *in vitro*, em diferentes doses de PEG-6000, na presença de ácido monossilícico ($0,5 \text{ g L}^{-1}$) e inoculadas com as rizobactérias *Pseudomonas fluorescens* (BRM 32111), *Bacillus thuringiensis* (BRM 32110) e *Serratia marcescens* (BRM 63523)..... 84

Figura 13.	Antagonismo entre isolados de rizobactérias e <i>Magnaporthe oryzae</i> sob diferentes potenciais osmóticos induzido por polietilenoglicol (PEG), na presença do ácido monossilícico das rizobactérias <i>Bacillus thuringiensis</i> (BRM 32110), <i>Pseudomonas fluorescens</i> (BRM 32111) e <i>Serratia marcescens</i> (BRM 63523).....	87
Figura 14.	Trocas gasosas foliares no quarto dia da imposição do déficit hídrico em plantas de arroz de terras altas. (A) taxa de fotossíntese (a); (E) taxa de transpiração (b); (Ci) carbono interno (c); (gs) condutância estomática (d); (A/E) eficiência do uso da água (e); (A/Ci) eficiência de carboxilação da rubisco (f). Tratamentos: (1) Controle; (2) adubação com silicato de cálcio e magnésio (SiCaMg); (3) inoculação com <i>Pseudomonas fluorescens</i> (BRM 32111); (4) adubação com SiCaMg + inoculação com BRM 32111. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras minúsculas comparam os tratamentos dentro de uma mesma condição. Letras maiúsculas comparam os mesmos tratamentos nas duas condições hídricas.....	88
Figura 15.	Plantas de arroz de terras altas submetidas a quatro dias de déficit hídrico e inoculadas com <i>Pseudomonas fluorescens</i> (BRM 32111) e silicato de cálcio e magnésio (SiCaMg).....	89
Figura 16.	Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) da brusone foliar em plantas de arroz de terras altas. Tratamentos: (1) Controle; (2) inoculação com <i>Pseudomonas fluorescens</i> (BRM 32111); (3) adubação com silicato de cálcio e magnésio (SiCaMg); (4) adubação com SiCaMg + inoculação com BRM 32111. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras minúsculas comparam os tratamentos dentro de uma mesma condição. Letras maiúsculas comparam os mesmos tratamentos nas duas condições hídricas.....	92
Figura 17.	Severidade da brusone foliar em plantas de arroz de terras altas em duas condições hídricas (irrigado e déficit hídrico), inoculadas com suspensão de conídios de <i>Magnaporthe oryzae</i> (3×10^5 con. mL ⁻¹). Tratamento controle (a); inoculação com <i>Pseudomonas fluorescens</i> (BRM 32111) (b); adubação com silicato de cálcio e magnésio (SiCaMg) (c); adubação com SiCaMg + inoculação com BRM 32111 (d).....	92

RESUMO

FARIA, D. R. **Rizobactérias e silício na intensificação da mitigação do arroz de terras altas ao déficit hídrico e à brusone.** 2021. 117 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Fitossanidade) - Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2021¹.

O arroz (*Oryza sativa* L.) é o único cereal que alimenta 2,4 bilhões de pessoas no mundo por dia, aproximadamente. A produtividade do sistema de cultivo em terras altas é desafiada pela ocorrência da brusone (*Magnaporthe oryzae*) e pelo déficit hídrico. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCPs), assim como o silício, por apresentarem múltiplas bioatividade, mostram potencial de mitigar o déficit hídrico e os efeitos da brusone. Objetivou-se foi realizar a caracterizar nove isolados de rizobactérias, selecionar os mais resistentes à altos potenciais osmóticos combinados com ácido monossilícico, avaliar o efeito das melhores combinações no desenvolvimento das raízes das plântulas de arroz *in vitro* e na mitigação do déficit hídrico e da brusone foliar em plantas de arroz, *in vivo*. Foram realizados cinco ensaios sequenciais. 1) Nove isolados de rizobactérias (*Burkholderia pyrrocinia* (BRM 32113) dois isolados de *Serratia* sp. (BRM 32114 e BRM 63522) e dois de *Serratia marcescens* (BRM 63521 e BRM 63523); *Bacillus thuringiensis* (BRM 32110), *Bacillus cereus* (BRM 32109), *Pseudomonas fluorescens* (BRM 32111) e *Pseudomonas* sp. (BRM 32112)) foram caracterizados quanto a produção de enzimas extracelulares, sideróforos, biofilme, enzima ACC deaminase, ácido indolacético (AIA) e fosfatase, em delineamento inteiramente casualizado, e três repetições. 2) Os nove isolados de RPCPs foram crescidos em meio de cultura líquido suplementado com sete diferentes concentrações de PEG-6000 combinados com ácido monossilícico, em delineamento inteiramente casualizado, e doze repetições. Determinou-se a taxa de crescimento e quantificou-se as células viáveis. 3) Os melhores isolados foram utilizados para tratar as sementes da cultivar BRS Esmeralda de arroz de terras altas. As sementes foram semeadas em meio de cultura contendo as sete concentrações de PEG-6000 combinados com ácido monossilícico, em delineamento inteiramente casualizado, com seis repetições. Avaliou-se o desenvolvimento radicular das plântulas com o auxílio de um scanner e o programa WinRhizo Pro 2012b. 4) Os melhores isolados foram testados como antagonistas a *M. oryzae*, em placas de Petri contendo meio de cultura enriquecido com as sete diferentes concentrações de PEG-6000 combinados com ácido monossilícico, em delineamento inteiramente casualizado, em três repetições. Determinou-se o diâmetro da colônia de cada tratamento. 5) Em condições de casa de vegetação, sementes da cultivar BRS Esmeralda, tratadas com o isolado BRM 32111, foram semeadas em bandejas plásticas contendo 3 kg de solo adubado com silicato de cálcio e magnésio (9 g bandeja⁻¹). Aos 15 dias após o plantio, as folhas foram pulverizadas com o mesmo isolado e aos 21 dias foram submetidos a quatro dias de déficit hídrico. Avaliou-se as trocas gasosas ao final deste período. Aos 26 dias, as plantas foram inoculadas com uma suspensão de conídios de *M. oryzae*. Avaliou-se o progresso da doença durante sete dias. Os isolados BRM 32110, BRM 3211 e BRM 63523 foram os mais resistentes a alta pressão osmótica, além de serem produtores de enzimas extracelulares, sideróforos, biofilme, enzima ACC deaminase, AIA e solubilizadores de fosfato. E o isolado BRM 32111 foi o que mais inibiu (78.36%) o crescimento micelial de *M. oryzae* na presença de ácido monossilícico. No desenvolvimento das plântulas *in vitro*, os mesmos três isolados combinados com ácido monossilícico, foram promissores sob alta pressão osmótica, aumentou o comprimento e área de raízes e ainda mais de pelos radiculares decorrente da expansão de raízes muito finas, mitigando os efeitos de déficit hídrico nas plântulas. Comparando o controle com o maior potencial osmótico, dentro dos parâmetros

comprimento e área de superfície total de raízes (CTR e AST), o isolado BRM 32111 apresentou incremento de 93,26 e 77,32 %, o isolado BRM 32110 de 203,65 e 110,24 % e o isolado BRM 63523 de 139,67 e 170,13 %. No parâmetro comprimento e área de raízes muito finas (CRMF e ARMF) esse incremento nos tratamentos com pressões osmóticas foram de até 109,29 e 194,00 %, (BRM 32111), 44,06 e 90,49 % (BRM 32110) e 34,31 e 36,17 % (BRM 63525). Em casa de vegetação, BRM 32111 em combinação com silicato de cálcio e magnésio, em todos os tratamentos, observou-se aumento nas taxas de transpiração e fotossintética, na eficiência no uso da água, na condutância estomática, na concentração interna de carbono e na eficiência de carboxilação, além da redução da severidade de brusone foliar. Os nove isolados em sinergismo com silício apresentaram potencial para mitigação de danos causados por déficit hídrico e supressão da brusone e entre eles BRM 32111 destacou-se na mitigação dos danos em plantas de arroz de terras altas em casa de vegetação, *in vitro* e *in vivo*.

Palavras-chave: alongamento radicular, antagonismo, bioatividade, fotossíntese, potencial osmótico.

¹ Orientadora: Prof^a. Dr^a. Marta Cristina Corsi de Filippi
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Anna Cristina Lanna

ABSTRACT

FARIA, D. R. **Rhizobacterias and silicon in the intensification of mitigation of upland rice to water deficit and blast.** 2021. 117 f. Dissertation (Master in Agronomy) – School of Agronomy, Federal University of Goiás, Goiânia, 2021

Rice (*Oryza sativa* L.) is the only cereal that feeds approximately 2,4 billion people in the world per day. The productivity of the highland farming system is challenged by the occurrence of blast (*Magnaporthe oryzae*) and water deficit. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPRs), as well as silicon, as they have multiple bioactivity, have the potential to mitigate water deficit and the effects of blast. The objective was to characterize nine rhizobacteria isolates, select the ones that are most resistant to high osmotic potentials combined with monosilicic acid, evaluate the effect of the best combinations in the development of rice seedling roots *in vitro* and in the mitigation of water deficit and blast leaf in rice plants, *in vivo*. Five sequential tests were performed. 1) Nine rhizobacteria isolates (*Burkholderia pyrrocinia* (BRM 32113) two *Serratia* sp. isolates (BRM 32114 and BRM 63522) and two *Serratia marcescens* (BRM 63521 and BRM 63523); *Bacillus thuringiensis* (BRM 32110), *Bacillus cereus* (BRM 32109), *Pseudomonas fluorescens* (BRM 32111) and *Pseudomonas* sp. (BRM 32112)) were characterized for the production of extracellular enzymes, siderophores, biofilm, ACC deaminase enzyme, indolacetic acid (AIA) and phosphatase, in a completely randomized design, and three repetitions. 2) The nine isolated PGPRs were grown in liquid culture medium supplemented with seven different concentrations of PEG-6000 combined with monosilicic acid, in a completely randomized design, and twelve replications. The growth rate was determined and viable cells were quantified. 3) The best isolates were used to treat the seeds of the cultivar BRS Esmeralda of upland rice. The seeds were sown in culture medium containing the seven concentrations of PEG-6000 combined with monosilicic acid, in a completely randomized design, with six replications. The root development of seedlings was evaluated with the aid of a scanner and the program *WinRhizo Pro* 2012b. 4) The best isolates were tested as antagonists to *M. oryzae*, in Petri dishes containing culture medium enriched with seven different concentrations of PEG-6000 combined with monosilicic acid, in a completely randomized design, in three replications. The colony diameter of each treatment was determined. 5) In greenhouse conditions, seeds of the cultivar BRS Esmeralda, treated with the isolate BRM 32111, were sown in plastic trays containing 3 kg of soil fertilized with calcium and magnesium silicate (9 g tray⁻¹). At 15 days after planting, the leaves were sprayed with the same isolate and at 21 days they were subjected to four days of water deficit. Gas exchanges were evaluated at the end of this period. At 26 days, the plants were inoculated with a conidia suspension of *M. oryzae*. The progress of the disease was assessed for seven days. The isolates BRM 32110, BRM 32111 and BRM 63523 were the most resistant to high osmotic pressure, in addition to being producers of extracellular enzymes, siderophores, biofilm, ACC deaminase enzyme, AIA and phosphate solubilizers. And the isolate BRM 32111 was the one that most inhibited (78,36%) the mycelial growth of *M. oryzae* in the presence of monosilicic acid. In the development of seedlings *in vitro*, the same three isolates combined with monosilicic acid, were promising under high osmotic pressure, increased the length and area of roots and even more of root hair due to the expansion of very thin roots, mitigating the effects of water deficit in seedlings. Comparing the control with the highest osmotic potential, within the parameters length and total root surface area, the isolate BRM 32111 showed an increase of 93,26 and 77,32%, the isolate BRM 32110 of 203,65 and 110,24% and the isolate BRM 63523 of 139,67 and 170,13%. In the parameter

length and area of very thin roots, this increase in treatments with osmotic pressures was up to 109,29 and 194,00%, (BRM 32111), 44,06 and 90,49% (BRM 32110) and 34,31 and 36,17% (BRM 63525). In a greenhouse, BRM 32111 in combination with calcium and magnesium silicate, in all treatments, an increase in transpiration and photosynthetic rates, water use efficiency, stomatal conductance, internal carbon concentration and carboxylation efficiency, in addition to reducing leaf blast severity. The nine isolates in synergism with silicon showed potential for mitigating damage caused by water deficit and blast suppression and among them BRM 32111 stood out in mitigating damage to upland rice plants in greenhouse, *in vitro* and *in vivo*.

Keywords: antagonismo, biotivity, photosynthesis, osmotic potential, root stretching,

¹ Advisor: Prof^a. Dr^a. Marta Cristina Corsi de Filippi
Co- advisor: Prof^a. Dr^a. Anna Cristina Lanna

1 INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é um dos cereais com maior potencial para suprimento da alimentação humana e erradicação da fome, constituindo a base da alimentação diária de cerca de 2,4 bilhões de pessoas no mundo, e prevê-se que este número dobre até 2050 (Kumar et al., 2017; FAO, 2017). É o terceiro cereal mais cultivado no mundo, produzindo, em 2020, cerca de 495,23 milhões de toneladas, sendo o Brasil, o maior produtor fora do continente asiático, produzindo 12,4 milhões de toneladas na safra de 2019/2020 (CONAB, 2020).

No Brasil, o arroz é produzido em dois sistemas distintos, irrigado, responsável por 82% da produção nacional, alcançando produtividade de até 8,3 ton ha⁻¹, e de sequeiro, também conhecido como cultivo de terras altas, entretanto, com produtividade média de 2,3 ton ha⁻¹ (Araújo et al., 2016; CONAB, 2020). A área disponível para aumento da produção no sistema de cultivo irrigado é limitada, principalmente em função do alto impacto no meio ambiente e problemas sociais, como a competição pela demanda de água pelas indústrias e uso doméstico. De acordo com dados da FAO (FAO, 2020), em 2017, a produção de arroz irrigado consumiu globalmente 3 trilhões de m³ de água, com Brasil responsável por aproximadamente 22 bilhões do total consumido (CONAB, 2019). Como parte dessa água não retorna ao seu curso original, a disponibilidade é reduzida (Back & Just, 2018). Em contrapartida, o sistema de arroz de terras altas destaca-se como uma alternativa para a agricultura sustentável por exercer menor efeito negativo na camada de ozônio e consumir apenas a água das chuvas, além de ter menor custo de produção, capacidade para expansão de área de cultivo e não exigir maquinários agrícolas complexos.

A produtividade do sistema de cultivo de arroz de terras altas é afetada por fatores bióticos e abióticos, como a ocorrência de doenças e de períodos estiagem comuns na região Centro Oeste do Brasil, denominados “veranicos”. Ambos estresses desencadeiam alterações fisiológicas e bioquímicas nas plantas, afetando o crescimento (Marschner, 1995). A brusone (*Magnaporthe oryzae*), considerada a principal doença da cultura (Habib et al., 2012), é capaz de reduzir em até 100 % a produtividade e a qualidade de grãos, bem como a

qualidade fisiológica e sanitária da semente (Praphu & Filippi, 2006). Aliado a isso, o suprimento insuficiente e prolongado de água, resulta em déficit hídrico, afetando negativamente a produção (Enebe & Babalola, 2018), podendo reduzir a produtividade da cultura do arroz na ordem de 60 e 87% (Stone et al., 1986). Plantas de arroz quando passam déficit hídrico e posteriormente são submetidas a alta pressão de inóculo de *M. oryzae*, se tornam mais vulneráveis à incidência da brusone. Por outro lado, o uso de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas combinada com adubação com silício (Si) tem se mostrado eficaz no controle de doenças bem como no combate a mudanças induzidas pelo clima que limitam o desempenho geral das plantas sob estresse (Alori et al., 2017; Staudinger et al., 2016; Cortês et al., 2015; Chen et al., 2018).

As rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCPs) são microrganismos de vida livre, colonizadoras da rizosfera atuando direta e indiretamente no desenvolvimento e bem-estar das plantas (Babalola, 2010). Durante a interação com as plantas, desempenham múltiplas bioatividades, auxiliando na promoção de crescimento vegetal, controle de fitopatógenos e mitigação de efeitos abióticos, através da síntese de hormônios vegetais, solubilização de nutrientes na região da rizosfera e produção de enzimas extracelulares (Glick et al., 1995).

O Si é considerado o segundo elemento químico em abundância na crosta terrestre, sendo o óxido de Si (SiO_2) o mineral mais abundante nos solos. O efeito da adubação com Si pode ser observada diretamente no crescimento e desenvolvimento de plantas de arroz de terras altas (Gomes et al. 2011), como indiretamente potencializando a resistência da planta contra ataques de patógenos (Detmann et al., 2012) e a resiliência ao déficit hídrico (Shi et al., 2016). Estudos realizados por Cortês et al. (2015) e Sousa et al. (2017) demonstraram que a combinação de rizobactérias com a adubação de plantas de arroz de terras altas com de silicato de cálcio e magnésio (SiCaMg) resultou em um sinergismo que protegeu a planta contra o desenvolvimento da brusone, além de aumentar a biomassa, taxa fotossintética, eficiência do uso da água, açúcar solúvel total e pigmentos cloroplastídicos.

Investigar a eficiência da combinação entre RPCPs e SiCaMg como mitigadores do déficit hídrico e supressores da brusone foliar exige estudos preliminares como a seleção de isolados de rizobactérias resistentes ao potencial osmótico, observar os efeitos desta combinação no desenvolvimento radicular, nas trocas gasosas e na supressão da brusone. Diante disso, este trabalho teve como objetivo selecionar isolados de rizobactérias, que

quando combinados com o Si, apresentasse resistência à pressão osmótica e fossem capazes de promover o desenvolvimento das plantas e mitigar efeitos do déficit hídrico e supressão da brusone foliar em plantas de arroz de terras altas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

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

O arroz (*Oryza sativa*) é uma espécie hidrófila originada da Ásia Meridional, fazendo parte da alimentação básica de mais de três milhões de pessoas, estando entre as culturas mais plantadas e consumidas no mundo (Sosbai, 2012). No Brasil foi introduzido por portugueses por volta do século XVI objetivando suprir a alimentação de escravos e colombos nas grandes fazendas, passando a ser consumida como alimento básico da dieta com o decorrer dos anos. Até o final do século XIX os cultivos eram restritos exclusivamente de lavouras de sequeiro, surgindo apenas na última década do século as primeiras lavouras de arroz irrigado, no Sul do país (Azambuja et al., 2002).

O arroz é o terceiro cereal mais cultivado no mundo, estando atrás apenas do trigo (*Triticum* spp.) e milho (*Zea mays*) (Paraginski et al., 2014), atingindo a marca de 495,23 milhões de toneladas produzidas em 2020 (CONAB, 2020). Os maiores produtores de arroz encontram-se no continente asiático, tendo a China a maior produção mundial, produzindo no ano de 2020 cerca de 193 milhões de toneladas, seguido da Índia e Indonésia (FAO, 2020). Excluídos países do continente asiático, o Brasil é o principal produtor, ocupando a nona colocação no ranking mundial, produzindo na safra de 2019/2020 aproximados 12,4 milhões de toneladas, participando de 82 % da produção do Mercosul, tendo o estado do Rio Grande do Sul a maior produção, correspondente a cerca de 70 % do total produzido (CONAB, 2020).

Atualmente o arroz é a cultura com maior potencial de aumento de produção e responde pelo suprimento de 20% das calorias e 15% das proteínas consumidas na alimentação (Sosbai, 2012). Possui alto potencial energético, constituído de nutrientes essenciais à nutrição, com alta concentração de amido, fornecendo proteínas, vitaminas e minerais. Seu baixo teor de lipídeos se destaca pela sua fácil digestão, e por ser um produto de origem vegetal, isento de colesterol, possuindo um baixo teor de gordura (Kumar et al., 2017). O consumo médio no mundo é de 57 kg pessoa⁻¹ ano⁻¹ (Nascente et al., 2019), com Brasil, consumindo em média 45 kg de arroz pessoa⁻¹ ano⁻¹ (Embrapa, 2020).

O sistema de cultivo de arroz no Brasil é dividido em irrigado, responsável pelas maiores produções, e sequeiro, este comumente chamado de “cultivo em terras altas” (Araújo et al., 2016) possuindo uma área plantada de aproximadamente 535,9 mil hectares, em contraste a 1.430,8 mil hectares de área plantada advindo do sistema de cultivo irrigado (CONAB, 2018). O sistema irrigado é o mais produtivo por possuir maior controle das condições hídricas além de possuir tecnologias e pesquisas mais avançadas, com cultivares mais promissoras, respondendo por cerca de 70 % da produção brasileira (CONAB, 2020). Já o cultivo de arroz em terras altas é dependente de condições hídricas naturais (chuvas) para seu desenvolvimento e aliado a concorrência com outras grandes culturas, como soja e milho, e a baixa resposta das plantas a adubação, faz com que a área de lavouras com arroz de terras altas venha caindo no decorrer dos últimos anos (CONAB, 2020).

2.2 FISIOLOGIA DA PLANTA DE ARROZ E CARACTERÍSTICAS QUE AFETAM SEU DESENVOLVIMENTO

O arroz é uma planta herbácea de ciclo anual, classificada no grupo de plantas com sistema fotossintético C3, da classe Liliopsida (monocotilédone), ordem Poales, família Poacea e gênero *Oryza* (Sosbai, 2012). A presença de aerênquima no colmo e nas raízes confere a planta adaptação ao ambiente aquático, que possibilita a passagem de oxigênio do ar para a camada da rizosfera. Por ser uma planta com sistema fotossintético C3, com formação do ácido 3-fosfoglicérico após a fixação de moléculas de CO₂, atinge taxas máximas de fotossíntese em intensidade de radiação solar relativamente baixas, o que lhes confere menor adaptabilidade em ambientes com restrições de água. Diferentemente, as plantas C4, que recebem esse nome por possuírem quatro moléculas de carbonos no ácido oxalacético formado após a fixação do CO₂, possuem grande afinidade por essa molécula e só atingem as taxas máximas de fotossíntese sob elevadas intensidades de radiação solar, conseguindo fixar mais CO₂ por unidade de água perdida, perdendo menor quantidade de água durante a fixação no processo de fotossíntese e assim, conferindo maior adaptabilidade a ambientes áridos (Pimentel, 1998).

O ciclo de desenvolvimento da planta de arroz, da emergência até a maturação, pode ser dividido em duas fases, vegetativa e reprodutiva (Streck et al., 2003; Counce et al., 2000) e, em alguns casos, em três fases: a fase vegetativa que vai da emergência até a diferenciação da panícula; a fase reprodutiva que vai da diferenciação da panícula até a antese; e a fase de enchimento de grãos que vai da antese até a maturação fisiológica (Gao

et al., 1992; Infeld et al., 1998). Na divisão proposta por Streck et al. (2003), a fase vegetativa inicia na emergência e se estende até o aparecimento da inflorescência ou antese e a fase reprodutiva têm início no final da fase vegetativa, findado na maturação fisiológica. Esta divisão baseia-se no aparecimento de órgãos da planta que são visíveis a olho nu, apresentando assim uma maior simplicidade e fácil identificação do estágio fenológico a campo, não tendo a necessidade de amostragem destrutiva para identificação. Contudo, não é possível identificar a diferenciação da panícula, estágio de importância no manejo da cultura por ser momento crucial para a realização da segunda parcela nitrogenada de cobertura. Já a divisão proposta por Counce et al. (2000), requer amostras destrutivas para identificação do estágio fenológico da planta, porém, é possível identificar a diferenciação da panícula. Dentro dessa divisão, a fase vegetativa vai da emergência até o aparecimento do colar da folha e a fase reprodutiva inicia na diferenciação da estrutura reprodutiva com término na maturação fisiológica.

Vários fatores limitam o desenvolvimento das plantas, em maior ou menor grau. Dentre eles encontram-se os estresses ambientais, divididos em bióticos e abióticos. As mudanças climáticas ocasionada, em parte, pelas intensas atividades humanas, acarreta alterações no ambiente que confere condições ambientais adversas prejudiciais à agricultura, onde são englobados os estresses abióticos, como seca, alta salinidade e contaminação por metais pesados (Ahmad et al., 2016).

O déficit hídrico, definido por Jaleel et al., (2009) como uma perda moderada de água no solo e pela planta e ocasionado por falta de pluviosidade natural (chuvas), leva agricultores a intensificar a irrigação convencional em lavouras, potencializando o problema de salinização dos solos pelo uso de água que apresentam elevada concentração de sais dissolvidos. A alta salinidade acarreta efeito osmótico e até tóxico, impedindo a absorção de água pelas raízes, restringindo a abertura estomática e assimilação fotossintética de CO₂, interferindo no desenvolvimento da planta (Silveira et al., 2010). Além disso, a contaminação ambiental por metais pesados também é um grande causador de estresse as plantas. Os metais pesados, como ferro (Fe), zinco (Zn) e cádmio (Cd) retidos no solo são provenientes do uso de fertilizantes inorgânicos e orgânicos, atividades de mineração e fundição, despejos de resíduos industriais, queima de carvão mineral e petróleo, e corrosão de resíduos comerciais (Alves et al., 2016) e são altamente tóxicos as plantas, ocasionando declínio na produtividade, e conforme o seu o nível nas células vegetais, podem levar a

inibição e também o aumento na atividade enzimática, além das graves ameaças para saúde humana e animal (Hmid, 2015; Venegas, 2015).

Os estresses bióticos são causados por organismos vivos, como plantas invasoras, insetos pragas e microrganismos fitopatogênicos. Plantas invasoras, são aquelas que se desenvolvem onde não são desejadas e podem limitar o desenvolvimento da planta cultivada através da competição por recursos vitais, alelopatia e parasitismo. Já os insetos pragas e microrganismos fitopatogênicos, pela ação de fungos, bactérias, vírus e nematoides, causam distúrbios fisiológicos prejudicando a produção (Larcher, 2006). O complexo de doenças que acometem a cultura do arroz é responsável pela redução em sua produtividade e qualidade de grãos, bem como a qualidade fisiológica e sanitária da semente. Das doenças de importância, destacam-se Brusone (*M. oryzae*), mancha parda (*Bipolaris oryzae*), escaldadura das folhas (*Microdochium oryzae*) e mancha de grãos (*Bipolaris oryzae*, *Alternaria padwickii*, *Phoma sorghina*, *Monographella albescens*, *Sarocladium oryzae*, *Curvularia* sp., *Fusarium* spp. *Nigrospora* spp).

2.3 BRUSONE NO ARROZ

A brusone do arroz, causada pelo fungo hemibiotrófico *M. oryzae*, está presente em todos os locais produtores de arroz, constituindo a doença mais devastadora, resultando em perdas de até 100 % (Skamnioti & Gurr, 2009). O fungo pertence ao filo Ascomycotae, classe Sordariomycetes, ordem Magnaporthales e família *Magnaporthaceae* (Maciel, 2011). Os primeiros relatos da doença datam de 1600 e foram feitas na China. No Brasil a doença foi registrada pela primeira vez em 1912 nos municípios de Santos e Iguapé no estado de São Paulo. Sua distribuição geográfica é ampla, estando presente em todas as áreas produtoras do cereal com ocorrência relatada em mais de 70 países (Praphu & Filippi, 2006).

A brusone no arroz causa lesões que podem ser encontradas em todas as partes da planta, incluindo folhas, bainhas das folhas, pescoço, panículas, pedicelos, sementes e até mesmo raízes. Nas folhas os sintomas iniciam-se 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. As lesões crescem no sentido das nervuras, podendo ser circundadas por alo amarelado. Quando o ataque é severo e ocorre nos estádios iniciais de desenvolvimento da planta, as lesões coalescem, tomando grandes áreas do limbo foliar, levando até, em casos mais severos, a morte da planta (Bedendo e Prabhu, 2005).

M. oryzae pode sobreviver em hospedeiros secundários, como plantas infestantes e nativas, bem como em outras culturas, sementes contaminadas, além de restos culturais das plantas cultivadas onde consegue sobreviver de forma saprofítica por longos períodos, sendo considerado uma importante fonte de inóculo primário (Dias Martins et al., 2004). Ao entrar em contato com as plantas de arroz, os conídios iniciam o processo de infecção, onde se aderem ao tecido vegetal por uma mucilagem produzida em sua extremidade, ocorrendo então a germinação da célula basal ou apical, formação de um tubo germinativo e finalmente o apressório. Na base do apressório é formado um fino *peg* de penetração que, auxiliado por enzimas extracelulares, perfura a cutícula do hospedeiro e invade a epiderme das plantas de arroz (Dean et al., 2012). A colonização acontece com a diferenciação das hifas de infecção originando hifas invasivas secundárias que adentram ao tecido vegetal, colonizando outras células e exteriorizando sintomas após 72 horas (Figura 1) (Prabhu & Filippi, 2006). Do tecido colonizado são produzidos esporos assexuais que darão início a um novo ciclo. O inóculo primário pode ser disperso pelo vento, água ou sementes infectadas (Ebbole, 2007).

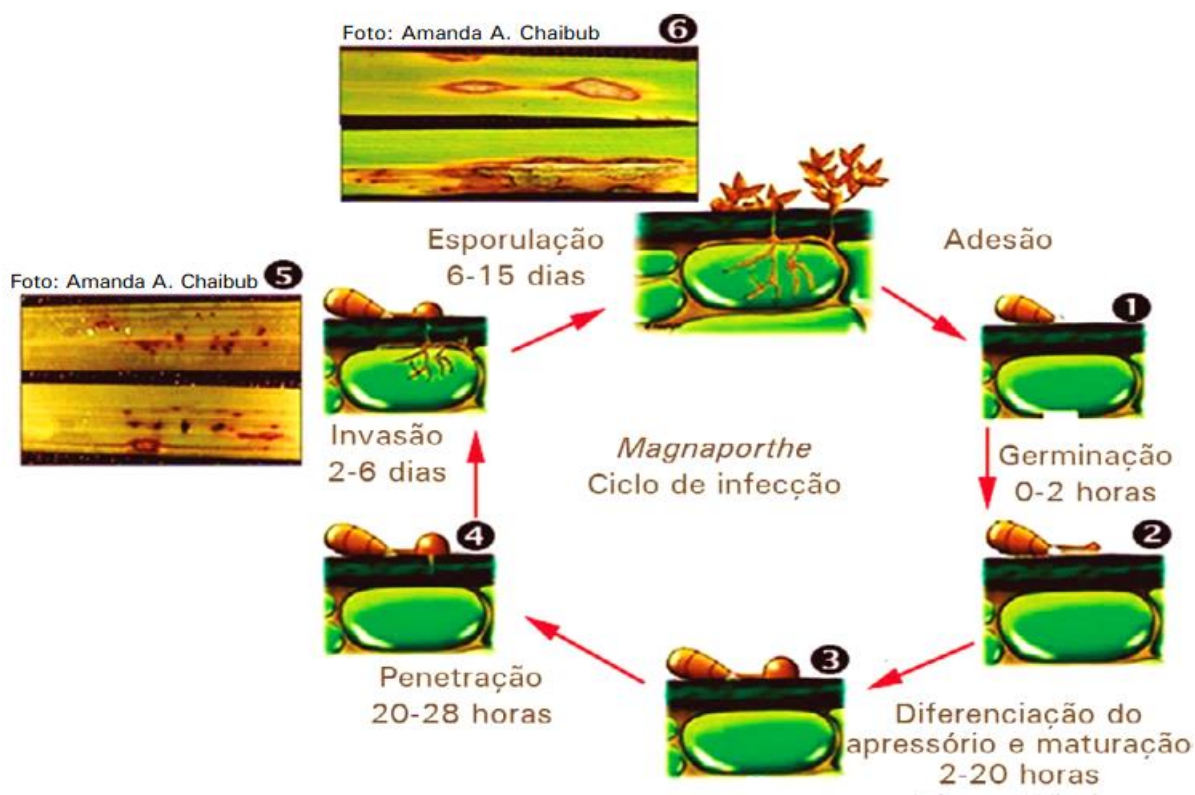


Figura 1. Ciclo de desenvolvimento de *Magnaporthe oryzae* na folha de arroz (Ramos, 2009).

O controle da brusone é complexo e feito adotando várias medidas de manejo integradas combinando vários métodos. A resistência genética de cultivares é a estratégia mais usual e de maior sucesso, embora sua maior dificuldade seja a durabilidade ao longo do tempo, devido a variabilidade na população do patógeno. O uso de fungicidas torna-se essencial quando o grau de resistência das cultivares é ineficaz. Contudo o uso indiscriminado e excessivo, além de ser nocivo à saúde humana e ao ambiente, leva o aumento da capacidade dos patógenos em adquirirem resistência aos princípios ativos utilizados em menor tempo (Castroagudín et al., 2015). Assim, o uso de bioinsumos têm ganhado evidência no controle, servindo como prática sustentável e com eficiência dentro do manejo integrado de doenças. Os diferentes mecanismos de ação dos agentes de biocontrole representam uma grande vantagem sobre os produtos químicos que trabalham em um único alvo. Portanto, fungicidas microbiológicos podem ser usados em rotação com fungicidas químicos resultando na redução do desenvolvimento da resistência por agentes patogênicos (Lucas et al., 2009).

2.4 INFLUÊNCIA DA DEFICIÊNCIA HÍDRICA NA FISIOLOGIA DA PLANTA

A interação da planta com o ambiente, quando funcionando num sistema controlado, é o que estabelece o equilíbrio para o seu perfeito desenvolvimento. Sob impactos causados por perturbação ambiental, plantas reagem de forma negativa e são intensamente afetadas, a depender de parâmetros genéticos e do grau de estímulo ambiental (Chaves, 1991). A água é considerada o principal fator que, de forma isolada ou combinada com outros fatores ambientais, limitam a produtividade agrícola ao redor do mundo (Flexas et al, 2009; Murchie et al., 2008; Chaves & Oliveira, 2004). Ainda, diferentes espécies cultivadas, reagem de formas diferentes às respostas as alterações do ambiente. Plantas de metabolismo fotossintético C4 são, em geral, mais eficientes no uso da água, o que lhes conferem maior tolerância a deficiência hídrica, conseguindo, em condições adversas, reduzir a fotorrespiração, conferindo vantagem adaptativa em relação às plantas do tipo C3 (Sage & Kubien, 2007; Stepień & Klobus, 2005; Yoshimura et al., 2004; Ward et al., 1999).

A deficiência hídrica é entendida por Jaleel et al., (2009) como uma perda moderada de água que difere de dessecação, descrita como perda de água mais extensiva, podendo levar, nesse caso, a ruptura do metabolismo e da estrutura celular. Em condições de deficiência no suprimento hídrico são desencadeadas respostas na planta, levando ao fechamento estomático, perda de turgor, redução da espessura do mesófilo e da lâmina foliar

através da redução dos espaços intracelulares, resultando em menor expansão celular, além da alteração na taxa de transpiração, condutância estomática e taxa fotossintética e, consequentemente, redução no crescimento (Jaleel et al., 2009; Calbo & Moraes, 2000). Numerosos estudos documentam que, sob déficit hídrico, ocorre ainda um maior desenvolvimento radicular, resultando em aumento de comprimento (Fitter & Hay 1987) e de matéria seca da raiz (Pereira & Pallardi 1989), respostas desencadeadas pela planta em busca de água e nutrientes em maiores profundidades no solo, além de poder ocorrer também acúmulo de prolina no vacúolo celular (Bohnert et al. 1995; Pandey & Agarwall 1998) aumentando a capacidade da célula em extrair água do solo (Boyer, 1996).

Prolinas são aminoácidos que podem se acumular no interior dos vacúolos de células radiculares, aumentam a pressão osmótica dessas células, como também a capacidade de absorção de água, além de manter a pressão de turgor das células, auxiliando na continuidade dos seus processos fisiológicos, ainda que em níveis reduzidos (Marijuan & Bosh, 2013). Em plantas cultivadas sobre condições limitantes de água, o conteúdo de prolina pode aumentar até 100 vezes, em comparação a plantas cultivadas sob condições hídricas normais (Verbruggen & Hermans, 2008) desempenhando função importante ao atenuar os efeitos do déficit hídrico (Filippou et al., 2014).

Os estômatos são os principais reguladores de entrada do substrato essencial a fotossíntese na célula vegetal, o CO₂ e também na perda de vapor d'água para a atmosfera pela transpiração. Esses processos, envolvendo trocas gasosas entre folha e atmosfera são essenciais para a manutenção da atividade fotossintética e hidratação dos tecidos, de forma que os estômatos são os principais reguladores da perda excessiva de água e consequente desidratação, em condições de deficiência hídrica no ambiente (Oliver et al., 2009; Blum, 2009). Contudo, vários fatores interferem na abertura e fechamento dos estômatos, como mudanças repentinas na intensidade de luz, deficiência hídrica e baixa umidade do ar fazendo com que esse processo seja heterogêneo e interfira no processo de regulação natural de perda de água pela planta (Mott & Buckley, 1998).

O ácido abscísico (ABA) é um hormônio inibidor de crescimento vegetal, conhecido como “hormônio do estresse”, exercendo funções importantes na resposta das plantas ao déficit hídrico (Davies & Zhang, 1991) controlando a abertura e fechamento dos estômatos (Cramer et al., 2011). A desidratação celular sob condições limitantes de água induz um aumento nos níveis de ABA no interior da célula, que ligam-se a receptores na membrana plasmática das células-guarda dos estômatos, fazendo com que canais de Ca²⁺

(íons de cálcio) abram-se e esses íons adentre para o citoplasma. Com isso o Ca^{2+} induz a abertura de canais iônicos, acarretando na passagem dos ânions Cl^- (íons de cloro) e malato²⁻ e do cátion K^+ (íons de potássio) do citoplasma para a parede celular. Esse processo faz com que a água se mova também para a parede celular, diminuindo a pressão de turgor das células-guarda que, pelo fechamento do ostíolo estomático, permanecem flácidas fazendo com que o estômato se feche, impedindo a passagem e perda excessiva de água. Ao retorno dos níveis normais de água no ambiente, o ABA se separa de seu receptor na membrana plasmática, os íons retornam o citoplasma e a água, por osmose, retorna ao interior da célula, aumentando a pressão de turgor e, por conseguinte, fazendo com que as células-guarda voltem a ficar túrgidas, promovendo novamente a abertura dos estômatos (Taiz & Zeiger, 2004). O ABA possui também efeito protetor nas plantas desidratadas diminuindo a produção de folhas novas, a fim de reduzir a expansão foliar durante períodos de alta demanda transpiratória (Yin al., 2004), na inibição do crescimento da parte aérea (Sauter et al., 2001) no aumento do conteúdo relativo de água (CRA) das plantas (Jiang & Huang, 2002) e na estabilidade do aparato fotossintético (Gong et al., 1998).

Em níveis de desidratação em que o CRA está abaixo de 70% a assimilação de carbono, ocasionado pelo fechamento estomático, pode diminuir chegando próximo a zero sem nenhuma redução na capacidade fotossintética do mesófilo (Chaves, 1991). O decréscimo da condutância estomática resulta na diminuição de difusão de CO_2 para o interior da célula e, por conseguinte, também de O_2 para o exterior, fazendo com que a relação da concentração de O_2 e CO_2 no interior celular aumente. Esse processo interfere na atividade da enzima Rubisco, no ciclo de Calvin, durante a etapa química (escura) no processo de fotossíntese, que, deixa de fixar CO_2 , e inicia o processo de fixação de O_2 , fenômeno conhecido como fotorrespiração (Sanda et al., 2011). Como consequência da fotorrespiração, o excesso de energia absorvida pelas plantas desafiadas pela seca nesse processo, pode ser destinado para uma superprodução de espécies reativas de oxigênio (EROs) pelas plantas (Sandalio et al., 2013). EROs são produzidas constantemente em baixas concentrações em diferentes compartimentos da célula vegetal e são essenciais como moléculas de sinalização e sistema de defesa da planta, mas em altas concentrações são prejudiciais (Harb et al., 2010). Esse estresse oxidativo desencadeia as elevadas quantidades de EROs a causar danos fotoinibitórios e fotooxidativos catastróficos como peroxidação de lipídeos e desnaturação de proteínas e ácidos nucleicos da planta (Huang, et al., 2014), degradando, principalmente, os ácidos graxos poliinsaturados dos fosfolipídios da

membrana (Wang et al., 2012). A concentração de EROs é regulada pela ativação do sistema antioxidante da planta que induz a síntese de enzimas antioxidativas como peroxidases, catalases e dismutase (Harb et al, 2010; Miller et al., 2010).

Altas temperaturas também podem afetar atividade fotoquímica diretamente pela desorganização estrutural dos tilacóides, pela inativação do fotossistema II (FSII) e a cadeia de transporte de elétrons, que daria origem a adenosina trifosfato (ATP) e nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida (NADPH), ou indiretamente pela redução da atividade do ciclo de Calvin (Zhang & Sharkey, 2009). A fixação de CO₂ é mediada pela atividade carboxilase da Rubisco, que com aumento de temperaturas é desfavorecida por apresentar grande sensibilidade com as mudanças de temperaturas. Plantas sob condições de seca reduzem a taxa de transpiração e conseqüentemente a capacidade de dissipação de calor latente aumentando a temperatura da folha, e por conseguinte, interferindo na atividade da Rubisco (Kumar et al., 2009). Com o má funcionamento do aparato fotoquímico, a síntese de ATP e NADPH é comprometida e com isso, a capacidade de regeneração da ribulose bifosfato (RuBP) diminui, levando a uma redução na fotossíntese potencial (Lawlor e Tezara, 2009; Pinheiro & Chaves, 2011).

2.5 RIZOBACTÉRIAS COM MÚLTIPLAS BIOATIVIDADES

As bactérias são microrganismos unicelulares, com material genético contido em cromossomo único e circular a qual consiste de ácido desoxirribonucleico (DNA) e proteínas. A divisão celular acontece por fissão binária em quatro fases distintas, lag, log, estacionária e de declínio, originando duas novas células bacterianas com materiais genéticos idênticos. A fase lag, também conhecida como latente, correspondente ao período de adaptação do microrganismo ao meio com as células em intensa atividade metabólica, porém, sem multiplicação. Na fase subsequente, inicia-se a multiplicação celular e as células dobram em quantidade, com crescimento logarítmico (log). Após, na fase estacionária, a população bacteriana mantém-se em equilíbrio, mantendo por igual o número de células novas produzidas e o número de morte celular. E por fim, na fase de declínio ou morte ocorre redução no número de células vivas, com o número de células mortas maior que o número de células novas produzidas (Araújo et al., 2012).

As bactérias são divididas em gram positivas e gram negativas. A diferença entre elas está basicamente na composição da parede celular, tendo as gram positivas parede mais espessa e rígida, resultado das múltiplas camadas de peptidoglicano, enquanto que as gram

negativas são estruturalmente mais finas e menos rígidas, com poucas camadas de peptidoglicano (Araújo et al., 2012). A comunicação entre as células bacterianas acontece por *quorum sensing*, mecanismo que consiste na liberação de moléculas de sinalização para o meio, provocando a expressão de vários genes (Romero et al., 2012). Essa comunicação possibilita as bactérias executarem funções biológicas importantes, como acelerada multiplicação celular em condições adversas do meio. Além disso, tem sido demonstrado que o *quorum sensing* desempenha papel na adesão celular, conferindo ao biofilme uma maior adesão e proteção aos agentes antimicrobianos (Antunes, 2003). O biofilme, comumente produzidos por rizobactérias, auxiliam na sobrevivência a várias condições de estresse, como resistência a antibióticos, proteção contra fitopatógenos, proteção contra dessecação e agentes estressantes antimicrobianos (Monier & Lindow, 2003).

As rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCP) são bactérias que naturalmente se desenvolvem e sobrevivem no solo, colonizando as raízes de plantas e favorecendo o seu crescimento, utilizando de vários mecanismos para estimular a indução de resistência a patógenos (Kokalis-Burelle et al., 2006) e mitigar efeitos negativos impostos por condições ambientais adversas (Kumar et al., 2012). Os estudos com rizobactérias tiveram início na Rússia e na Ucrânia no ano de 1885 com isolados de *Bacillus* sp. e *Azotobacter chroococcum*. A primórdio, objetivavam descobrir a sua capacidade em aumentar o crescimento e rendimento das plantas. Com avanço nas pesquisas e trabalhos realizados por Kloepper e Shoroth, em 1978, com batata e rabanete, foi descoberto que rizobactérias, além de estimular crescimento, conseguem estimular também a bioproteção de plantas e assim aumentar a tolerância vegetal a estresses bióticos (Luz, 1996).

Bacillus thuringiensis é uma bactéria gram positiva, em forma de bastonete móvel, aeróbica e anaeróbica facultativa, formadora de esporos, persistindo no solo principalmente na forma de endósporo e caracterizada por produzir inclusões proteicas cristalinas denominadas δ -endotoxinas durante a fase de esporulação (Silva-Werneck et al. 2008; Yara et al.1997). Já bactérias do gênero *Pseudomonas* são caracterizadas como gram negativas, em forma de bastonete reto ou ligeiramente curto, aeróbicos e não formadores de esporos. Possuem alta motilidade conferida por flagelos polares e possuem intensa atividade proteolítica e lipolítica (Frank et al., 2005; Cornelis, 2008).

Os microrganismos biopromotores são salutar para as plantas e podem atuarem de forma benéfica no seu desenvolvimento, precavendo-a de estresses bióticos e abióticos e suprimindo, assim, baixas na produtividade. Dentre os mais populares estão as rizobactérias

promotoras do crescimento de plantas, também chamadas de “plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR)”, que são utilizadas com êxito em diversas culturas, promovendo o desenvolvimento saudável e diminuindo o ataque de doenças (Filippi et al., 2011).

Diferentes tipos de bactérias compõem a vitalidade do solo, estando incluídas em várias atividades bióticas para torná-lo eficiente, melhorando a produção de culturas (Ahemad et al., 2009) suscitando o desenvolvimento das plantas através da mobilização de nutrientes no solo, gerando reguladores de crescimento de plantas, protegendo as plantas de fitopatógenos e ainda aperfeiçoando a estrutura do solo. Elas podem ser caracterizadas de acordo com suas especialidades: (1) colonização radicular; (2) sobrevivência, multiplicação e competição com outros componentes da microbiota, pelo menos durante o período em que manifestam suas atividades de promoção do crescimento/proteção nas plantas e (3) promoção do crescimento das plantas (Ahemad e Kibret, 2013). São exitosas na sua instalação em ecossistemas do solo, devido a sua adaptabilidade a uma grande possibilidade de ambientes, à taxa de crescimento mais rápido e versatilidade biótica em metabolizar um grande número de compostos naturais e xenobióticos. (Bhattacharyya & Jha, 2012).

A ação direta das rizobactérias se dá na promoção do crescimento e potencializam benefícios para as plantas, como a fixação de nitrogênio, solubilização de fosfatos, síntese de sideróforos (Cardoso & Andreote, 2016) e a produção de fitormônios, auxina, citocininas, giberelinas etileno (ET) e ácido abscísico, que regulam o crescimento vegetal (Vejan et al., 2016; Silva et al., 2016). Indiretamente agem na presença de patógenos, como agentes de biocontrole, em geral pela competição por nutrientes, exclusão de nicho, indução de resistência e produção de metabolitos antifúngicos (Ahemad & Kibret, 2013) e aumento da resistência a estresses abióticos, principalmente déficit hídrico, pela síntese de enzimas envolvidas ao estresse, promoção de crescimento radicular e aumento da captação e retenção de água no interior do tecido vegetal (Cardoso & Andreote, 2016). Como bioprotetoras de plantas, as RPCPs, quando presentes nas raízes, atuam como eliciadores através de moléculas constituintes das células bacterianas por elas sintetizadas. Esses eliciadores agem como sinais mediados pelo ácido jasmônico (AJ) e ET, onde acionam genes codificadores de compostos de defesa, responsáveis pela produção de antibióticos e substância com ação antifúngica, havendo assim, a indução de resistência sistêmica (Van Loon, 2007).

2.6 MECANISMOS DE AÇÃO DAS RIZOBACTÉRIAS

2.6.1 Fixação biológica de nitrogênio atmosférico

As rizobactérias, em grande parte, possuem a capacidade de capturar nitrogênio e integrá-lo na planta através da fixação biológica de nitrogênio (Attitalla, 2012). O nitrogênio é o nutriente mais limitante para o crescimento e produtividade das plantas e em quantidades ideais e na forma disponível, aumenta a resistência da planta ao ataque de patógenos, além de auxiliar no crescimento e aumento produtivo. Embora presente em abundância na atmosfera (78%) na forma de N_2 , não se encontra prontamente disponível para as plantas uma vez que a ligação tripla e covalente desta molécula não pode ser rompida pelas plantas (Hungria, 2011). A fixação é feita através da enzima nitrogenase, presente em grupos específicos de rizobactérias, que assimilam o nitrogênio atmosférico (N_2), rompendo a tripla ligação em sua molécula e convertendo em amônia, forma em que as plantas conseguem assimilar (Biswas & Gresshoff, 2014).

A fixação de nitrogênio feita pelas rizobactérias auxiliam no atraso do processo de senescência das folhas, muito comum em condições de déficit hídrico, promovendo o acúmulo de íons de potássio e induzindo a produção de citocinina, que inibem a senescência, além do acúmulo de açúcares e aminoácidos que auxiliam na sobrevivência das plantas durante estresse (Staudinger et al., 2016). Plantas em simbiose com rizobactérias fixadoras de nitrogênio se recuperam do déficit hídrico mais rapidamente, resultado das mudanças na partição de carbono do amido para os açúcares e, portanto, da alocação aprimorada de reservas para osmólitos durante a seca, permitindo permanecer verde com a capacidade de recuperação rápida após a reidratação (Staudinger et al., 2016). Dentre as principais bactérias fixadoras de nitrogênio encontram-se as dos gêneros *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azobacter*, *Gluconoacetobacter* entre outros (Franchete et al., 2009).

2.6.2 Características bioquímicas

2.6.2.1 Produção de AIA

O ácido indolacético (AIA), a mais abundante e ativa molécula de auxinas em sistemas biológicos, é um dos hormônios produzido por cerca de 80% das rizobactérias e está envolvido na regulação do crescimento das plantas, responsável pela divisão celular em brotações, dominância apical e ramificação radicular (Kende & Zeevaart, 1997; Bianco et al.,

2006). Rizobactérias produtoras de AIA são altamente promissoras na promoção de crescimento de plantas, estimulando o desenvolvimento radicular por meio do aumento da absorção de nutrientes essenciais, resultando no maior desenvolvimento de parte aérea e consequente aumento na taxa fotossintética (Lambrecht et al., 2000).

2.6.2.2 Solubilização de fósforo

O fósforo é o segundo nutriente mais limitante ao crescimento das plantas e microrganismos, sendo um componente estrutural de muitas coenzimas, fosfo-proteínas, fosfolípidos, do DNA de todos os organismos vivos e é responsável por vários processos fisiológicos das plantas, especialmente a fotossíntese, metabolismo do carbono e formação da membrana (Baby et al., 2016). No solo, a maior parte de fósforo, cerca de 95-99%, está retido na forma precipitada ou adsorvida com íons de ferro, cálcio e alumínio, acumulado na forma de fosfato insolúvel não disponível para as plantas (Ahemad & Kibret, 2014; Teymouri et al., 2016), que absorvem o fósforo na solução do solo apenas nas formas de íons monobásicos (H_2PO_4) e dibásico (HPO_4^{2-}) (Gupta et al., 2013; Teymouri et al., 2016).

A necessidade requerida de fósforo pelas plantas, em estádios iniciais, são pequenas, aumentando com o desenvolvimento da planta, respondendo à limitação de fósforo estendendo as raízes secundárias, de modo a alcançar sítios mais distantes em busca do elemento ou exsudando ácidos orgânicos (Fabiańska et al., 2019; Williamson et al., 2001). Para suprir deficiência de fósforo nos solos, são realizadas aplicações frequentes e elevadas de fertilizantes fosfatados em campos agrícolas. A aplicação regular de fertilizantes de fosfato é dispendioso bem como ambientalmente indesejável. A importância do uso rizobactérias solubilizadoras de fosfato, vai além do fato de contribuir para o crescimento das plantas, atuando também na redução da necessidade do uso de fertilizantes manufaturados (Castro et al., 2018).

Os microrganismos do solo, em especial as rizobactérias, possuem papel fundamental na solubilização de fosfato inorgânico, apresentando-se como alternativa ao uso de fertilizantes fosfatados químicos, fornecendo uma alternativa viável do aproveitamento do fósforo insolúvel presente no solo (Awais et al., 2017). Através da alteração do pH em seu meio, as rizobactérias produzem enzimas fosfatases capazes de hidrolisar os compostos insolúveis de fosfato, tornando-os disponíveis as plantas (Saber et al., 2009). A produção de ácidos e enzimas fosfatases por rizobactérias, principalmente fosfatases ácidas, são as responsáveis por solubilizar as formas precipitadas de fósforo atuando como fontes de

prótons ou na quelação do elemento acompanhante do íon fosfato (Marra et al., 2012). Entre os gêneros bacterianos que são conhecidos por terem esta capacidade, estão: *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Microbacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rhodococcus* e *Serratia* (Bhattacharyya & Jha, 2012; Castro et al., 2014; Gupta et al., 2013; Gupta et al., 2015; Verma et al., 2001).

2.6.2.3 Síntese de sideróforos

O ferro é um nutriente essencial para todos organismos vivos, contudo, é relativamente insolúvel na solução do solo (Siddiqui, 2005). Dentre suas funções está a formação de biofilme microbiano, regulando a motilidade superficial de microrganismos, além de participar de processos metabólicos, como na cadeia de transporte de elétrons, na fosforilação e na fotossíntese (Cai et al., 2010). Para competir por esse elemento limitante, as rizobactérias sintetizam sideróforos, moléculas orgânicas de baixo peso molecular que se ligam por alta afinidade com Fe^{+3} , que por ação quelante captura o ferro insolúvel, reduzindo a Fe^{2+} , ficando disponível para a absorção, e através de receptores específicos de sideróforos presentes na membrana celular, move-se para o interior da célula (Ahmed & Holmstrom, 2014).

2.6.2.4 Enzima ACC deaminase

O etileno é uma molécula orgânica produzida por plantas e atua como regulador de crescimento, quando em baixas concentrações (Glick, 2005). Em condições de estresse, seja ocasionado pelo ataque de fitopatógenos ou por condições adversas do ambiente, a síntese de etileno, pelas plantas, é aprimorada, e seus níveis acima do valor limite retarda o crescimento das plantas, afetando o desenvolvimento radicular, inibindo a germinação de sementes e causando senescência. Algumas rizobactérias, pela produção da enzima ACC deaminase, consegue clivar o composto de 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC), precursor imediato do etileno, diminuindo assim os níveis de etileno na planta, por sua vez, promovendo o crescimento (Glick, 2014). Níveis reduzidos de etileno foram constatados em plantas de pimenta inoculadas com *Bacillus licheniformis* (Lim & Kim, 2013). Folhas e raízes de plantas de feijão, sob déficit hídrico, apresentaram baixos níveis de emissão de etileno quando inoculadas com rizobactérias produtoras de ACC deaminase, melhorando o

comprimento e biomassa das raízes e parte aérea e por conseguinte, seu desempenho (Saleem et al., 2018).

2.6.2.5 Formação de biofilme

O biofilme pode ser definido como uma comunidade microbiana altamente aderentes entre si ou a uma superfície, sendo composta por carboidratos extracelulares, proteínas, expolissacarídeos e até mesmo DNA (Branda et al., 2005). As rizobactérias são conhecidas por formarem biofilme, que auxiliam na sobrevivência a várias condições de estresse (Parsek & Fuqua, 2004), como resistência a antibióticos, proteção contra fitopatógenos, proteção contra dessecação e agentes estressantes antimicrobianos (Monier & Lindow, 2003).

Muitos autores relatam a formação de biofilme por bactérias, incluindo as dos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas*. Kavamura et al. (2013) observou a produção de biofilme em condições estressantes por bactérias do gênero *Bacillus*, isolado de cactáceas de semiárido brasileiro. Outros gêneros como *Paenibacillus* também são capazes de colonizar raízes de plantas e formar biofilme (Timmusk, 2005).

Durante o crescimento vegetal o biofilme pode auxiliar na colonização radicular (Ramey et al., 2004), proteger as células da privação de nutrientes, fagocitose e alterações de pH e também, através da secreção de substâncias polissacarídicas, pode conferir estabilidade as plantas em condições militantes de água (Kasim et al., 2016). Os expolissacarídeos formadores de biofilmes são altamente hidratados e conseguem reter água no interior de suas moléculas (Flemming et al., 2000) conferindo-lhes característica hidrofílica, e assim, com maior capacidade de absorção e retenção de água, que ao habitarem a região da rizosfera das plantas, consegue proteger as raízes da dureza de secagem do solo (Rolli et al., 2014; Rossi et al., 2012).

2.6.3 Efeitos diretos

Plantas sob déficit hídrico e tratadas com rizobactérias apresentam uma arquitetura remodelada do sistema radicular, com extremidades das raízes mais alongadas, assim como maior produção de raízes adventícias, resultando no aumento de área de superfície (Vacheron et al., 2013; Bresson et al., 2014) aumentando finalmente a condutância hidráulica e de nutrientes durante o estresse (Dimpka et al., 2009). Plantas de *Lavandula* inoculadas com *B. thuringiensis* obteve aumento nas concentrações de AIA e apresentou

maior tolerância a seca, restaurando vários processos fisiológicos e metabólicos da planta hospedeira (Armada et al., 2014). Khan et al (2016) em seu trabalho, ao inocular cepas de microrganismos endófitos, dentre elas bactérias do gênero *Burkholderia* e *Pseudomonas*, em plantas de algodão americano sob déficit hídrico, observou incremento de 28% na biomassa total (raízes e parte aérea) em relação ao controle. Os autores atribuíram esse resultado a maior produção de hormônios vegetais, como auxinas, resultante da inoculação dos microrganismos que proporcionaram maior crescimento vegetal assim como incremento no número e tamanho de raízes permitindo maior alcance para absorção de água e nutrientes.

A inoculação com diferentes estirpes de RPCPs promoveram significativamente o crescimento de plantas de milho, aumentando a biomassa da raiz (50-68 %) e da parte aérea (25-54 %) além de aumentar as concentrações de N e P, sendo a promoção de crescimento atribuída à produção de ácido indol-3-ácetico (AIA) e solubilização de fosfato pelas rizobactérias (Arruda et al., 2013). Em plantas de feijão tratadas com dois isolados de PGPR (*Bacillus pumilus* e *Bacillus mycoides*) observou aumento da fotossíntese, da eficiência do uso de água, da concentração de clorofilas e aumento na produção de aproximadamente 30%, nesse caso a promoção do crescimento foi justificada pela produção de AIA, sideróforos e solubilização de fosfato (Stefan et al., 2013).

Em plantas de arroz, os trabalhos também mostram resultados satisfatórios. Na promoção de crescimento, foi constatado, usando sete isolados de RPCPs, respostas positivas em todos os tratamentos para todos os parâmetros avaliados: germinação, índice de vigor, altura da planta, peso fresco e peso seco, assim como aumentando a proteção contra *Xanthomonas oryzae* em até 68%, promovendo nas plantas de arroz o acúmulo de enzimas relacionadas à defesa, como fenilalanina amônia-liase, polifenol- oxidase e peroxidase (Chithrashree et al., 2011). Em estudo realizado em casa de vegetação, foram obtidos aumento em até 65% no acúmulo de biomassa e 90% na redução da severidade da brusone nas folhas, com o uso dos isolados de *Pseudomonas* sp. e *Burkholderia* sp. (Filippi et al., 2011).

Avaliando isolados de bactérias obtidas a partir de amostras de rizosfera de tomate, Karpagam & Nagalaksh (2014) relataram a capacidade de solubilizar fósforo por 37 isolados, dentre os quais encontravam-se do gênero *Pseudomonas* e *Bacillus*. Lemos (2009) encontrou *Burkholderia* sp. como mais eficiente, apresentando o maior índice de solubilização, igual a 3,83, e ainda com aumento na produção e qualidade de grãos de arroz quando testadas em casa de vegetação. Durán et al. (2016) inoculando *Bacillus* sp. e

Klebsiella sp. em alface, constataram maiores teores de fósforo e potássio e maior teor de biomassa em plantas inoculadas quando comparadas às não inoculadas.

Em testes *in vitro* feitos por Chauhan et al. (2015) com isolados de bactérias isoladas de colmos de cana-de-açúcar, relataram a presença de quatro linhagens do gênero *Pseudomonas* e *Bacillus* solubilizando fosfato, e quando avaliadas em experimentos em campo, afetaram positivamente o desenvolvimento vegetal com um aumento da germinação (55%), número de colmos (20%), altura (18%), circunferência e peso de colmos (8 e 51%, respectivamente), produtividade (39%) e a porcentagem de açúcares disponíveis (6%), quando comparados ao controle.

2.6.4 Efeitos indiretos

O efeito indireto das rizobactérias se dá pelo antagonismo contra fitopatógenos. O controle biológico vem ganhando espaço no sistema agrícola e pode ser inserido no manejo integrado a fim de reduzir danos produtivos e ambientais. Controle biológico é definido por Cook & Baker (1983) como sendo uso de microrganismos vivos atuando de forma direta no antagonismo a outros microrganismos fitopatogênicos, reduzindo a densidade de inóculo. Vários mecanismos são usados pelos organismos para exercer o controle biológico, sendo os mais estudados: competição, antibiose, hiperparasitismo, resistência induzida e hipovirulência (Mizubuti & Maffia, 2006).

O hiperparasitismo é o mecanismo com maior sucesso, tendo em vista que o hiperparasita, por viver às custas do patógeno, vivem nas mesmas condições ambientais e dependem das mesmas condições do organismo parasitado. Como principal e mais estudado organismo com mecanismo hiperparasita, cita-se o *Trichoderma*. Já a antibiose, um mecanismo também de sucesso no controle biológico, consiste na produção, por parte do microrganismo, de compostos tóxicos, como antibiótico, para o patógeno, inibindo assim seu desenvolvimento (Mizubuti & Maffia, 2006).

2.6.4.1 Indução de resistência

Indução de resistência é definida como ativação de mecanismos da planta contra o ataque de patógenos a fim de atrasar ou evitar sua entrada nos tecidos da planta (Pascholati & Leite, 2005). Em resposta a ao ataque de patógenos a planta expressa mecanismos de defesa que atuam de forma dinâmica e coordenada, podendo ser bioquímicos e estruturais ambos pré (já formados na planta antes do ataque de patógenos) e/ou pós-formados (ausentes

ou presentes em baixos níveis antes da infecção). Os mecanismos estruturais consistem em barreiras físicas à penetração e/ou colonização do patógeno, enquanto que os mecanismos bioquímicos englobam substâncias capazes de atrasar ou inibir o seu desenvolvimento (Schwan-Estrada et al., 2008).

A indução de resistência oferece a planta a capacidade de resistir ao ataque de agentes bióticos e abióticos, podendo essa resistência perdurar por longos períodos por meio da ativação dos mecanismos de defesa da própria planta. Estas defesas podem ser ativadas pelo tratamento com agente bióticos e abióticos, de natureza inorgânica, orgânica ou sintética. Os agentes capazes de ativar o sistema de defesa nas plantas, são chamados de elicitores, atuando como indutores de resistência, descritas como resistência sistêmica adquirida (RSA) e resistência sistêmica induzida (RSI) (Sticher et al., 1997).

Os genes de resistência estão associados ao incremento do ácido salicílico (AS), ácido jasmônico (AJ) e etileno (ET) (Feys & Parker, 2000; Jalali et al., 2006). A RSA está associada ao AS e ao acúmulo de proteínas relacionadas a patogênese (proteínas RP) e é induzida por patógenos e também pelo tratamento de diversas substâncias como o acibenzolar-S-metil (ASM), um análogo do AS (Buonaurio et al., 2009; Shores et al., 2010). A RSI é induzida por microrganismos benéficos, como as rizobactérias e agentes biológicos como *Trichoderma* spp. (Van der Ent et al., 2009) e independe do AS e proteínas PR, dependente, nesse caso, do aumento de AJ e ET. Apesar de serem mediadas e dependentes de agentes diferentes, a interação e interdependência entre elas já foi demonstrada (Pieterse et al., 2005).

As plantas possuem, na superfície celular, receptores de reconhecimento de sinais capazes de reconhecer presença de microrganismos/elicitores, sejam eles de origem patogênica ou não (Van der Ent et al., 2009; Faulkner & Robatzek, 2012). Quando o reconhecimento é feito pelo ataque de patógenos, dá-se o nome de padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) e por microrganismos benéficos (MAMPs) (Schwessinger & Zipfel, 2008), enquanto que injúrias provocados por danos, sejam eles bióticos, como como peptídeos de plantas ou fragmentos da parede celular produzidos durante o ataque de patógenos, ou abióticos, como danos causados por estresses ambientais, são chamados de padrões moleculares associados a danos (DAMPs) (Monaghan & Zipfel, 2012). PAMPs e MAMPs ativam os receptores de reconhecimento padrão (PRRs) nas plantas desencadeando mudanças fisiológicas em resposta a este estímulo, levando a reprogramação massiva na transcrição de genes, resultando numa imunidade ativada (Boller & Felix, 2009). Quando os

MAMPs são produzidos por microrganismos benéficos ativando os PRRs, é chamado de imunidade ativada por MAMPs (Bakker et al., 2007).

As proteínas RP são um dos compostos de resposta de defesa formados pelas plantas, sendo os mais conhecidos as quitinases e β -1,3-glucanases, relatadas principalmente por inibir o crescimento fúngico (Van Loon & Van Strien, 1999) e encontradas em acúmulo nas plantas após contato com patógenos, tratamento com elicitores e hormônios. β -1,3-glucana é um importante componente da parede celular de muitos fungos e de forma direta, β -1,3-glucanases agem degradando a parede celular dos fungos inibindo a infecção e desenvolvimento do patógeno, e de forma indireta libera fragmentos glicosídicos, tanto na parede celular do patógeno quanto da planta, atuando como elicitores de reações de defesa (Leubner-Metzger & Meins, 1999).

A fenilalanina amônia-liase (PAL) é uma enzima do metabolismo secundário, também produzida em resposta de defesa da planta, responsável pela hidrólise da L-fenilalanina, transformando-a em ácido *trans*-cinâmico. Ela catalisa o primeiro passo da via fenilpropanoide, levando à produção de compostos fenólicos, incluindo fitoalexinas, conduzindo uma melhor defesa das plantas contra a infecção (Shoresh et al., 2010). As fitoalexinas são metabólitos secundários, antimicrobianos, produzidos pela planta em resposta a estresses físicos, químicos ou biológicos (Cavalcanti et al., 2005). Já as peroxidases (POD) são glicoproteínas capazes de catalisar a produção de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), atuam sobre as espécies reativas de oxigênio (ERO) de modo a livrar a célula de seu efeito deletério e são responsáveis também pela biossíntese do etileno e da lignina, originada a partir da oxidação e polimerização de álcool hidroxicinâmico em presença de H_2O_2 , oxidação do AIA e oxidação de compostos fenólicos, que se acumulam em respostas de defesa (Pascholati et al., 2008). Sua aderência na parede celular durante o processo de lignificação, pode impedir o desenvolvimento dos fungos nos tecidos vegetais por estabelecer barreira mecânica a entrada do patógeno (Pascholati et al., 2008).

No processo de interação dos microrganismos patogênicos com a planta, ocorre o estabelecimento da compatibilidade (susceptibilidade) ou incompatibilidade (resistência) (Heil & Bostock, 2002), que por sua vez desencadeia uma série de respostas de defesa na planta. Imerso na membrana plasmática ou no interior da célula encontram-se receptores, geralmente de origem proteica, responsáveis por mediar a percepção de sinais advinda do elicitor e transmitindo-os para o interior da célula a fim de ativar o sistema de defesa da planta, causando alterações no metabolismo celular, como ativação de proteínas G, aumento

do fluxo de íons através da membrana plasmática, atividades de quinases e fosfatases e a produção de mensageiros secundários (Figura 2) (Leite et al., 1997; Cavalcanti et al., 2005).

Em contato com o receptor, a proteína G é ativada através da troca de guanina difosfato (GDP) por guanina trifosfato (GTP), interagindo assim com outras proteínas da membrana plasmática, como as que funcionam como canais de íons, fosfolipases e fosfodiesterases, fazendo então a difusão do sinal, induzindo a atividade de proteínas intracelulares específicas (Cavalcanti et al., 2005). O fluxo de íons é estimulado e ocorre a entrada dos íons H^+ e Ca^{2+} e a saída de K^+ e Cl^- . A entrada de Ca^{2+} ativa as reações oxidativas, podendo agir diretamente na defesa ou sinalizar outras reações de defesa (Dixon et al., 1994).

A fosforilação de proteínas citoplasmáticas por quinases leva ao estímulo de uma oxidase de membrana, a NADPH oxidase, envolvida na geração do íon superóxido (O_2^-), desencadeando o processo conhecido como explosão oxidativa e consequente produção de EROs, como O_2^- , H_2O_2 , radical hidroxil ($OH^\cdot$) e 1O_2 (Leite et al., 1997). EROs são produzidas no caminho metabólico de transformação do oxigênio moléculas (O_2) a água (H_2O) (Mehdy et al., 1996). A primeira reação se dá pela conversão de O_2 ao ânion O_2^- através da adição de um elétron, mediado por peroxidases ou NADPH oxidases associadas à membrana (Doke et al., 1996). O O_2^- sofre oxido-redução ou dismutase e regenera O_2 e H_2O_2 , sendo o H_2O_2 podendo ser reduzido a OH^- ou convertido a H_2O e O_2 pela ação da catalase (Heiser & Osswald, 2008).

EROs podem atuar diretamente sobre o patógeno devido sua alta toxicidade, inibindo seu desenvolvimento e indiretamente, fortalecendo a parede celular por favorecer a formação de ligações cruzadas com proteínas estruturais, servindo de barreira mecânica e impedindo ou dificultando a penetração do patógeno (Doke et al., 1996). Ainda, a explosão oxidativa está envolvida em um dos principais eventos da resposta de defesa da planta, a reação de hipersensibilidade (RH). RH é caracterizada pela morte programada das células em torno de uma infecção atuando na inibição de desenvolvimento de patógenos biotróficos, pois restringe o acesso a água e nutrientes, pela permanência de uma pequena quantidade de tecido vegetal morto no local do ataque do patógeno, não afetando o restante da planta (Glazebrook, 2005; Taiz & Zeiger, 2004).

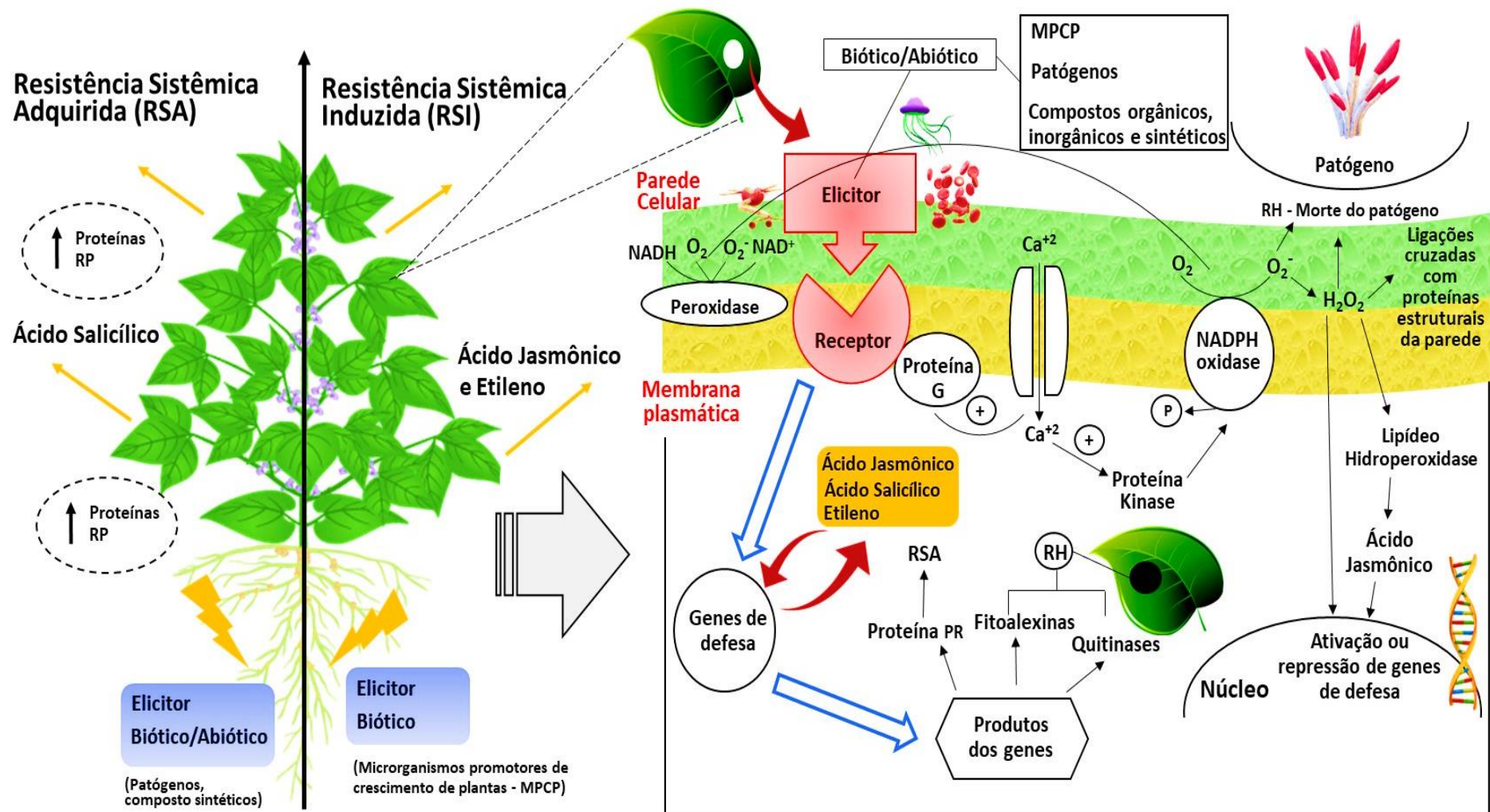


Figura 2. Modelo de resistência sistêmica em plantas e possíveis componentes envolvido na geração de espécies reativas de oxigênio e ativação de genes e seus efeitos sobre o patógeno ou sobre a ativação de mecanismos de defesa das plantas (Fonte: o autor).

2.7 O Si NA MITIGAÇÃO DE DOENÇAS E DÉFICIT HÍDRICO

O Si é o segundo elemento mineral mais abundante na crosta terrestre, estando logo após o oxigênio, desempenhando papel importante no alívio de estresses bióticos e abióticos, intensificando a proteção da planta (Epstein, 1999). Os solos brasileiros, devido ao alto grau de intemperismo, apresentam média de 5 a 40% de Si em suas composições (Ma et al., 2001), sendo a forma mais abundante o óxido de Si (SiO_2), e em solos tropicais, devido a intemperização, é encontrado na forma de opala e quartzo ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$), sendo essa forma indisponível às plantas (Cai et al., 2009).

Nas plantas, o Si está relacionado à maior resistência ao acamamento e diminuição do ataque a patógenos decorrente na maior lignificação e silicificação das células epidérmicas, além de conferir maior grau de resistência a estresse biótico e abiótico, diminuição da taxa de evapotranspiração em situações de déficit hídrico (Balakhnina, 2013; Bakhat et al., 2018; Epstein e Bloom, 2005; Malavolta, 2006; Zanetti et al., 2016), além de estar associado, indiretamente, ao aumento no teor de clorofila e da capacidade fotossintética, a redução na transpiração e aumento na absorção de nutrientes (Ávila et al., 2010; Gunes et al., 2007). Apesar de encontrar-se onipresente nas plantas, algumas são consideradas acumuladoras de Si, acumulando concentrações maiores que 1% de seu peso seco, tendo monocotiledôneas, como arroz e cana-de-açúcar, acumulando até 5% (100 a 150 g kg^{-1} de Si) por possuírem transportadores de Si mais especializados, enquanto que outras são consideradas não acumuladoras, acumulando teores abaixo de 0,5% (concentrações abaixo de 5 g kg^{-1} de Si), como feijão e soja (Ma et al., 2001). Em arroz, o Si é usado como fertilizante para aumento de produção, atuando como indutor de resistência de patógenos, bem como auxílio na tolerância a altas concentrações de metais tóxicos prejudiciais a planta e ambiente (Cai et al., 2009).

O transporte de Si é um processo complexo caracterizado pela seletividade de transporte e acúmulo em tecidos específicos, fazendo com que sua absorção seja diferente entre espécies e genótipos (Pontigo et al., 2015). Sua absorção ocorre de forma passiva ou ativa, com a forma ativa feita por proteínas de membrana sintetizadas através de gene específico (Ma & Takahashi, 2002) podendo ser absorvida pela planta ao longo de todo seu ciclo, tendo em vista que não segue um gradiente de concentração. No arroz, o transporte de Si acontece mediante sinalização dos genes *Lsi1*, *Lsi2* e *Lsi6*, responsáveis pelo aumento da capacidade das raízes laterais em absorver o nutriente presente na solução do solo e translocar até a parte aérea (Ma & Yamaji, 2006). O Si é absorvido pelas raízes a partir da

solução do solo sob a forma de ácido monossilícico (H_4SiO_4) e translocado para a parte aérea via fluxo de transpiração (Hernandez-Apaolaza, 2014). O gene Lsi1 concentra sua ação na exoderme e endoderme das raízes e é responsável pelo influxo de silício do solo para as células das raízes, enquanto que o gene Lsi2 é responsável pelo efluxo de ácido monossilícico entre as células vegetais, guiando o nutriente pelo gradiente de concentração até a parte aérea da planta (Ma et al., 2007). Então, o gene Lsi6, localizado nas folhas, realiza o transporte de silício do xilema para as células das folhas onde é feita a deposição e acúmulo de sílica na região epiderme (Yamaji et al., 2008). As partículas de sílica crescem até um tamanho de cerca de 1 a 3 nm e são carregadas negativamente de tal forma que elas possam interagir com o ambiente local das paredes celulares das plantas. A maioria do Si absorvido é acumulado nas folhas mais velhas e uma vez que este é depositado, é imobilizado e não é redistribuído para os tecidos em crescimento, devido à baixa mobilidade pelo floema (Epstein, 1999). Além disso, Si atua como uma barreira física após ser depositado sob a cutícula, resultando em uma dupla camada de cutícula-Si na epiderme foliar (Crusciol et al., 2013). Esta dupla camada de cutícula-Si impede ou retarda a penetração do patógeno, prolongando assim a incubação e períodos latentes, o que reduz a gravidade da doença em muitas espécies de plantas (Berni & Prabhu, 2003). Por outro lado, a maior rigidez da cutícula aumenta a capacidade de retenção e resistência a perda de água pelo vegetal, melhorando seu gerenciamento hídrico. Quando a planta recebe o Si, começa a formar cadeias mais pesadas de ácido polissilícico, ocorrendo a polimerização, diminuindo a flexibilidade das paredes dos estômatos e ocasionando seu fechamento, ocorrendo a diminuição da transpiração e a perda de água (Luz et al., 2006; Taiz et al., 2015).

Estudos demonstram a eficácia do Si atuando na defesa da planta contra patógenos, diminuindo a severidade de doenças por apresentar maior atividade das enzimas protetoras. Um exemplo notável é o patossistema arroz-*M. oryzae*, em que o aumento da resistência tem sido associado à densidade das células na presença de Si, na epiderme das folhas, as quais funcionam como uma barreira física para evitar a penetração do fungo (Datnoff et al., 2007). Plantas de arroz adubadas com Si e posteriormente desafiadas por *M. oryzae* aumentaram significativamente as atividades das enzimas relacionadas à defesa, incluindo POD), polifenol oxidase (PPO) e PAL, assim como a concentração de Si e lignina, com consequente redução na incidência da brusone (Cai et al., 2008). Cortês et al. (2015) em experimentos em casa de vegetação com plantas de arroz, testou adubação com diferentes dosagens de Si (0, 1, 2, 4 e 8 ton SiCaMg.ha⁻¹), combinadas com diferentes bioagentes

(controle; *Burkholderia pyrrocinia*; *Pseudomonas fluorescens*; *Trichoderma asperellum*; mistura dos três bioagentes, onde constatou efeito positivo na integração de ambos, concluindo que a melhor dosagem de Si foi de 2 ton ha⁻¹ combinado com os três bioagentes, suprimindo a brusone foliar em até 96%. Do mesmo modo Sousa et al. (2017) avaliou adubação com Si em plantas de arroz nas mesmas dosagens, combinado com diferentes bioagentes (*Pseudomonas fluorescens*, *Burkholderia pyrrocinia* - separadas e em mistura e um pool de *Trichoderma asperellum*) constatou que a dosagem de 2 ton ha⁻¹ combinado com pool de *T. asperellum* ou com a mistura de bactérias suprimiu em até 99% a severidade de brusone foliar, aumentando ainda taxa fotossintética, pigmentos cloroplastídicos, eficiência do uso da água e açúcar solúvel total.

3 OBJETIVO GERAL

Selecionar isolados de rizobactérias resistentes à diferentes potenciais osmóticos e capazes de atenuar os efeitos causados por déficit hídrico e *M. oryzae* em plantas de arroz de terras altas.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- i) Quantificar a produção de enzimas extracelulares por isolados de rizobactérias.
- ii) Quantificar a capacidade de rizobactérias em solubilizar fosfato insolúvel.
- iii) Quantificar a produção de biofilme pelas rizobactérias.
- iv) Quantificar a produção de AIA pelas rizobactérias.
- v) Quantificar a produção de sideróforos pelas rizobactérias.
- vi) Quantificar a produção da enzima ACC deaminase pelas rizobactérias.
- vii) Selecionar isolados de rizobactérias resistentes a pressão osmótica induzida por PEG-6000 na presença de ácido monossilícico.
- viii) Determinar o número de células viáveis de rizobactérias resistentes ao potencial osmótico crescidas em diferentes potenciais osmóticos na presença de ácido monossilícico.
- ix) Avaliar o desenvolvimento das raízes das plântulas de arroz *in vitro*, em condições de diferentes potenciais osmóticos induzidos por PEG-6000, na presença de ácido monossilícico e inoculadas com rizobactérias resistentes ao potencial osmótico.
- x) Determinar o antagonismo *in vitro* entre rizobactérias resistentes ao potencial osmótico e *M. oryzae* na presença de ácido monossilícico e PEG-6000.
- xi) Determinar o potencial dos isolados de RPCPs e do ácido monossilícico em mitigar danos causados pelo déficit hídrico e brusone em plantas de arroz de terras altas, em casa de vegetação.

4 HIPÓTESES

As rizobactérias são produtoras de enzimas extracelulares, fitormônios, biofilme, sideróforos, ACC deaminase, solubilizadoras de fósforo, que lhes conferem mecanismos para crescimento sob diferentes condições de potenciais osmóticos induzido por polietilenoglicol e na presença de ácido monossilícico.

As rizobactérias são antagonistas a *M. oryzae* em condições de deficiência hídrica induzida e na presença de ácido monossilícico.

Raízes de plântulas de arroz, crescidas em condições de diferentes pressões osmóticas, na presença de ácido monossilícico combinado com rizobactéria desenvolvem-se melhor.

Rizobactérias resistentes aos potenciais osmóticos continuam antagonista a *M. oryzae* e são capazes de mitigar o déficit hídrico e a brusone foliar em plantas de arroz de terras altas em condições de casa de vegetação.

5 MATERIAL E MÉTODOS

Nove isolados de rizobactérias obtidos dos campos de arroz de terras altas e constituintes da Coleção de Microrganismos da Embrapa Arroz e Feijão, foram usadas para condução dos experimentos, sendo *Bacillus cereus* (BRM 32109), *Bacillus thuringiensis* (BRM 32110), *Pseudomonas fluorescens* (BRM 32111), *Pseudomonas* sp. (BRM 32112), *Burkholderia pyrrocinia* (BRM 32113), dois isolados de *Serratia* sp. (BRM 32114 e BRM 63522), dois isolados de *Serratia marcescens* (BRM 63521 e BRM 63523). Os cultivos dos isolados para obtenção de suspensões bacterianas foram feitos em meio caldo nutriente (13 g L⁻¹) por 48 h a 28 °C sob agitação constante de 150 rpm, e ajustadas em espectrofotômetro a uma absorbância de 0,5 em comprimento de onda de 540 nm, correspondendo a concentração de 1x10⁸ UFC mL⁻¹.

5.1 CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DAS RIZOBACTÉRIAS

5.1.1 Produção de enzimas extracelulares

Cinco microlitros de cada suspensão bacteriana foram transferidas para centro de placas de Petri contendo meio específico para detecção das enzimas estudadas, identificadas pela formação de halos. Os diâmetros dos halos (DH) e das colônias (DC) foram mensurados e determinado o Índice enzimático (IE) = Diâmetro do halo (DH) / Diâmetro da colônia (DC). Todos os experimentos foram realizados em delineamento inteiramente casualizado, com dez tratamentos (isolados bacterianos + controle) e três repetições.

5.1.1.1 Amilase

Cultivou-se os isolados bacterianos em meio Glucose Yeast Extract Peptone Agar (GYP) (glicose - 1g, extrato de levedura - 0,1g, peptona - 0,5 g, ágar - 16g, água destilada -1 L; pH 6,0) suplementado com 0,2% de amido solúvel. As placas foram incubadas à 28 °C por cinco dias e foram, então, inundadas com 1% de iodo em 2% de iodeto de potássio e deixadas em repouso por uma hora. Para a detecção da atividade amilase foi avaliada a formação ou não de halo ao redor da colônia (Hankin & Anagnostakis, 1975; Sunitha et al., 2013).

5.1.1.2 Celulase

Cultivou-se os isolados bacterianos em meio Glucose Yeast Extract Peptone Agar (GYP) (glicose - 1g, extrato de levedura - 0,1g, peptona - 0,5 g, ágar - 16g, água destilada -1 L; pH 6,0) suplementado com 0,5% de carboxy-methylcelulose. As placas foram incubadas à 28 °C por cinco dias e foram, então, inundadas com solução aquosa Vermelho de Congo 0,2% e descoradas com 1M de NaCl ($58,44 \text{ g L}^{-1}$) por 15 minutos. Para a detecção da atividade celulase foi avaliada a formação ou não de halo ao redor da colônia (Hankin & Anagnostakis, 1975; Sunitha et al., 2013).

5.1.1.3 Lipase

Cultivou-se os isolados bacterianos em Peptona Agar (peptona - 10g, NaCl - 5g, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - 0,1g, ágar - 16g, água destilada -1 L; pH 6,0) suplementado com Tween 20 esterilizado separadamente e adicionado 1% ao meio. As placas foram incubadas à 28 °C por cinco dias e para a detecção da atividade lipase foi avaliada a formação ou não de cristais de cálcio do ácido láurico liberado pela enzima, formando um precipitado ao redor da colônia (Hankin & Anagnostakis, 1975; Sunitha et al., 2013).

5.1.1.4 Pectinase

Cultivou-se os isolados bacterianos em meio Pectina Agar (Pectina - 5g, extrato de levedura - 1g, ágar - 15g, água destilada – 1 L, pH 5,0). As placas foram incubadas à 28 °C por cinco dias e foram, então, inundadas com solução a 1% de brometo de hexadeciltrimetilamônio, por uma hora. Para a detecção da atividade pectinase foi avaliada a formação ou não de halo ao redor da colônia (Hankin & Anagnostakis, 1975; Sunitha et al., 2013).

5.1.1.5 Protease

Cultivou-se os isolados bacterianos em meio Glucose Yeast Extract Peptone Agar (GYP) (glicose - 1g, extrato de levedura - 0,1g, peptona - 0,5 g, ágar - 16g, água destilada -1 L; pH 6,0) suplementado com 0,4% de gelatina em solução aquosa, esterilizada separadamente. As placas foram incubadas à 28 °C por cinco dias e foram, então, inundadas com sulfato de amônio aquoso saturado ($132,14 \text{ g L}^{-1}$). Para a detecção da atividade protease foi avaliada a formação ou não de halo ao redor da colônia (Hankin & Anagnostakis, 1975; Sunitha et al., 2013).

5.1.1.6 Quitinase

Cultivou-se os isolados bacterianos em meio descrito por Hsu & Lockwood (1975), que apresenta a quitina como única fonte de carbono (quitina coloidal - 4 g; K_2HPO_4 - 0,7 g; KH_2PO_4 - 0,3 g; $MgSO_4 \cdot 5H_2O$ - 0,5 g; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,01 g; $ZnSO_4$ - 0,001 g; $MnCl_2$ - 0,001 g; ágar - 20 g e água deionizada - 1 L; pH 8,0). As placas são incubadas e para a detecção da atividade quitinase foi avaliada a formação ou não de halo ao redor da colônia. A quitina coloidal foi preparada pela mistura de 50 g de quitina practical grade Sigma-Aldrich com 200 mL de HCl concentrado (70%) permanecendo sob agitação por 2 h. A mistura foi, então, filtrada à vácuo e o filtrado descartado. A quitina em forma de coloide retida no filtro foi lavada com 2 L de água destilada gelada várias vezes até atingir o pH 7,0. A quitina coloidal foi seca em estufa com circulação de ar a 40 °C, triturada e a granulometria padronizada com tamiz de 60 mesh (Yamaguchi, 2003).

5.1.1.7 Solubilização de fosfato inorgânico

De acordo Sylvester-Bradley et al. (1982) adicionou-se o fosfato insolúvel ao meio de cultura. Foi preparado e autoclavado separadamente 100 mL de solução de K_2HPO_4 a 10% e 50 mL de solução de $CaCl_2$ a 10% adicionados a 850 mL de meio de cultivo, formando um fino precipitado sobre a superfície do meio de cultura, correspondente ao fosfato inorgânico ($CaHPO_4$). O meio de cultura utilizado foi o NBRIP (glicose - 10g, $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ - 5g, $MgSO_4$ - 0.25g, KCl - 0.2g, $(NH_4)_2SO_4$ - 0.1g, ágar - 15g, água destilada - 1L; pH 7,0).

Para o centro das placas de Petri contendo meio NBRIP + $CaHPO_4$, foram transferidos 5 µL de suspensões bacterianas. Para a detecção da solubilização de fosfato foi avaliada a formação ou não de halo ao redor da colônia. A avaliação foi feita dez dias, medindo o DH. O potencial *in vitro* de solubilização de fósforo por rizobactérias é proporcional ao tamanho do halo de clareamento formado ao redor da colônia, classificado por Silva Filho e Vidor (2000) em três classes: isolados com baixo potencial de solubilização ($ISF < 2$), com médio potencial de solubilização ($2 < ISF < 3$) e com alto potencial de solubilização ($ISF > 3$).

5.1.2 Produção de biofilme

Cultivaram-se os isolados bacterianos em meio Ágar Vermelho Congo (CRA), modificado de Freeman et al. (1989) (ágar nutriente - 28 g; sacarose - 50 g; corante vermelho

congo - 0,8 g; água deionizada - 1 L). As placas foram incubadas à 28 °C por 48 h. A produção de colônias rugosas e pretas foram consideradas estirpes produtoras de biofilme, quando acompanhadas pela mudança da coloração do meio adjacente para preto e as colônias lisas e vermelhas foram consideradas como não produtoras de biofilme (Freeman et al., 1989). O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com dez tratamentos (isolados bacterianos + controle sem bactéria), em triplicata.

A quantificação de biofilme foi feita de acordo com metodologia descrita por Cucarella et al. (2004), adaptada. As bactérias foram cultivadas por 24 h a 37 °C sob agitação constante de 150 rpm, em meio Tryptic Soy Broth (TSB). O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com dez tratamentos (isolados bacterianos + controle com meio TSB, sem bactéria), em triplicata. As suspensões foram diluídas em água deionizada (1:200), suplementada com 0,25% de glicose e 200 µL de cada suspensão foram então incubadas em microplacas de ELISA, por 24 horas a 37 °C sob agitação constante de 150 rpm. Após, cada um dos poços foram lavados três vezes com 200 µL de 0,85% de solução salina estéril, incubadas em estufa a 60 °C até secagem da placa (+/- 30 minutos). Adicionou-se, então, 200 µL de cristal violeta por cinco minutos. Em seguida as placas foram lavadas com água destilada, e após secas, adicionou-se 200 µL de ácido acético à 33% e feito a leitura em espectrofotômetro a 570 nm utilizando o software Gen5. Foi considerado bactérias produtoras de biofilme aquelas com absorbância maior que 0,1 (Pereira & Vieira, 2001). A intensidade da produção de slime foi escalonada: forte (> 0,3), moderada (>0,2 e <0,3), fraca (>0,1 e <0,2) (Demo, 1996).

5.1.3 Produção de AIA

Cultivaram-se os isolados bacterianos em meio líquido Tryptic Soy Broth (TSB) diluído 10 vezes (0,4 g em 100 mL de água destilada) suplementado com 10 g L⁻¹ de dextrose, 5g L⁻¹ de extrato de levedura e 1 g L⁻¹ de triptofano (Tang & Bonner, 1947). O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com dez tratamentos (isolados bacterianos + controle com meio TSB, sem bactéria) e três repetições. Os isolados foram mantidos a 28 °C, sob agitação constante de 150 rpm, durante 24 horas, no escuro. Após, foram centrifugados a 10000 rpm durante 10 minutos e 1 mL do sobrenadante foi misturado com 5 mL de reagente de Salkowski (Ehmann, 1977) e a mistura transferida para poços de microplacas de ELISA, seguido da leitura da absorbância em 500 nm utilizando o software Gen5, após 30 minutos no escuro. A mudança de cor amarela do meio para

coloração vermelho alaranjada indicou a produção de AIA. A concentração de AIA no meio de cultura foi determinada pela comparação com uma curva padrão determinada previamente com concentrações conhecidas do fitoregulador. De acordo com a concentração de AIA detectada os isolados foram classificados em baixo produtor ($< 1 \mu\text{g.mL}^{-1}$); médio produtor ($1-10 \mu\text{g.mL}^{-1}$); alto produtor ($11-50 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e elevado produtor ($> 51 \mu\text{g.mL}^{-1}$) (Kavamura et al., 2013).

5.1.4 Produção de sideróforos

Cultivaram-se os isolados bacterianos, por sete dias, em meio King B (King et al., 1954) à 28 °C e sob agitação constante de 150 rpm. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com dez tratamentos (isolados bacterianos + controle com meio King B, sem bactéria), em triplicata. As suspensões bacterianas foram centrifugadas a 10000 rpm por 5 minutos e transferidos 150 μL do sobrenadante e homogeneizados com 150 μL de solução cromo azurol S (CAS) em poços de microplacas de ELISA, em triplicata. Depois de um repouso no escuro por 30 minutos, determinou-se a absorbância em espectrofotômetro no comprimento de onda 630 nm utilizando o software Gen5 (Alexander & Zuberer, 1991).

A quantificação de sideróforos foi determinada pela redução percentual na cor azul da solução, em unidades de sideróforos (SU%) comparado ao controle negativo, calculada pela fórmula: $\text{SU\%} = [(\text{Ar}-\text{A}) / \text{Ar}] \times 100$, onde Ar é a absorbância referência (controle negativo) e A é a absorbância da amostra (Payne, 1988).

5.1.5 Produção da enzima ACC deaminase

A estimativa de produção de amino ciclo propano carboxilato (ACC) deaminase foi feita utilizando o método descrito por Lucon et al. (2008). Os isolados de rizobactérias foram crescidos em meio líquido enriquecido com ACC por 48h a 28 °C, sob agitação constante. Foi utilizado um meio mínimo, com adição de 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) como única fonte de N (Glick et al., 1995), com a seguinte composição: 4 g de KH_2PO_4 ; 10 mg de H_3BO_4 ; 6 g de Na_2HPO_4 ; 10 mg de $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,2 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 70 mg de ZnSO_4 ; 1 mg de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 50 mg de CuSO_4 ; 2 g de glicose, 10 mg de MoO_3 ; 2 g de ácido glucônico, 2 g de ácido cítrico, 3 mM de ACC e 1 L de água destilada. Foram feitas três repetições para isolado e um tratamento controle (meio sem bactéria) e o experimento conduzido em delineamento inteiramente casualizado. A avaliação

final foi feita pela determinação da absorbância a 595 nm em espectrofotômetro utilizando o software Gen5, comparando as leituras com tratamento controle.

5.2 SELEÇÃO *IN VITRO* DE ISOLADOS RESISTENTES AS CONDIÇÕES DE DEFICIÊNCIA HÍDRICA INDUZIDA POR POLIETILENOGLICOL NA PRESENÇA DE ÁCIDO MONOSSILÍCICO ($\text{SiO}_2 \cdot \text{NH}_2\text{O}$)

As bactérias foram crescidas em meio caldo nutriente, por 48 h a 28 °C sob agitação constante de 150 rpm, ajustadas para concentração de 1×10^8 UFC mL^{-1} . O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial nove (isolados bacterianos) x oito (concentrações de polietilenoglicol - PEG-6000), e doze repetições. O PEG-6000 é uma substância que retém moléculas de água, simulando potencial osmótico. Em meio de cultura mínimo líquido M9 (glicose - 10g, NH_4Cl - 5g, K_2HPO_4 - 1g, NaCl - 5g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0.2g, água destilada - 1L; pH 6,8) enriquecido com ácido monossilícico ($0,5 \text{ g L}^{-1}$), foram adicionadas as diferentes concentrações de PEG-6000 para simular um gradiente de potencial osmótico: 0 g L^{-1} (0 MPa); $79,8 \text{ g L}^{-1}$ (-0,1 MPa); $121,1 \text{ g L}^{-1}$ (-0,2 MPa); $180,2 \text{ g L}^{-1}$ (-0,4 MPa); $264,2 \text{ g L}^{-1}$ (-0,8 MPa); $298,1 \text{ g L}^{-1}$ (-1,0 MPa) e $328,9 \text{ g L}^{-1}$ (-1,2 MPa), e um controle sem PEG-6000 e ácido monossilícico.

O experimento foi conduzido em microplacas de 96 poços. Para cada poço foram transferidos 60 μl da suspensão bacteriana e 90 μl de meio mínimo M9 enriquecido com ácido monossilícico e as diferentes concentrações de PEG 6000. As avaliações foram feitas registrando-se a densidade óptica (620 nm), para determinação da UFC, durante 48 h, estabelecendo uma curva de crescimento para cada tratamento. Apenas os dados do último horário foram submetidos a análise estatística.

5.3 DETERMINAÇÃO DE CÉLULAS VIÁVEIS

A determinação do número de células viáveis foi feita com os três melhores isolados (BRM 32110, BRM 32111 e BRM 63523), previamente selecionados no experimento do item 5.2. As bactérias foram cultivadas em caldo nutriente a 28 °C, enriquecido com ácido monossilícico ($0,5 \text{ g L}^{-1}$) e nas mesmas oito diferentes concentrações de PEG-6000 do ensaio 5.2 e um controle absoluto, sem PEG-6000 e ácido monossilícico. Procedeu-se então com diluições seriadas de fator 10 em diferentes intervalos de tempo (24h, 48h, 72h e 96h). Foram adicionadas alíquotas de 0,1 mL das diluições seriadas utilizadas e espalhadas com auxílio de alça de Drigalski em placas de Petri, em triplicata, contendo meio

de cultura ágar nutriente (28 g L^{-1}). As placas foram mantidas a temperatura de 28°C por 48 horas e o número de células viáveis foi estimado pela contagem de UFC, estabelecendo uma curva de crescimento para cada tratamento.

5.4 GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE PLANTAS DE ARROZ EM CONDIÇÕES DE DEFICIÊNCIA HÍDRICA INDUZIDA POR POLIETILENOGLICOL, NA PRESENÇA DE RIZOBACTÉRIAS E ÁCIDO MONOSSILÍCICO ($\text{SiO}_2\cdot\text{NH}_2\text{O}$)

Sementes de arroz da cultivar BRS Esmeralda, microbiolizadas com os três melhores isolados (BRM 32110, BRM 32111 e BRM 63523), previamente selecionados no experimento do item 5.2, foram testadas a germinação em tubos de ensaio. Para a microbiolização das sementes foram feitas suspensões bacterianas de cada um dos isolados, onde foram imersas sementes de arroz por 48 horas a 28°C e sob agitação constante de 150 rpm. Após este período, as sementes foram retiradas das suspensões, secas a temperatura ambiente e transferidas para os tubos. Foram usados tubos com capacidade de 100 mL e em cada um foi vertido 40 mL de meio de cultura sólido (Phytigel - 9 g, água destilada - 1 L, pH 6,8) enriquecido com ácido monossilícico ($0,5 \text{ g L}^{-1}$) e adicionadas as diferentes concentrações de PEG-6000 para simular um gradiente de potencial osmótico, conforme item 5.2. Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, com dez tratamentos (concentrações de PEG-6000 + tratamentos controles) e seis repetições. Foram feitos quatro tratamentos controles, todos sem adição de PEG-6000: 1) sementes não microbiolizadas na ausência de ácido monossilícico (T1); 2) sementes não microbiolizadas na presença de ácido monossilícico (T2); 3) semente microbiolizada na ausência de ácido monossilícico (T3); 4) semente microbiolizada na presença de ácido monossilícico (T4). Os tubos com as sementes foram mantidos por 15 dias em germinador de sementes, e no final as plântulas foram retiradas e fotografadas as raízes com câmera fotográfica modelo Nikon D7200 usando as lentes Nikon 18-105 mm (zoom) e Nikon macro 60 mm. As fotos das raízes foram processadas no programa *WinRhizo Pro* 2012b, estimando valores de comprimento e área total das raízes, assim como classificadas em três classes de diâmetro, como descrito a por Bhom (1979): raízes muito finas ($\varnothing$ inferior a 0,5 mm), raízes finas ($0,5 \varnothing < 2,0 \text{ mm}$) e raízes grossas ($\varnothing > 2,0 \text{ mm}$).

5.5 ANTAGONISMO *IN VITRO* ENTRE *M. oryzae* E AS RIZOBACTÉRIAS RESISTENTES AO POTENCIAL OSMÓTICO

Teste de antagonismo *in vitro* foi conduzido com os três isolados (BRM 32110, BRM 32111 e BRM 63523), previamente selecionados no experimento do item 5.2, utilizando o método de pareamento de culturas, conduzido em delineamento inteiramente ao acaso, com nove tratamentos e três repetições. As bactérias foram cultivadas em caldo nutriente a 28 °C enriquecido ácido monossilícico (0,5 g L⁻¹) e com oito diferentes concentrações de PEG-6000, conforme item 5.2, e um controle absoluto, sem PEG-6000 e ácido monossilícico. Discos de 5 mm de diâmetro de micélio de *M. oryzae* foram transferidos para o centro de placas de Petri contendo meio de cultura batata dextrose ágar (BDA), onde foram distribuídos 5 µl da suspensão bacteriana (1x10⁸ UFC.mL⁻¹) em quatro pontos equidistantes ao fungo, formando um quadrante, conforme descrito por Dennis & Webster (1971). Placas contendo apenas o disco de micélio de *M. oryzae* foram usadas como controle positivo. Após sete dias de incubação foi medido o diâmetro das colônias do fungo.

5.6 ENSAIO EM CASA DE VEGETAÇÃO

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

Sementes de arroz da cultivar BRS Esmeralda, foram previamente desinfetadas e microbiolizadas com o melhor isolado bacteriano (BRM 32111) selecionado de acordo com resultados dos itens 6.7, 6.8, 6.9 e 6.10. A desinfecção foi feita por imersão das sementes em álcool etílico 70 % (v/v) por 1 minuto, seguido de imersão em solução 2 % (v/v) de NaClO por 3 minutos, após, lavadas em água deionizada e colocadas sobre papel de filtro para secagem. Para a microbiolização, o isolado bacteriano BRM 32111 foi cultivado em caldo nutriente (13 g L⁻¹) a 28 °C por 24 h sob agitação constante de 150 rpm e, após, preparado suspensão bacteriana ajustada em espectrofotômetro a 540 nm para a concentração de 1x10⁸ UFC mL⁻¹. Em seguida, as sementes de arroz desinfetadas foram imersas na suspensão bacteriana e mantidas sob agitação constante de 150 rpm por mais 24

horas, a 28 °C. O controle foi feito pela imersão das sementes desinfectadas em água deionizada, nas mesmas condições. Após este período, as sementes foram retiradas da suspensão e secas em temperatura ambiente (Filippi et al., 2011).

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

As sementes foram semeadas em quatro fileiras nas bandejas (20 sementes por fileira) contendo solo coletado da área de cerrado não cultivada, corrigido com 1,5 g de calcário dolomítico e adubado com 1 g de NPK (5-30-15) e 0,5 g de sulfato de amônio, de acordo com análise de macro e micro nutrientes (pH $CaCl_2$: 4,63; argila: 620 g kg^{-1} ; silte: 140 g kg^{-1} ; areia: 240 g kg^{-1} ; K^+ : 0,30 cmol dm^{-3} ; P: 0,52 mg dm^{-3} ; Ca^{+2} : 1,20 cmol dm^{-3} ; Mg^{+2} : 0,60 cmol dm^{-3} ; Al^{+3} : 0,40 cmol dm^{-3} ; Si: 6,30 mg dm^{-3}). Em cada bandeja foi incorporado também 9 g de SiCaMg, relação proporcional a 2 ton ha^{-1} (Cortês et al., 2015), contendo 10,5 % de silício, 27 % de cálcio e 6 % de magnésio. Bandejas sem SiCaMg foram usadas como controle. Aos 7 e 15 dias após a semeadura (DAS) foram feitas adubações de cobertura com sulfato de amônio na proporção de 1,5 g por bandeja diluídos em 100 mL de água, distribuídos via rega. Aos 15 DAS as mesmas bandejas que receberam as sementes microbiolizadas, foram submetidas a uma pulverização foliar com suspensão bacteriana (1×10^8 UFC mL^{-1}) do mesmo bioagente, na dosagem de 100 mL bandeja⁻¹ (Filippi et al., 2011).

O déficit hídrico iniciou ao 22° DAS, onde as bandejas destinadas ao estresse foram submetidas a restrição total de água por quatro dias consecutivos, até o 25° DAS. As trocas gasosas foram avaliadas no último dia de déficit hídrico, no período de 8 e 10 horas. Foram avaliadas taxa fotossintética líquida (A), taxa de transpiração (E), condutância estomática (gs) e carbono interno (Ci). A partir dos valores e A e Ci foi obtido a eficiência de carboxilação da rubisco (A/Ci), e de A e E a eficiência do uso da água (A/E). Foi utilizado o analisador de gases infravermelhos (IRGA- Infrared Gas Analyzer), modelo LCpro + ADC

BioScientific. As medições foram realizadas em área de folha de 1,5 cm² e o fluxo de ar na câmara na concentração de CO₂ de 380 mmol mol⁻¹. Foi utilizado uma densidade de fluxo de fótons (PPFD) de 1200 μmol m⁻² s⁻¹, com uma fonte de luz LED azul-vermelho e a temperatura da câmara foi de 28 °C.

5.6.1 Inoculação com *M. oryzae*

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

Aos 26 dias de cultivo as plantas foram transferidas para a sala de inoculação, onde foram mantidas em gaiolas vedadas com plástico transparente, em condições ambientais controladas, com temperatura entre 27 e 30° C e umidade relativa acima de 80 %. Por meio de uma bomba de pressão e uma pistola de aspersão, com pressão de 0,001 kg cm⁻², as folhas foram pulverizadas com 30 mL gaiola⁻¹ da suspensão de conídios (Filippi et al., 2007). Para severidade de brusone foram feitas 4 avaliações (1, 3, 5 e 7 dias após a inoculação) com o objetivo de calcular a Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD). As avaliações foram realizadas com o auxílio de uma escala de severidade (0%, 0,5%, 1%, 2%, 4%, 8%, 16%, 32%, 64%, 82%) de acordo com Notteghem (1981), determinando a porcentagem da área foliar afetada pela doença.

5.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para ensaios de enzimas extracelulares, biofilme, AIA, sideróforos e ACC deaminase, solubilização de fosfato inorgânico e ensaio em casa de vegetação foram realizados teste de Tukey (p<0,05). Para ensaio de seleção *in vitro* de isolados resistentes as condições de deficiência hídrica induzida por polietilenoglicol na presença de ácido monossilícico (SiO₂.nH₂O), e antagonismo *in vitro* também foram realizados teste de Tukey

($p < 0,05$) e ainda realizada análise de regressão polinomial. Para ensaio de germinação *in vitro* foi realizado teste de Skott Knott ($p < 0,05$). O programa usado para as análises foi o *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 21.0.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 PRODUÇÃO DE ENZIMAS EXTRACELULARES

Todos os isolados bacterianos testados produziram pelo menos uma enzima extracelular, evidenciando, assim, o potencial biotecnológico de cada um deles (Tabela 1).

Tabela 1. Produção de enzimas extracelulares por nove isolados bacterianos, em condições de laboratório

Códigos ⁽¹⁾	Taxonomia ⁽²⁾	Índices Enzimáticos (IE) ⁽³⁾					
		Ami. ⁽⁴⁾	Celul. ⁽⁵⁾	Lipa. ⁽⁶⁾	Pecti. ⁽⁷⁾	Prote. ⁽⁸⁾	Quiti. ⁽⁹⁾
BRM 32109	<i>Bacillus cereus</i>	2,11 ^{ab}	1,36 ^{bc}	2,16 ^{cde}	1,00 ^a	1,00 ^b	1,56 ^{ab}
BRM 32110	<i>Bacillus thuringiensis</i>	1,51 ^{bc}	1,41 ^{bc}	1,93 ^{de}	1,00 ^a	1,00 ^b	1,62 ^{ab}
BRM 32111	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1,00 ^c	1,00 ^c	2,91 ^{ab}	1,00 ^a	1,00 ^b	1,49 ^{ab}
BRM 32112	<i>Pseudomonas</i> sp.	1,00 ^c	1,00 ^c	3,21 ^a	1,00 ^a	1,00 ^b	1,45 ^{ab}
BRM 32113	<i>Burkholderia pyrrocinia</i>	1,00 ^c	1,59 ^b	2,56 ^{bcd}	1,00 ^a	1,00 ^b	1,41 ^{ab}
BRM 32114	<i>Serratia</i> sp.	1,00 ^c	4,41 ^a	2,46 ^{bcd}	1,00 ^a	2,45 ^a	1,31 ^b
BRM 63523	<i>Serratia marcescens</i>	2,45 ^a	1,67 ^b	1,77 ^e	1,00 ^a	1,00 ^b	1,77 ^a
BRM 63521	<i>Serratia marcescens</i>	1,98 ^{ab}	1,00 ^c	2,47 ^{bcd}	1,00 ^a	1,00 ^b	1,61 ^{ab}
BRM 63522	<i>Serratia</i> sp.	1,72 ^b	1,68 ^b	2,57 ^{bc}	1,00 ^a	1,00 ^b	1,66 ^{ab}

⁽¹⁾Códigos numérico de isolados de rizobactérias da Coleção de Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Arroz e Feijão; ⁽²⁾Classificação taxonômica de cada isolado, descrita por Martins et al. (2020); ⁽³⁾Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05), Índice enzimático (IE) de média igual a 1,00 são considerados não produtores, IE = DH (Diâmetro do halo) / DC (Diâmetro da colônia); ⁽⁴⁾Amilase; ⁽⁵⁾Celulase; ⁽⁶⁾Lipase; ⁽⁷⁾Pectinase; ⁽⁸⁾Protease; ⁽⁹⁾Quitinase.

Os isolados BRM 32114, BRM 32109, BRM 32110, BRM 32113, BRM 63523 e BRM 63522 apresentaram atividade celulolítica correspondendo 66,67% dos isolados testados, com destaque para BRM 32114 que apresentou índice enzimático (IE) de 4,41. As enzimas celulolíticas e amilolíticas, atuam na degradação de resíduos e biomassa vegetais indicando a participação destes microrganismos na ciclagem do carbono nos solos (Cordeiro et al., 2012; Shan et al., 2008). A celulase desempenha papel importante na sobrevivência de microrganismos em condições de déficit hídrico, onde não somente as plantas são afetadas.

Os microrganismos produtores de celulase, incluso rizobactérias, em esforço para sobreviver e prevalecer pela alta competição microbiana na região da rizosfera, usam de seu potencial celulolítico para degradar parede celular das raízes das plantas, penetrando no apoplasto e alcançando o feixe vascular (xilema) se estabelecendo como endófitas (Khan et al., 2016) onde conseguem sobreviver e desempenhar suas atividades metabólicas normais, contribuindo para nutrição, aumento da taxa de sobrevivência e adaptação da plantas ao ambiente (Enebe & Babalola, 2018). Ramos et al. (2018) avaliando o potencial celulolítico, amilolítico e proteolítico de 49 isolados de bactérias de solo cultivado com milho, também encontraram diferença significativa no IE e atribuem essa diferença a composição nutricional do ambiente que a bactéria foi isolada, encontrando diferenças entre isolados rizosféricos e não rizosféricos. Neste estudo, os isolados BRM 32109 e BRM 32112 foram isolados da filosfera do arroz, os demais da rizosfera.

A atividade amilolítica foi observada em cinco isolados (55,56%) tendo BRM 32109, BMR 32110s, BRM 63523, BRM 63521 e BRM 63522 diferido estatisticamente dos demais isolados que não apresentaram atividade para essa enzima. Amilases são enzimas que possuem a habilidade de clivar as ligações glicosídicas presentes nas moléculas de amido, liberando dextrina e pequenos polímeros compostos por unidades de glicose (Das & Varma, 2011). Já lipase e quitinase foram produzidas por todos os isolados, enquanto que protease apenas por BRM 32114 e nenhum isolado produziu pectinase. Herrera-Quiterio et. al (2020), testaram 151 isolados de rizobactérias e detectaram a produção enzimática em 66,7%, produzindo celulasas, amilases, e em maiores quantidades, protease e lipase.

6.2 SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO INORGÂNICO

Todos os isolados, exceto BRM 32109, apresentaram capacidade de solubilizar fosfato inorgânico, formando halo de solubilização em torno da colônia (Figura 3). O isolado BRM 32113 destacou significativamente, apresentando a maior média no índice de solubilização (IS), igual a 1,67 (Tabela 2).

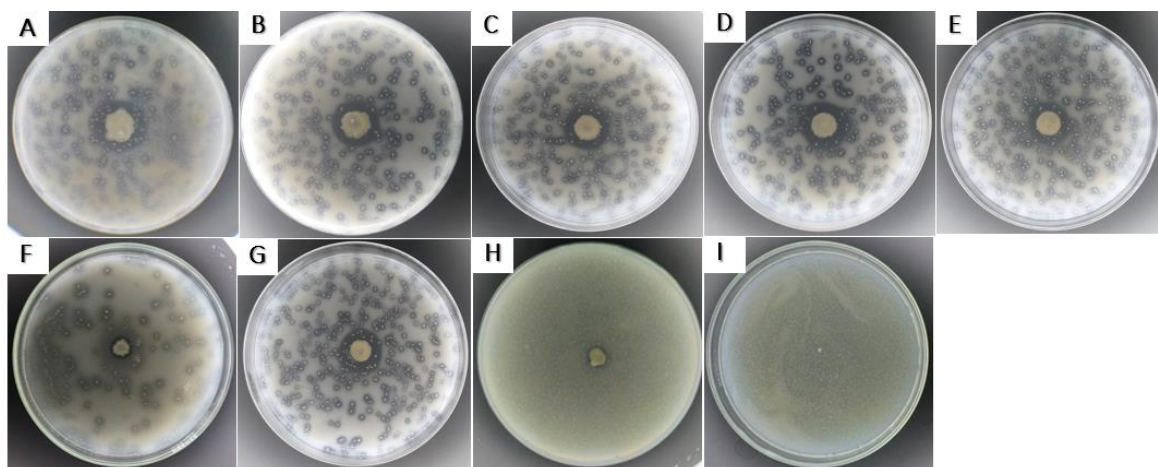


Figura 3. Solubilização de fosfato inorgânico por rizobactérias cultivadas em meio National Botanical Research Institute Phosphate (NBRIP) suplementado com fosfato de cálcio. (A) *Burkholderia pyrrocinia* (BRM 32113); (B) *Serratia marcescens* (BRM 63523), (C) *Serratia* sp. (BRM 32114); (D) *Serratia* sp. (BRM 63522); (E) *Serratia marcescens* (BRM 63521); (F) *Bacillus thuringiensis* (BRM 32110); (G) *Pseudomonas* sp. (BRM 32112); (H) *Pseudomonas fluorescens* (BRM 32111); (I) *Bacillus cereus* (BRM 32109)

Das duas rizobactérias do gênero *Bacillus*, uma foi solubilizadora de fosfato (BRM 32110). Silva (2017) também detectou isolados de *Bacillus subtilis* capazes de solubilizar fosfato, confirmando o potencial do gênero *Bacillus*. De acordo com o autor, o potencial de solubilização é proporcional ao tamanho do halo relacionado ao tamanho da colônia. Das rizobactérias que apresentaram capacidade em solubilizar fosfato, *Burkholderia pyrrocinia* se destacou apresentando maior índice de solubilização, igual a 1,67. Os resultados corroboram com trabalho de Lemos (2009), que ao avaliar a capacidade de solubilização de fosfato por rizobactérias, encontrou *Burkholderia* sp. como mais eficiente, apresentando o maior índice de solubilização, igual a 3,83, e ainda com aumento na produção e qualidade de grãos de arroz quando testadas em casa de vegetação. Karpagam & Nagalaksh (2014) a partir de amostras de rizosfera de tomate, também encontraram resultados satisfatórios, conseguindo identificar 37 isolados bacterianos com capacidade de solubilizar fósforo, dentre elas rizobactérias do gênero *Pseudomonas* e *Bacillus*.

Tabela 2. Diâmetro do halo, da colônia e de índice de solubilização de fosfato inorgânico por nove rizobactérias cultivadas em meio NBRIP suplementado com fosfato de cálcio, em condições de laboratório

Códigos ⁽¹⁾	Taxonomia ⁽²⁾	DH	DC	IS ⁽³⁾
BRM 32113	<i>Burkholderia pyrrocinia</i>	10,02	6,35	1,67 a
BRM 63523	<i>Serratia marcescens</i>	12,26	8,21	1,49 ab
BRM 32114	<i>Serratia</i> sp.	10,07	7,02	1,44 ab
BRM 63522	<i>Serratia</i> sp.	12,13	9,53	1,28 ab
BRM 63521	<i>Serratia marcescens</i>	8,94	7,73	1,16 ab
BRM 32110	<i>Bacillus thuringiensis</i>	8,43	7,69	1,11 b
BRM 32112	<i>Pseudomonas</i> sp.	6,29	5,88	1,07 b
BRM 32111	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	7,47	7,43	1,06 b
BRM 32109	<i>Bacillus cereus</i>	1,32	1,32	1,00 b

⁽¹⁾Códigos numérico de isolados de rizobactérias da Coleção de Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Arroz e Feijão; ⁽²⁾Classificação taxonômica de cada isolado, descrita por Martins et al. (2020); ⁽³⁾Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Duncan (p<0,05), Índice de Solubilização (IS) de média igual a 1,00 são considerados não solubilizadores de fósforo, IS = DH (Diâmetro do halo) / DC (Diâmetro da colônia).

O fósforo é um dos elementos mais solicitados para o crescimento e desenvolvimento das plantas, sendo componente estrutural de muitas coenzimas, do ácido desoxirribonucleico (DNA) e de fosfolipídeos, além de essencial no processo de fotossíntese, metabolismo do carbono e formação de membrana (Baby et al., 2016). No solo, o fósforo encontra-se indisponível para as plantas (Novais & Smyth, 1999) retido em partículas, devido sua forte ligação com íons de ferro (Fe^{+3}), alumínio (Al^{+2}) e cálcio (Ca^{+}), acumulando na formação de fosfatos inorgânicos (Baby et al., 2016). As rizobactérias solubilizam compostos de fósforo insolúveis quando produzem ácidos e enzimas fosfatases, principalmente fosfatases ácidas. Fosfatases ácidas solubilizam formas precipitadas de fósforo atuando como fontes de prótons ou quelando elemento acompanhante do íon fosfato (Marra et al., 2012).

A capacidade de solubilizar fosfato inorgânico apresentada pelos oito isolados de rizobactérias evidenciam participação direta no desenvolvimento e na produtividade das plantas. Além disso, em condições de déficit hídrico, as rizobactérias desempenham papel importante. A seca afeta a difusão e mobilidade de nutrientes no solo devida a sua má estruturação e as rizobactérias participam do arranjo e melhoria da estrutura do solo para adequada aeração, absorção e migração de água, juntamente com nutrientes, tornando a

planta mais resiliente ao estresse induzido pela falta adequada de água para a planta (Igiehon & Babalola, 2017; Alori et al. 2017).

6.3 PRODUÇÃO DE BIOFILME

Todos os isolados foram capazes de produzir biofilme em meio ágar vermelho congo, apresentando produção de colônias rugosas e escuras acompanhadas pela mudança da coloração do meio adjacente para preto (Figura 4).

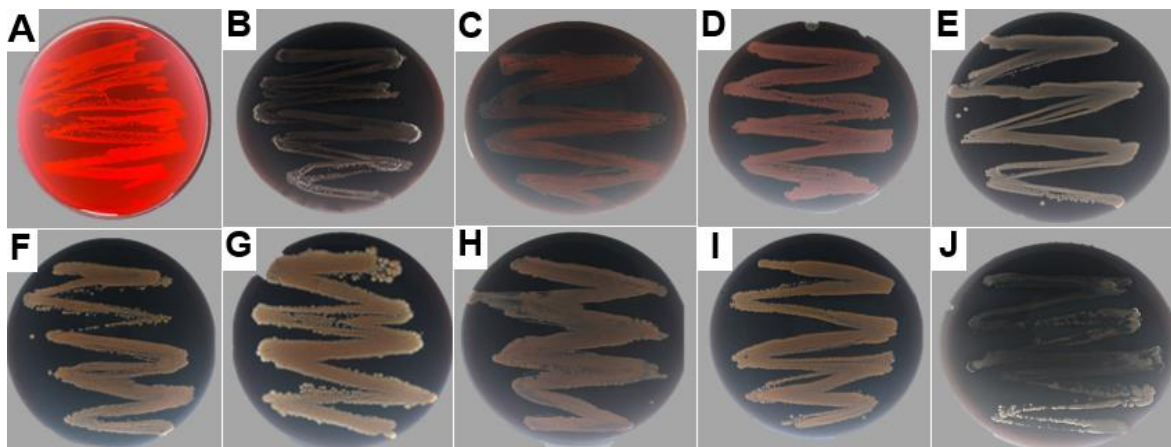


Figura 4. Produção de biofilme por rizobactérias em meio ágar vermelho congo. Colônias rugosas e pretas quando acompanhadas pela mudança da coloração do meio adjacente para preto são consideradas produtoras de biofilme. (A) Controle; (B) *Pseudomonas* sp. (BRM 32112); (C) *Bacillus thuringiensis* (BRM 32110); (D) *Bacillus cereus* (BRM 32109); (E) *Serratia* sp. (BRM 32114); (F) *Serratia marcescens* (BRM 63521); (G) *Serratia* sp. (BRM 63522); (H) *Serratia marcescens* (BRM 63523); (I) *Burkholderia pyrrocinia* (BRM 32113) e (J) *Pseudomonas fluorescens* (BRM 32111).

A produção de biofilme foi confirmada quantitativamente para os nove isolados, crescidos em microplacas contendo meio TSB e coradas com cristal violeta (Tabela 3). Dentre os isolados, BRM 32113 se destacou, sendo classificada, de acordo com Demo (1996) e baseado no valor da absorbância ($> 0,3$), como fortemente produtora de biofilme. Já os isolados BRM 32114, BRM 32112, BRM 63523, BRM 63521 e BRM 63522 apresentaram moderada produção, apresentando valores de absorbância entre 0,2 e 0,3. A fraca produção de biofilme foi detectada nos isolados de BRM 32109, BRM 32110 e BRM 32111, cuja absorbância encontrou-se com valores entre 0,1 e 0,2.

Vários autores relataram a formação de biofilme por bactérias, incluindo as dos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas*. Kavamura et al. (2013) observaram a produção de biofilme em condições estressantes por bactérias do gênero *Bacillus*, isolado de cactáceas de

semiárido brasileiro. Outros gêneros como *Paenibacillus* também são capazes de colonizar raízes de plantas e formar biofilme (Timmusk, 2005).

Tabela 3. Produção qualitativa e quantitativa de biofilme por nove isolados de rizobactérias, em condições de laboratório

Códigos ⁽¹⁾	Taxonomia ⁽²⁾	Teste para biofilme	
		Vermelho Congo ⁽³⁾	Microplaca com corante cristal violeta ⁽⁴⁾
BRM 32109	<i>Bacillus cereus</i>	+	fraca
BRM 32110	<i>Bacillus thuringiensis</i>	+	fraca
BRM 32111	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	+	fraca
BRM 32112	<i>Pseudomonas</i> sp.	+	moderada
BRM 32113	<i>Burkholderia pyrrocinia</i>	+	forte
BRM 32114	<i>Serratia</i> sp.	+	moderada
BRM 63523	<i>Serratia marcescens</i>	+	moderada
BRM 63521	<i>Serratia marcescens</i>	+	moderada
BRM 63522	<i>Serratia</i> sp.	+	moderada

⁽¹⁾Códigos numérico de isolados de rizobactérias da Coleção de Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Arroz e Feijão; ⁽²⁾Classificação taxonômica de cada isolado, descrita por Martins et al. (2020); ⁽³⁾Produção qualitativa de biofilme em meio ágar vermelho congo (CRA); ⁽⁴⁾Quantificação de biofilme pelo teste em microplaca coradas com corante cristal violeta, escalonada a intensidade da produção de slime de acordo com absorbância (570 nm): forte (> 0,3), moderada (>0,2 e <0,3), fraca (>0,1 e <0,2).

Durante o crescimento vegetal o biofilme pode auxiliar na colonização radicular (Ramey et al., 2004), proteger as células da privação de nutrientes, fagocitose e alterações de pH (Jefferson, 2004) e também, através da secreção de substâncias polissacarídicas, pode conferir estabilidade as plantas em condições limitantes de água (Kasim et al., 2016). Os exopolissacarídeos constituintes do biofilme são altamente hidratados e conseguem reter água no interior de suas moléculas (Flemming et al., 2000), conferindo-lhes característica hidrofílica, com maior capacidade de absorção e retenção de água. Rizobactérias habitantes da região da rizosfera das plantas e produtoras de biofilme conseguem proteger as raízes da dureza de secagem do solo (Rolli et al. 2014; Rossi et al., 2012).

6.4 PRODUÇÃO DE AIA

Todos os nove isolados mostraram habilidade em sintetizar AIA na presença do precursor L-triptofano, com valores variando entre 1,4 e 10,66 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Figura 5), classificando os isolados como médio e alto produtores. De acordo com a concentração de AIA detectada, temos: $< 1 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (baixa produção); $1\text{-}10 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (média produção); $11\text{-}50 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (alta produção) e $> 51 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (elevada produção) (Kavamura et al., 2013).

O isolado BRM 32111 apresentou alta produção ($10,66 \mu\text{g mL}^{-1}$) deste hormônio, produzindo significativamente mais AIA que os demais isolados. BRM 32114 ($7,38 \mu\text{g mL}^{-1}$), BRM 32113 ($7,07 \mu\text{g mL}^{-1}$), BRM 32110 ($5,74 \mu\text{g mL}^{-1}$), BRM 32109 ($5,05 \mu\text{g mL}^{-1}$), BRM 32112 ($4,99 \mu\text{g mL}^{-1}$), BRM 63521 ($2,43 \mu\text{g mL}^{-1}$), BRM 63523 ($1,85 \mu\text{g mL}^{-1}$) e BRM 63522 ($1,40 \mu\text{g mL}^{-1}$) produziram média concentração de AIA. Segundo Mirza et al. (2001), a síntese dessa auxina pode ser influenciada pelas condições de cultura, estágio de desenvolvimento e disponibilidade de substrato. Isso pode explicar a variação na síntese de AIA por linhagens pertencentes ao mesmo gênero.

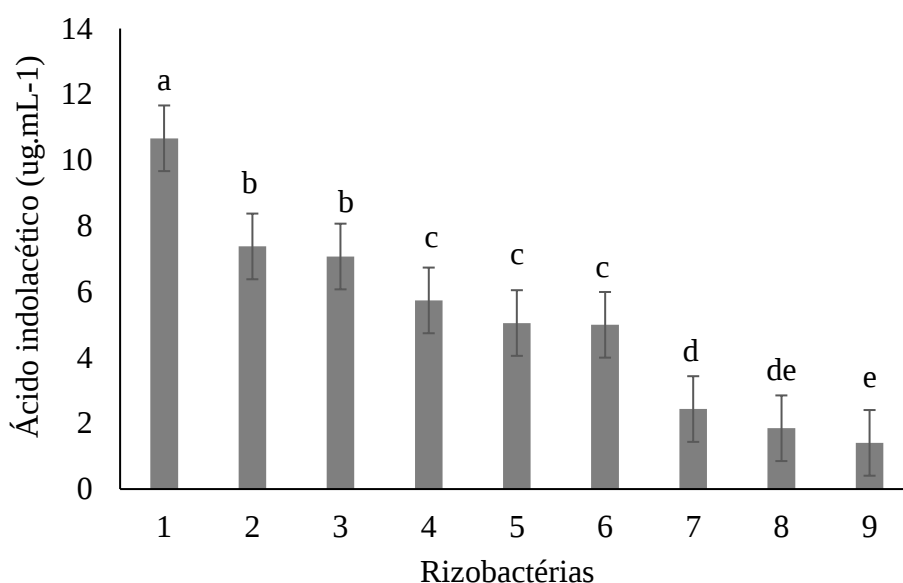


Figura 5. Produção de ácido indolacético (AIA) por rizobactérias. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). (1) *Pseudomonas fluorescens* (BRM 32111); (2) *Serratia* sp. (BRM 32114); (3) *Burkholderia pyrrocinia* (BRM 32113); (4) *Bacillus thuringiensis* (BRM110); (5) *Bacillus cereus* (BRM 32109); (6) *Pseudomonas* sp. (BRM 32112); (7) *Serratia marcescens* (BRM 63521); (8) *Serratia marcescens* (BRM 63523); (9) *Serratia* sp. (BRM 63522).

As rizobactérias são conhecidas pela sua promoção de crescimento em plantas, principalmente pela produção de hormônios vegetais, citocinas e auxinas (Karadeniz et al.,

2006). Sasirekha et al. (2012) verificou em trabalhos com gênero *Pseudomonas* a produção de AIA entre 80 e 132 $\mu\text{g mL}^{-1}$, em meio suplementado com diferentes dosagens de L-triptofano. Meliani et al. (2017) também em seus trabalhos com *Pseudomonas putida* e *Pseudomonas fluorescens*, em meio suplementado com 0,2 g L⁻¹ de L-triptofano, verificou a produção de 116 e 89 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de AIA, respectivamente.

O gênero *Bacillus* também é muito estudado e conhecido pela elevada produção de AIA e promissora promoção de crescimento em plantas (Karadeniz et al., 2006). Essa capacidade é relatada por vários autores como Moreira e Araújo (2013) que ao analisarem a produção de AIA por 127 isolados de *Bacillus* sp. observaram a produção do fitormônio por todos os isolados e 85% produziram entre 4 e 8 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Ali et al. (2010) ao analisarem linhagens do gênero *Bacillus*, verificou que *B. subtilis*, *B. pumilus* e *B. megaterium* propiciou o crescimento de *Vigna radiata*, resultado da produção de auxinas, como AIA.

6.5 PRODUÇÃO DE SIDERÓFOROS

Dentre os isolados avaliados, todos foram capazes de produzir sideróforos (Figura 6). Os isolados de *Pseudomonas* sp. e *P. fluorescens* foram os que obtiveram melhores resultados, produzindo 85,7 e 83,5% SU, respectivamente. Seguidamente as maiores produções foram dos isolados BRM 63521 (55,8 %SU), BRM 63523 (54,6 %SU), BRM 32110 (53,1 %SU), BRM 63522 (47,0 %SU), BRM 32114 (46,0 %SU), BRM 32113 (34,7 %SU) e com a menor produção, BRM 32109 (7,3 %SU). O meio de cultura KB, devido à ausência de Fe, induz a produção de sideróforos pelos isolados bacterianos. Desse modo, o Fe presente na solução de CAS é complexado e sequestrado pelos sideróforos, liberando o corante, o que resulta na mudança de coloração do meio de cultura (Alexander & Zuberer, 1991).

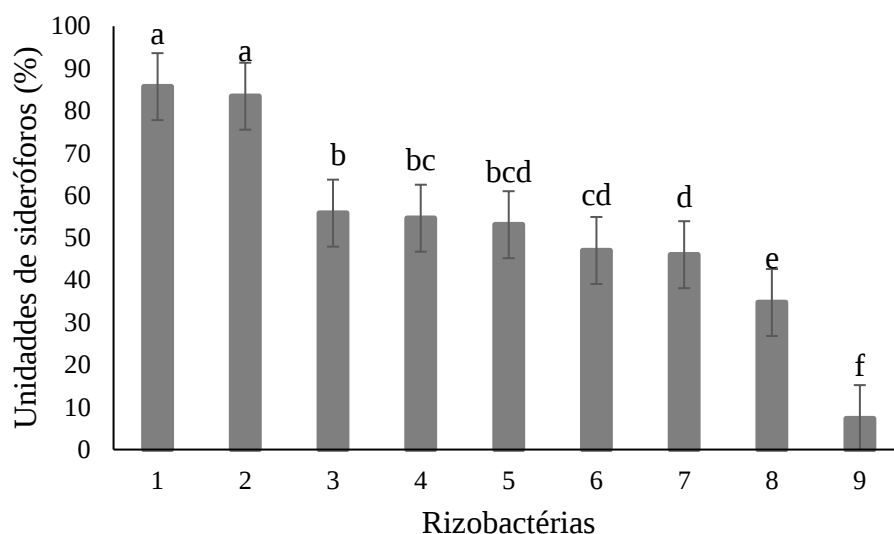


Figura 6. Produção de sideróforos por rizobactérias em porcentagem de unidades de sideróforos (SU%), obtido por $SU\% = [(Absorbância\ do\ controle - Absorbância\ da\ amostra) / Absorbância\ do\ controle] \times 100$. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). (1) *Pseudomonas* sp. (BRM 32112); (2) *Pseudomonas fluorescens* (BRM 32111); (3) *Serratia marcescens* (BRM 63521); (4) *Serratia marcescens* (BRM 63523); (5) *Bacillus thuringiensis* (BRM 32110); (6) *Serratia* sp. (BRM 63522); (7) *Serratia* sp. (BRM 32114); (8) *Burkholderia pyrrocinia* (BRM113); (9) *Bacillus cereus* (BRM 32109).

O ferro é um micronutriente essencial às plantas, entretanto é insolúvel na solução do solo (Siddiqui, 2005). As rizobactérias sintetizam e liberam compostos químicos de baixa massa molecular, os sideróforos, que apresentam altíssima afinidade por ferro, aumentando a sua absorção (Saha et al., 2013). A adoção de rizobactérias produtoras de sideróforos no manejo integrado de doenças do arroz, permite o revestimento das raízes das plantas com Fe e protege contra fitopatógenos (Gray & Smith, 2005; Solanki et al., 2014; Naureen et al., 2015).

O gênero *Pseudomonas* é bastante estudado pelo seu potencial em produção de sideróforos como relatado por Sharma et al. (2017) que em trabalhos com *Pseudomonas* sp. observou que a produção dos isolados variou entre 25,92 e 43,32 %SU, corroborando com os nossos resultados. Os isolados *Pseudomonas* sp. e *P. fluorescens* em sete dias de cultivo produziram de 85,7 e 83,5 %SU, respectivamente. Ma et al. (2016) estudaram um isolado de *Pseudomonas* sp. e também observaram produção de sideróforos detectado pela formação de halo ao redor das colônias cultivadas em meio de cultura sólido.

Batista et al. (2018) ao avaliar 30 isolados de rizobactérias, observaram que os isolados *Bacillus cereus*, *Burkholderia gladioli*, *Bacillus megaterium* e *Pantoea ananatis* foram os mais eficientes na produção de sideróforos. Ghosh et al (2016) em seu trabalho detectou alta produção de sideróforos por três estirpes de *Burkholderia*, delimitando o

potencial dos isolados para aplicação biotecnológica e uso como bioinoculantes na agricultura.

6.6 PRODUÇÃO DA ENZIMA ACC DEAMINASE

Os nove isolados foram capazes de crescer em meio de cultura contendo ACC como única fonte de nitrogênio (Figura 7), indicando que provavelmente possuem a enzima ACC deaminase, a qual é responsável por clivar o composto ACC, precursor imediato do etileno.

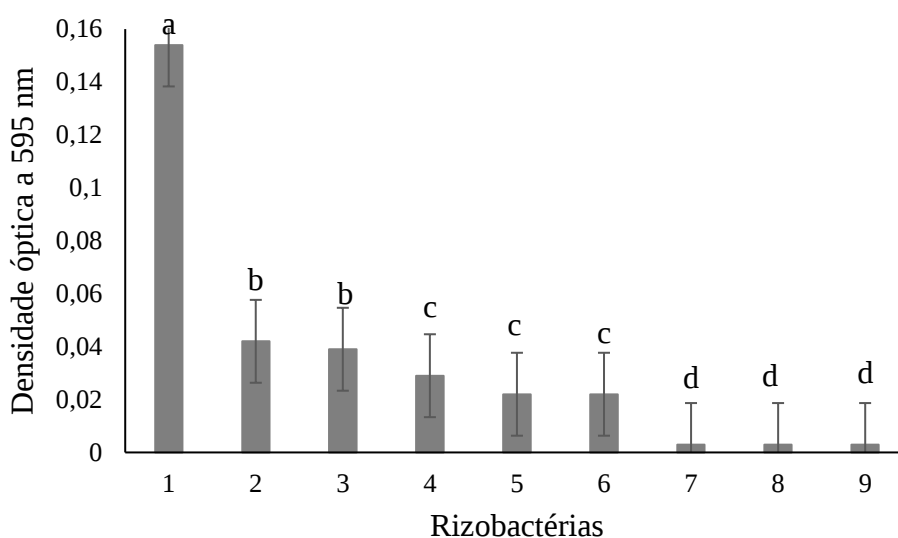


Figura 7. Produção da enzima ACC deaminase por rizobactérias. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). (1) *Pseudomonas fluorescens* (BRM 32111); (2) *Serratia* sp. (BRM 63522); (3) *Serratia marcescens* (BRM 63521); (4) *Burkholderia pyrrocinia* (BRM 32113); (5) *Serratia marcescens* (BRM 63523); (6) *Serratia* sp. (BRM 32114); (7) *Bacillus thuringiensis* (BRM 32110); (8) *Bacillus cereus* (BRM 32109) e (9) *Pseudomonas* sp. (BRM 32 112).

A associação de bactéria produtora de ACC deaminase com plantas é de extrema importância principalmente sob condições limitantes de água (Glick, 2005). Em condições de estresse as plantas tendem a aumentar a síntese de etileno e em altas concentrações esse fitormônio tende a ser negativo causando efeito deletério nas plantas, resultando em senescência precoce, inibição do alongamento radicular e apodrecimento dos frutos (Saleh-Lakha et al., 2004). As bactérias com atividade de ACC deaminase são capazes de reduzir os níveis de etileno nas plantas através da degradação do seu precursor (Prigent-Combaret et al., 2008) diminuindo a produção de ACC nas raízes, resultando em seu alongamento (Glick et al., 1998).

Muitos trabalhos relatam a importância do efeito de bactérias produtoras de ACC deaminase na melhora do desempenho de plantas submetidas a vários tipos de estresse, como o déficit hídrico (Arshad et al., 2008). Rizobactérias do gênero *Bacillus* e *Paenibacillus* já foram constatas como produtoras de ACC deaminase (Kavamura et al., 2013). Marques et al. (2010), avaliando isolados bacterianos na promoção de crescimento em milho constatarem atividade significativa da ACC deaminase em 50% dos isolados.

6.7 SELEÇÃO *IN VITRO* DE ISOLADOS RESISTENTES AS CONDIÇÕES DE DEFICIÊNCIA HÍDRICA INDUZIDA POR POLIETILENOGLICOL NA PRESENÇA DE ÁCIDO MONOSSILÍCICO ($\text{SiO}_2\cdot\text{NH}_2\text{O}$)

Todos os isolados resistiram aos diferentes potenciais osmóticos aos quais foram submetidos, mantendo o seu crescimento, embora reduzido (Figura 8). Com base nas curvas de crescimento das rizobactérias, observou-se que, para todos os isolados, a fase log ocorreu até às 21 h, com crescimento exponencial. Desse horário em diante, até às 48 h, permanecem na fase estacionária, mantendo o equilíbrio entre o número de células novas produzidas e o número de morte celular. Todos os isolados exibiram um padrão de crescimento semelhante em resposta aos diferentes déficits hídricos induzido pelo PEG-6000, com a taxa de crescimento, observado nas curvas, todas menores que o tratamento controle no potencial osmótico de 0 MPa e presença de ácido monossilícico. No entanto os isolados de BRM 32110, BRM 32111 e BRM 63523 apresentaram um padrão de crescimento mais estável e próximo ao controle, mediante também ao maior crescimento bacteriano, detectado pela leitura de absorbância. Em contrapartida os isolados BRM 63521, BRM 63522 e BRM 32109, nos diferentes potenciais osmóticos e na presença de ácido monossilícico foram os mais instáveis, apresentando curvas de crescimento distante ao controle, e uma taxa de crescimento bacteriano inferior.

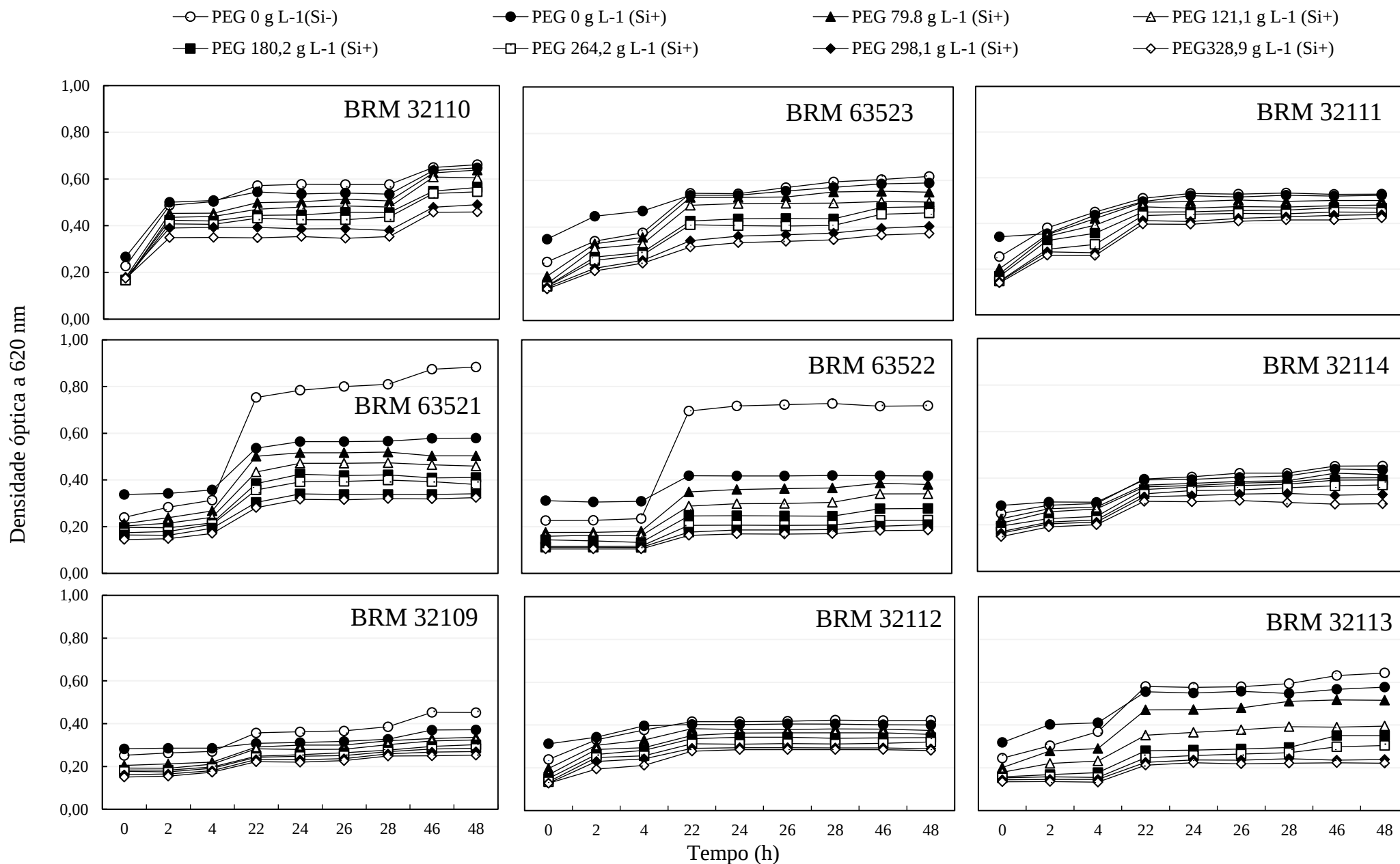


Figura 8. Curvas de crescimento bacteriano em meio de cultura contendo polietilenoglicol (PEG-6000) e na presença de ácido monossilícico (0,5 g L⁻¹). *Bacillus thuringiensis* (BRM 32110); *Serratia marcescens* (BRM 63523); *Pseudomonas fluorescens* (BRM 32111); *Serratia marcescens* (BRM 63521); *Serratia* sp. (BRM 63522); *Serratia* sp. (BRM 32114); *Bacillus cereus* (BRM 32109); *Pseudomonas* sp. (BRM 32112) e *Burkholderia pyrracinia* (BRM 32113).

Observou-se diferença estatística entre os diferentes potenciais osmóticos e na presença de ácido monossilícico e os diferentes bioagentes testados, na taxa crescimento bacteriano. Os três bioagentes que significativamente destacaram foram os isolados BRM 32110, BRM 32111 e BRM 63523 que mesmo no maior potencial osmótico (-1,2 Mpa), apresentaram média de crescimento superior aos demais isolados. Além de serem os isolados que mais suportaram a pressão osmótica simulada pelas doses de PEG (Tabela 4).

BRM 32110 suportou até o potencial osmótico de -1,0 sem diferir estatisticamente do controle (0 MPa) e BRM 32111 suportou até -0,8 MPa, apresentando taxa de crescimento estatisticamente igual ao controle, mesmo no maior potencial osmótico -1,2 Mpa (Tabela 4). A análise de regressão mostrou que a relação entre as doses de polietilenoglicol e a taxa de crescimento bacteriano foi linear. De acordo com a regressão, o PEG-6000 influenciou no crescimento bacteriano, com significância para todos isolados (Figura 9).

As rizobactérias são essenciais para reciclagem de nutrientes (Glick, 2012) e comumente usadas como biofertilizantes para melhorar o crescimento, produtividade e até mesmo auxiliar a planta em condições estressantes (Ghevariya & Desai, 2014) mitigando efeitos negativos impostos por condições adversas do ambiente (Kumar et al., 2012). Quando aplicadas no solo, aumentam o número de microrganismos benéficos e a taxa de processos microbianos proporcionando tolerância ao déficit hídrico para plantas que se desenvolvem com poucas disponibilidades de água (Marulanda et al., 2009). Concomitante, o Si, quando depositado nas células vegetais, participa de atividades metabólicas e fisiológicas das plantas (Gunes et al., 2008) atuando na indução de tolerância ao déficit hídrico (Zanetti, et al, 2016), pela polimerização do ácido monossilícico, que diminui a flexibilidade da parede dos estômatos e induzindo o seu fechamento e por conseguinte, diminuindo a transpiração e a perda de água (Luz, et al., 2006; Taiz et al., 2015).

Tabela 4. Taxas de crescimento bacteriano às 48 horas na presença de ácido monossilícico e polietilenoglicol (PEG-6000)

Doses de PEG-6000 (g.L ⁻¹)	Potencial osmótico (Mpa)	Rizobactérias ⁽¹⁾								
		BRM 32110	BRM 63523	BRM 32111	BRM 63521	BRM 63522	BRM 32114	BRM 32109	BRM 32112	BRM 32113
0 ⁽²⁾	0	0,66 BCa	0,62 BCDA	0,53 CDEa	0,89 Aa	0,71 ABa	0,45 DEa	0,45 DEa	0,42 Ea	0,64 BCa
0	0	0,65 Aa	0,59 ABab	0,52 ABCDA	0,58 ABCb	0,42 CDb	0,44 BCDA	0,37 Dab	0,40 Da	0,58 ABCa
79,8	-0,1	0,64 Aa	0,55 ABabc	0,50 ABCa	0,50 ABCbc	0,38 BCbc	0,42 BCa	0,34 Cab	0,38 BCa	0,52 ABab
121,1	-0,2	0,60 Aab	0,51 ABabc	0,48 ABCa	0,46 ABCbcd	0,34 BCbcd	0,40 BCa	0,32 Cab	0,36 BCa	0,40 BCbc
180,2	-0,4	0,56 Aab	0,49 ABabc	0,47 ABCa	0,41 ABCDbcd	0,28 Dbcd	0,39 ABCDA	0,30 CDab	0,34 BCDA	0,35 BCDbc
264,2	-0,8	0,55 Aab	0,46 ABabc	0,45 ABa	0,38 ABCcd	0,23 Ccd	0,37 ABCa	0,29 BCb	0,32 BCa	0,30 BCc
298,1	-1,0	0,49 Aab	0,41 ABCbc	0,44 ABa	0,34 ABCDcd	0,21 Dd	0,33 ABCDA	0,27 BCDB	0,29 BCDA	0,24 CDc
328,9	-1,2	0,46 Ab	0,37 ABCc	0,42 ABa	0,32 ABCDd	0,18 Dd	0,29 ABCDA	0,25 BCDB	0,28 ABCDA	0,22 CDc

⁽¹⁾ Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si (p<0,05) pelo teste de Tukey. ⁽²⁾ Tratamento absoluto com doze zero de PEG-6000 e sem silício; todos os demais tratamentos, exeto o controle, possuem ácido monossilícico (0,5 g L⁻¹); *Bacillus cereus* (BRM 32109); *Bacillus thuringiensis* (BRM 32110); *Pseudomonas fluorescens* (BRM 32111); *Pseudomonas* sp. (BRM 32112); *Burkholderia pyrrocinia* (BRM 32113); *Serratia* sp. (BRM 32114); *Serratia marcescens* (BRM 63523); *Serratia marcescens* (BRM 63521) e *Serratia* sp.(BRM 63522). Letras maiúsculas definem o efeito dos rizobactérias dentro das doses. Letras minúsculas definem o efeito das doses dentro das rizobactérias

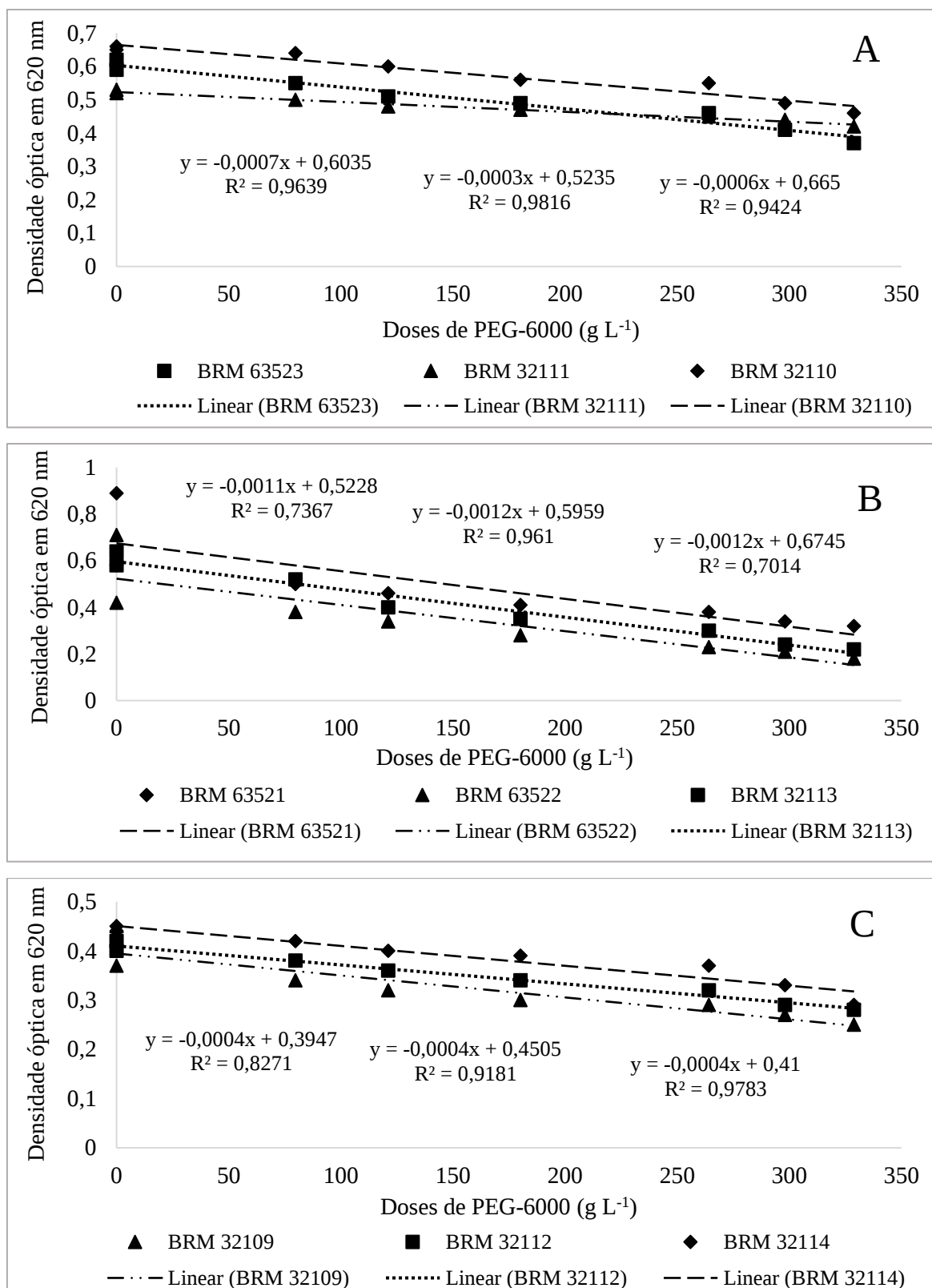


Figura 9. Densidade óptica de isolados bacterianos, às 48 horas, em meio de cultura contendo diferentes doses de PEG-6000 e ácido monossilícico (0,5 g L⁻¹). (A) *Serratia marcescens* (BRM 63523), *Pseudomonas fluorescens* (BRM 32111), *Bacillus thuringiensis* (BRM 32110); (B) *Serratia marcescens* (BRM 63521), *Serratia* sp. (BRM 63522), *Burkholderia pyrrocinia* (BRM 32113); (C) *Bacillus cereus* (BRM 32109), *Pseudomonas* sp. (BRM 32112) e *Serratia* sp. (BRM 32114).

O ácido monossilícico, em pH próximo da neutralidade, tem solubilidade de 2mM. Acima desta concentração ocorre policondensação, produzindo ácido monossilícico oligomérico e, eventualmente, partículas coloidais de sílica hidratada (Birchall, 1995). A capacidade de rizobactérias em crescer na presença de ácido monossilícico solúvel em meio com pH neutro, demonstra o poder de integração e de potencialização na ação de ambos. O PEG-6000 é um polímero de alto peso molecular que retém moléculas de água, simulando déficit hídrico, possibilitando obter diferentes resistências hídricas (ψ_s - potencial osmótico).

Ma et al. (2016) avaliou o crescimento de *Pseudomonas reactans* e *Pseudomonas libanenses* em três diferentes concentrações de PEG-6000 (5, 10 e 15 mg L⁻¹) e observou que, mesmo reduzindo o crescimento nas maiores dosagens, a curva de crescimento dos isolados manteve um padrão próximo ao controle, obtendo valores de absorbância, após 36h de crescimento, variando entre 0,5 e 0,7 nm, o que corrobora com o padrão de crescimento dos três melhores isolados avaliados nesse trabalho. Já Cortês et al. (2015) testando adubação com diferentes dosagens de Si, combinada com biogentes (*B. pyrrocinia*; *P. fluorescens*; *Trichoderma asperellum*; mistura dos três bioagentes), constatou que a melhor dosagem com efeito benéfico combinado com todos os bioagentes foi a de 2 ton ha⁻¹.

6.8 DETERMINAÇÃO DE CÉLULAS VIÁVEIS

Observou-se uma redução no número de células viáveis dos isolados de acordo com o aumento da dosagem de PEG + ácido monossilícico (Figura 10). No entanto, os três isolados resistiram a pressão osmótica e mantiveram o número de células viáveis mesmo nas maiores dosagens de PEG-6000 + ácido monossilícico. Na maior pressão osmótica simulada (-1,2 MPa) e no último horário avaliado (96h) o isolado BRM 63523 foi o que apresentou maior número de células viáveis (log 10 de 8,10), seguido de BRM 32110 (log 10 de 7,3) e BRM 32111 (log 10 de 6,7).

Ortiz et al. (2015) ao avaliar o crescimento, por sete dias, de *Bacillus megaterium*, *B. thuringiensis* e *Pseudomonas putida*, crescidos em diferentes dosagens de PEG-6000 constatou que ambos isolados eram resistentes a condições de alta pressão osmótica mantendo o número de células viáveis satisfatórios até nas maiores dosagens do reagente. Muitos trabalhos relatam a eficiência de rizobactérias na mitigação ao déficit hídrico como Marulanda et al. (2009) que inoculou *P. putida* e *B. megaterium* em plantas de *Trifolium repens* sob condições de déficit hídrico, observando aumento significativo de

biomassa e sistema radicular das plantas, aumentando o teor de água quando comparados com plantas sem inoculação. Kavamura et al. (2013) isolou da rizosfera de plantas da Caatinga uma linhagem de *Bacillus* sp. e observou aumento significativo na biomassa da parte aérea e da raiz e tamanho da haste em plantas de milho sob condições de déficit hídrico. Os autores relatam que bactérias isoladas de regiões secas tendem a possuir uma maior tolerância ao tipo de estresse e possuem capacidade de aumentar o teor de água na planta sob déficit hídrico, além de promover seu crescimento por mecanismos de ação encontrado nos isolados.

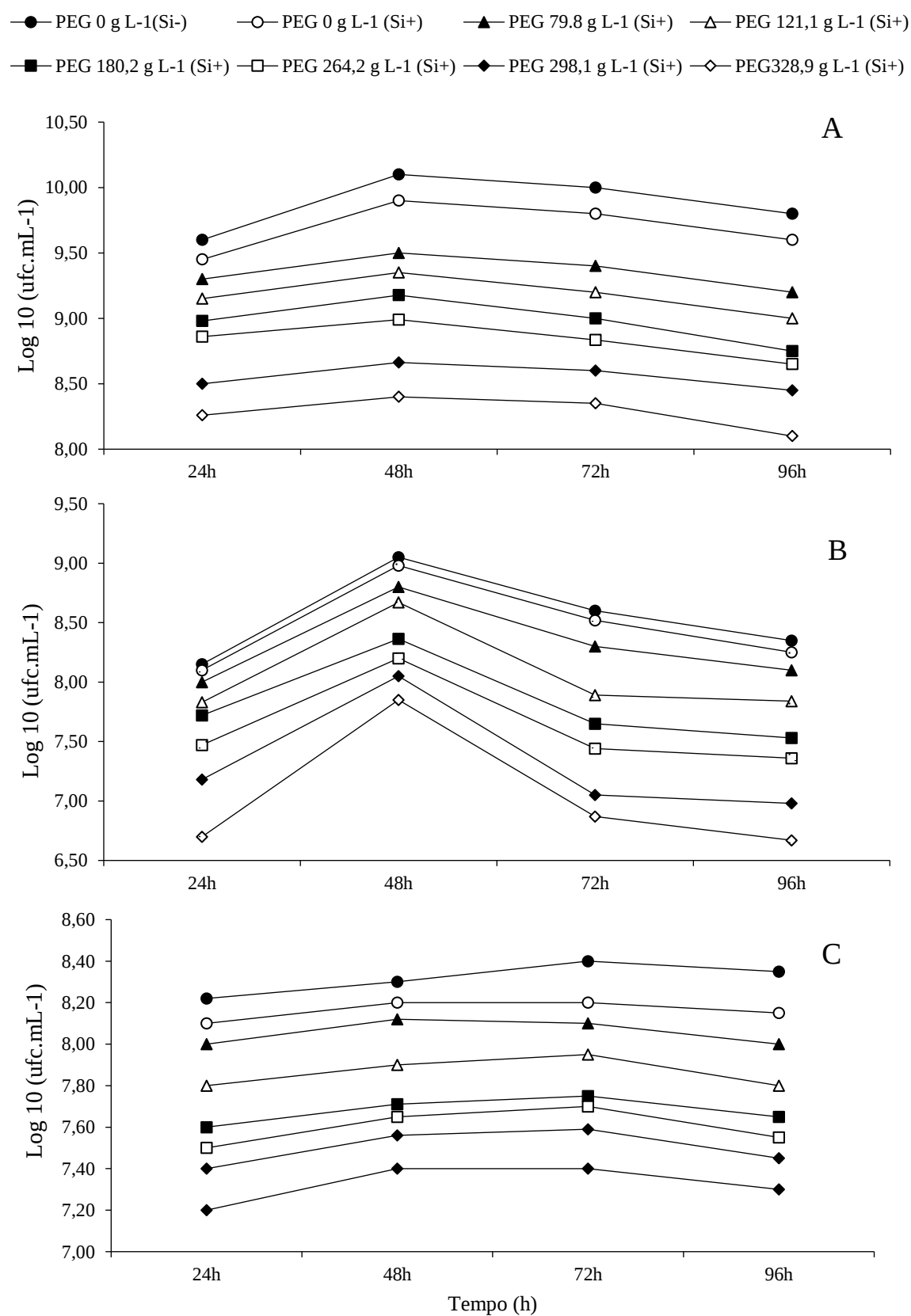


Figura 10 Log 10 do número de células viáveis dos isolados bacterianos em meio de cultura contendo diferentes doses de PEG-6000 e ácido monossilícico (0,5 g L⁻¹). (A) *Serratia marcescens* (BRM 63523); (B) *Pseudomonas fluorescens* (BRM 32111) e (C) *Bacillus thuringiensis* (BRM 32110).

6.9 GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE PLANTAS DE ARROZ EM CONDIÇÕES DE DEFICIÊNCIA HÍDRICA INDUZIDA POR POLIETILENOGLICOL, NA PRESENÇA DE RIZOBACTÉRIAS E ÁCIDO MONOSSILÍCICO ($\text{SiO}_2\cdot\text{NH}_2\text{O}$)

Os tratamentos com os três isolados, o comprimento e área de superfície total de raízes (CTR e AST), diferiram estatisticamente entre os quatro tratamentos controles (T1, T2, T3 e T4). T1 apresentou médias abaixo dos demais tratamentos, para ambos os parâmetros, com diferenças significativas. Os tratamentos T2 e T3, dentro do parâmetro CTR avaliado, não apresentaram diferenças significativas entre si, porém diferiram de T4, com médias inferiores. Já para AST, não houve diferença entre T2, T3 e T4 para os isolados BRM 32110 e BRM 32111, enquanto que no isolado BRM 63523, T2 se diferenciou de T3 e T4 (Tabelas 5).

Esses resultados reportam o efeito de rizobactérias e Si, separados e integrados, no desenvolvimento radicular de plântulas de arroz. Quando submetidas as sementes sem nenhum tratamento (T1) e sem nenhum gradiente de potencial osmótico, o comprimento e área total das raízes foram inferiores aos demais tratamentos controles (T2, T3 e T4). Nos tratamentos com a presença de ácido monossilícico (T2) e rizobactérias (T3) cada um usado de forma isolada, ambos apresentaram desenvolvimento radicular semelhante entre si, com médias superiores ao T1 onde não foi usado nenhum tratamento. Já a combinação de rizobactérias e ácido monossilícico (T4) apresentou o máximo de desenvolvimento radicular entre todos os tratamentos. No isolado BRM 32111 o T4, quando comparado a T1 apresentou incremento de 110,27 e 127,60 % em CTR e AST, respectivamente. Já no isolado BRM 32110 esse incremento foi de 71,43 e 60,75 %, enquanto que em BRM 63523 foi de 126,56 e 180,82 %. Isso demonstra que, silício, assim como as rizobactérias apresentam potencial na promoção de crescimento das plantas, promovendo seu desenvolvimento e que, de forma integrada, seus efeitos são sinérgicos, aumentando o desenvolvimento radicular, parâmetros esses que auxiliam na defesa da planta em condições limitantes de água e também na presença de patógenos (Cortês et al., 2015).

Tabela 5. Comprimento e área das principais classes de diâmetros de raízes de plântulas de arroz tratadas com rizobactérias e em meio com ácido monossilícico e diferentes potências osmóticas induzidos por diferentes doses de polietilenoglicol

Isolado	Trat.	Doses de PEG-6000 (g L ⁻¹)	Potencial osmótico (Mpa)	Características							
				CTR	CRMF	CRF	CRG	AST	ASRMF	ASRF	ASRG
				cm				cm ²			
BRM 32111	T1	0 ⁽²⁾	0	215,97 c ⁽¹⁾	15,13 c	78,41 a	122,43 b	152,76 b	1,36 c	31,18 a	120,22 b
	T2	0 ⁽³⁾	0	356,51 b	38,47 b	114,51 a	203,53 a	303,48 a	3,45 b	37,50 a	262,53 a
	T3	0 ⁽⁴⁾	0	344,16 b	38,68 b	77,65 a	227,83 a	314,36 a	3,46 b	22,81 a	288,09 a
	T4	0 ⁽⁵⁾	0	454,13 a	40,16 b	176,49 a	237,48 a	347,68 a	4,17 b	64,15 a	279,36 a
	T5	79,8	-0,1	326,66 b	72,84 a	68,12 a	185,70 a	319,98 a	10,93 a	22,34 a	286,71 a
	T6	121,1	-0,2	326,29 b	84,05 a	50,42 a	191,82 a	271,46 a	12,26 a	16,54 a	242,66 a
	T7	180,2	-0,4	313,75 b	68,60 a	104,24 a	140,91 b	256,95 a	10,55 a	40,40 a	206,00 b
	T8	264,2	-0,8	283,20 c	32,83 b	114,70 a	135,67 b	187,56 b	2,91 b	42,14 a	142,51 b
	T9	298,1	-1,0	245,77 c	13,00 c	66,06 a	166,71 b	196,08 b	1,85 c	22,90 a	171,33 b
	T10	328,9	-1,2	234,99 c	17,99 c	53,57 a	163,43 b	202,06 b	1,58 c	20,15 a	180,33 b
BRM 32110	T1	0	0	260,13 c	28,84 c	40,87 b	190,42 c	223,79 b	2,57 b	11,07 c	210,15 b
	T2	0	0	342,78 b	38,06 b	120,90 a	183,82 c	278,99 a	3,36 b	40,07 a	235,56 b
	T3	0	0	357,97 b	37,22 b	91,83 a	228,92 b	333,78 a	3,71 b	31,85 a	298,22 a
	T4	0	0	445,94 a	40,47 b	132,12 a	273,35 a	359,75 a	3,05 b	41,25 a	315,45 a
	T5	79,8	-0,1	312,61 b	58,30 a	70,14 b	184,17 c	314,41 a	5,81 a	23,70 b	284,90 a
	T6	121,1	-0,2	312,54 b	56,79 a	76,84 b	178,91 c	227,46 b	5,26 a	24,98 b	197,22 b
	T7	180,2	-0,4	260,77 c	25,30 c	62,78 b	172,69 c	209,11 b	2,76 b	23,56 b	182,79 b
	T8	264,2	-0,8	147,51 d	15,43 d	20,61 b	111,47 d	201,84 b	1,81 c	6,75 c	193,28 b
	T9	298,1	-1,0	146,86 d	9,42 d	38,21 b	99,23 d	171,11 b	0,84 c	13,65 c	156,62 b
	T10	328,9	-1,2	SNG	SNG	SNG	SNG	SNG	SNG	SNG	SNG
BRM 63523	T1	0	0	230,23 d	24,96 c	61,05 a	144,22 b	158,89 c	2,24 d	22,09 a	134,56 b
	T2	0	0	397,07 b	44,68 b	132,17 a	220,22 b	295,99 b	3,98 c	39,78 a	252,23 b
	T3	0	0	413,79 b	42,21 b	119,23 a	252,35 a	427,73 a	3,75 c	36,81 a	387,17 a
	T4	0	0	521,62 a	52,34 b	196,42 a	272,86 a	446,20 a	6,11 b	57,99 a	382,10 a
	T5	79,8	-0,1	332,05 b	70,30 a	85,57 a	176,18 a	332,61 b	8,32 a	23,31 a	300,98 a
	T6	121,1	-0,2	321,83 c	47,94 b	93,30 a	180,59 b	229,94 c	5,26 b	29,97 a	194,71 b
	T7	180,2	-0,4	291,90 c	34,54 c	102,70 a	154,66 b	203,77 c	3,09 c	32,80 a	167,88 b
	T8	264,2	-0,8	217,64 d	15,64 c	74,25 a	127,75 b	165,18 c	1,14 d	24,49 a	139,55 b
	T9	298,1	-1,0	SNG	SNG	SNG	SNG	SNG	SNG	SNG	SNG
	T10	328,9	-1,2	SNG	SNG	SNG	SNG	SNG	SNG	SNG	SNG

⁽¹⁾ Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si (p>0,05) pelo teste de Scott Knott; ⁽²⁾ sementes não microbiolizadas na ausência de ácido monossilícico; ⁽³⁾ sementes não microbiolizadas na presença de ácido monossilícico; ⁽⁴⁾ semente microbiolizada na ausência de ácido monossilícico; ⁽⁵⁾ semente microbiolizada na presença de ácido monossilícico. Os demais tratamentos possuem ácido monossilícico (0,5 g L⁻¹). *Pseudomonas fluorescens* (BRM 32111); *Bacillus thuringiensis* (BRM 32110); *Serratia marcescens* (BRM 63523); CTR = comprimento total de raízes; CRMF = comprimento raízes muito finas; CRF = comprimento de raízes finas; CRG = comprimento de raízes grossas; AST = área de superfície total; ASRMF = área se superfície de raízes muito finas; ASRF = área de superfície de raízes finas; ASRG = área de superfície de raízes grossas; SNG = semente não germinada.

Rizobactérias são microrganismos com múltiplas biotividades e com potencial para promover o crescimento e a defesa de plantas. A inoculação de sementes com rizobactérias oferece resultados promissores, estimulando o crescimento vegetal através da produção de fitormônios, aumento da absorção de nutrientes, além do aumento da resistência aos estresses biótico e abióticos, como deficiência hídrica (Martínez et al., 2013).

Entre os isolados, BRM 32111 foi o único que promoveu a germinação e desenvolvimento das plântulas até o maior potencial osmótico. No tratamento com o isolado BRM 32110, combinado com o maior potencial osmótico (-1,2 MPa) a semente não germinou, assim como nos tratamentos com o isolado BRM 63523, combinado com os dois maiores potenciais osmóticos (-1,0 e -1,2 MPa). Esses resultados sugerem que o isolado BRM 32111 é o mais resistente em ambientes sob condições de alta pressão osmótica, seguido de BRM 32110 e BRM 63523, corroborando com os resultados das curvas de crescimento e células viáveis avaliadas nos itens 6.7 e 6.8. Ainda, o efeito de rizobactérias na capacidade de promoção de crescimento vegetal e consequente aumento no estímulo a germinação de sementes pode estar associado, entre outros fatores, a produção de giberelinas e auxinas e, por conseguinte, a produção de AIA (Araújo et al., 2005). BRM 32111 foi o maior produtor de AIA, seguido BRM 32110 e BRM 63523 (Figura 5), isso pode explicar, em partes, o comportamento dos isolados quanto a germinação das sementes sob diferentes potenciais osmóticos, evidenciando, que também a produção do fitormônio não foi completamente alterada quando o isolado cresceu sob diferentes pressões osmóticas.

Dentro de CTR todos os isolados apresentaram, em T4, média estatisticamente superiores aos demais tratamentos. O isolado BRM 32111 apresentou, dentro deste parâmetro, a maior média em T4, igual a 454,13 cm e 93,26 % de incremento em comprimento quando comparado ao tratamento com maior pressão osmótica (T10) e 110,27 % superior a T1 (controle absoluto). O isolado BRM 32110 apresentou em T4 média de CTR igual a 445,94 cm e até 203,65 % de incremento em comprimento comparado ao T9 e 71,43 % superior a T1. Enquanto que as menores médias foram em T8 e T9, com valores de 147,51 e 146,86 cm, respectivamente, iguais entre si, e diferentes de T1, estatisticamente. As médias de T8 e T9 foram 76,35 e 77,13 % inferiores a T1, respectivamente. Apesar da diferença estatística, nota-se que a diferença em comprimento é 6 % menor do que entre T1 e T4, demonstrando que a presença da bactéria protegeu a semente da pressão osmótica e manteve suas características como a produção de fitormônio promovendo seu crescimento. Esta diferença entre T1 e as maiores pressões osmóticas não foi observada nos demais isolados.

Já o isolado, BRM 63523 foi o que apresentou maior CTR em T4, igual a 521,62 cm e com média 139,67 % superior ao T8, tratamento com maior pressão osmótica onde a germinação não foi inibida e 126,56 % superior a T1.

Os três isolados, além de serem de gêneros diferentes, apresentam características bioquímicas distintas. Esse fator explica as particularidades de cada isolado na produção de enzimas extracelulares, AIA, sideróforos, ACC deaminase e biofilme, assim como na resistência às diferentes pressões osmóticas e número de células viáveis. Essas diferenças entre os isolados, explica também, em parte, as diferenças encontradas no desenvolvimento das raízes, onde cada isolado atua de forma diferente e específica no desenvolvimento radicular das plântulas, atenuando os efeitos da pressão osmótica.

Na AST foram encontrados resultados semelhantes a CTR, com T4, apesar de não diferir estatisticamente de todos os demais tratamentos, os três isolados apresentaram médias superiores. O isolado BRM 32111 apresentou, em T4, AST 77,32 % superior ao T9 e 127,60 % superior a T1. No isolado BRM 32110, esses valores foram de até 110,24 e 60,75 %, enquanto que em BRM 63523 foram de 170,13 e 180,82 %. Nos dois parâmetros, CTR e AST, o isolado BRM 32111 mostrou-se resistente com maior potencial para atenuar efeitos de pressão osmótica, protegendo o desenvolvimento radicular até mesmo nos maiores potenciais osmóticos.

O volume explorado do meio e o contato íntimo entre a superfície das raízes e o substrato de crescimento são essenciais para absorção efetiva de água pelas raízes. Em condições de déficit hídrico ocorre estímulo para expansão do sistema radicular para camadas mais profundas do solo, em resposta a busca por água e nutrientes para desenvolvimento da planta (Goldmann et al., 1989). Isso não aconteceu nos ensaios, podendo ser observado nos gráficos de regressão lineares e negativas (Figura 11) onde, para os três isolados, o maior desenvolvimento radicular das plântulas ocorreu no tratamento controle T4, com os maiores valores observados em CTR e AST, enquanto que nos tratamentos com PEG-6000 o CTR e AST cresceu sob proteção das bactérias.

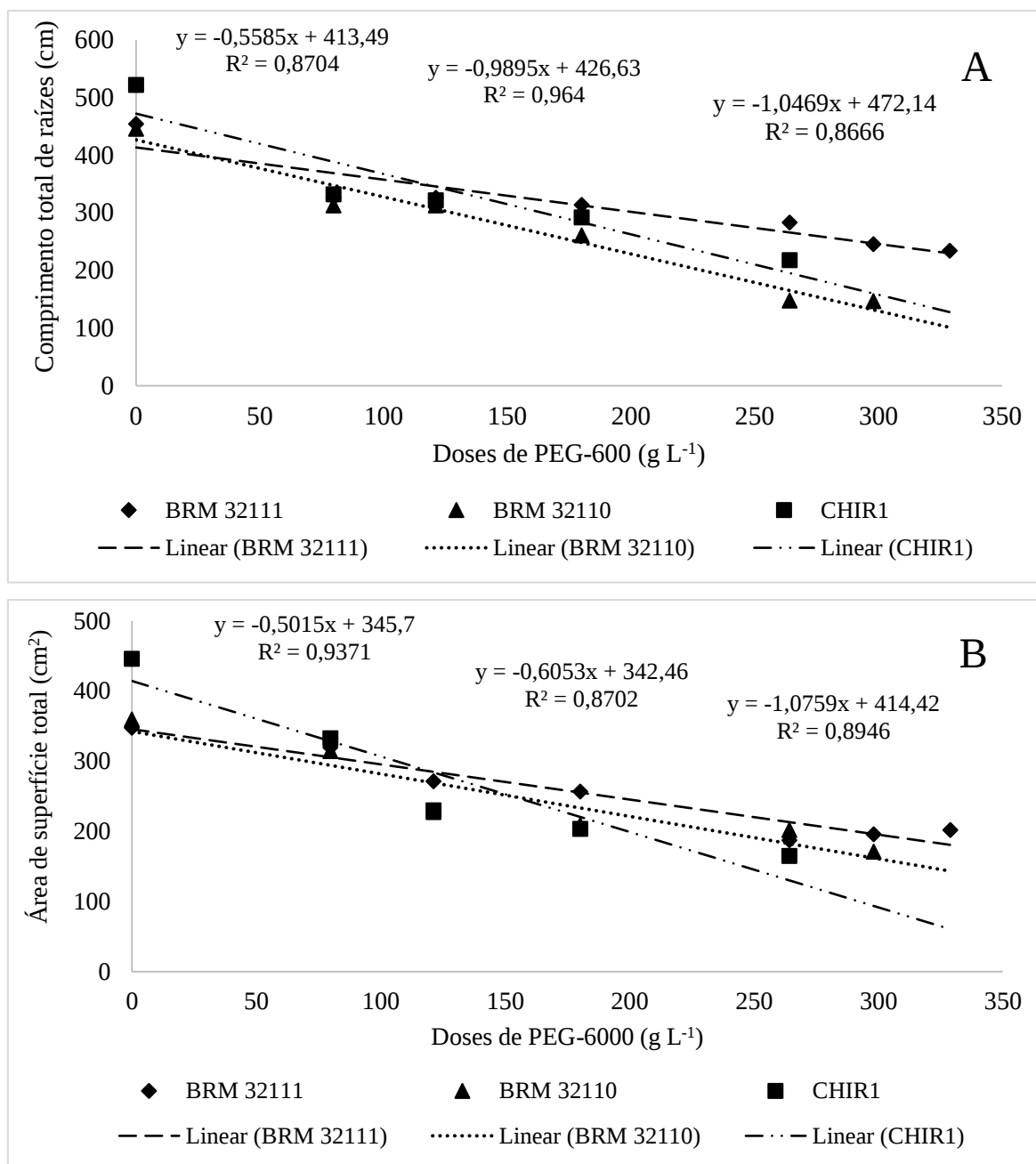


Figura 11. Comprimento total de raízes (A) e área de superfície total de raízes (B) de plântulas de arroz aos 15 dias, germinadas *in vitro*, em diferentes doses de PEG-6000, na presença de ácido monossilícico (0,5 g L⁻¹) e inoculadas com as rizobactérias *Pseudomonas fluorescens* (BRM 32111), *Bacillus thuringiensis* (BRM 32110) e *Serratia marcescens* (BRM 63523).

Em contrapartida, ocorreu um aumento na produção de raízes muito finas nas nos tratamentos com menores potenciais osmóticos, e posterior inibição da produção nos tratamentos com maiores potenciais, observadas nas regressões polinomiais e negativas (Figura 12). Raízes mais finas são mais eficientes em absorver água e confere a planta maior tolerância a situações de estresse. O isolado BRM 32111 foi o que mais estimulou o crescimento e área de raízes muito finas (CRMF e ARMF) em tratamentos com pressão

osmótica quando comparadas ao controle T4 e T1, com T6 apresentando maior incremento igual a 109,29 e 194,00 %, respectivamente, além de T5 e T7 que também apresentaram médias superiores. Comportamento semelhante foi observado com o isolado BRM 32110 que estimulou o maior desenvolvimento de CRMF e ARMF em T5 e T6, com incremento de 44,06 e 90,49 % (T5) e 40,33 e 72,46 % (T6), respectivamente. Em BRM 63523 esse comportamento foi observado apenas em T5, onde apresentou incremento de CRMF e ARMF de 34,31 e 36,17 %, respectivamente, quando comparado ao T4. Isso acontece porque o volume de meio explorado e o contato íntimo entre a superfície das raízes e o solo são essenciais para absorção efetiva da água pelas raízes, de modo que o contato é maximizado pela emissão dos pelos radiculares, com consequente aumento da área superficial e capacidade de absorção de água (Santos & Carlesso, 1998). Ainda, a produção de ACC deaminase pelos isolados (Figura 7) explica, em partes, esse aumento no alongamento de pelos radiculares, tendo em vista que, a produção dessa enzima está associada a inibição da produção de etileno pelas plantas, fitormônio que em altas concentrações provoca a inibição do crescimento de raízes.

Plantas sob déficit hídrico e tratadas com rizobactérias apresentam uma arquitetura remodelada do sistema radicular, com extremidades das raízes mais alongadas, assim como maior produção de raízes adventícias, resultando no aumento de área de superfície (Vacheron et al., 2013; Bresson et al., 2014) aumentando finalmente a condutância hidráulica e de nutrientes durante o estresse (Dimpka et al., 2009). Plantas de *Lavandula* inoculadas com *B. thuringiensis* obteve aumento nas concentrações de AIA e apresentou maior tolerância a seca, restaurando vários processos fisiológicos e metabólicos da planta hospedeira (Armada et al., 2014). Khan et al (2016) em seu trabalho, ao inocular cepas de microrganismos endófitos, dentre elas bactérias do gênero *Burkholderia* e *Pseudomonas*, em plantas de algodão americano sob déficit hídrico, observou incremento de 28% na biomassa total (raízes e parte aérea) em relação ao controle. Os autores atribuíram esse resultado a maior produção de hormônios vegetais, como auxinas, resultante da inoculação dos microrganismos que proporcionaram maior crescimento vegetal assim como incremento no número e tamanho de raízes permitindo maior alcance para absorção de água e nutrientes.

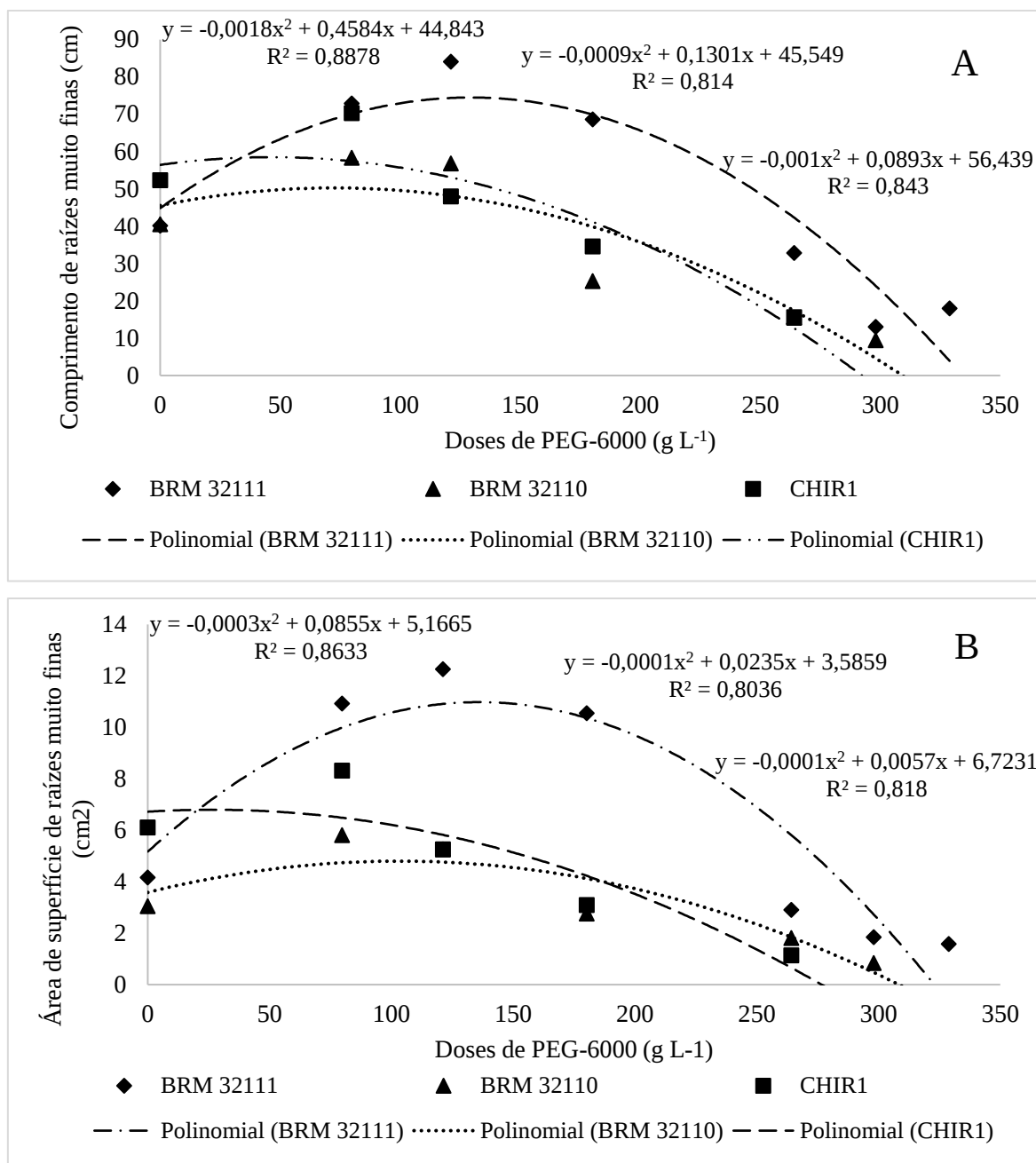


Figura 12. Comprimento de raízes muito finas (A) e área de superfície de raízes muito finas (B) de plântulas de arroz aos 15 dias, germinadas *in vitro*, em diferentes doses de PEG-6000, na presença de ácido monossilícico (0,5 g L⁻¹) e inoculadas com as rizobactérias *Pseudomonas fluorescens* (BRM 32111), *Bacillus thuringiensis* (BRM 32110) e *Serratia marcescens* (BRM 63523).

Dentro dos parâmetros comprimento e área de superfície de raízes finas e grossas (CRF, CRG, ASRF e ASRG), considerando apenas os tratamentos com sementes tratadas com rizobactérias e na presença de Si (T4 até T10), as maiores médias, para os três isolados, foram observadas em T4, exceto em ASRG no isolado BRM 32111 onde a maior média foi observada em T5. Entre esses tratamentos, o isolado BRM 32111 apresentou incremento, em T4, de até 250,04; 75,04 e 287,85 % em CRF, CRG e ASRF, respectivamente e 101,19

% em T5 em ASRG. No isolado BRM 32110 esse incremento em T4 foi de até 541,05 e 175,47 % em CRF e CRG, e de até 511,11 e 101,41 % em ASRF e ASRG, respectivamente. Já no isolado BRM 63523 o incremento foi de até 164,54 e 113,35 % em CRF e CRG e de até 148,78 e 173,81 % em ASRF e ASRG, respectivamente. Ainda, para o isolado BRM 32111, dentro dos parâmetros CTR, CRMF, CRG, AST, ASRMF e ASRG, em T10, onde foi submetido a maior pressão osmótica, apresentou médias superiores ao tratamento absoluto (T1). Isso demonstra que esse isolado apresenta o maior potencial para atenuar os efeitos de plântulas em condições limitantes de água.

6.10 ANTAGONISMO *IN VITRO* ENTRE *M. oryzae* E AS RIZOBACTÉRIAS RESISTENTES AO POTENCIAL OSMÓTICO

Todos os três isolados testados (BRM 32110, BRM 32111 e BRM 63523) apresentaram efeito antagônico significativo contra *M. oryzae*, na presença de ácido monossilícico e em todas as condições de indução de déficit hídrico induzido pelo PEG-6000 (Tabela 6). Entre eles, BRM 32111 apresentou o melhor desempenho conseguindo inibir o crescimento micelial de *M. oryzae* em até 78,36%. Já o isolado BRM 63523 conseguiu inibir até 60,89% seguido de BRM 32110 que inibiu em até 39,37% o crescimento da colônia fúngica. A análise de regressão mostrou que a relação entre as doses de polietilenoglicol e o antagonismo das rizobactérias com *M. oryzae* foi linear e positiva (Figura 13).

Tabela 6. Antagonismo *in vitro* de rizobactérias com *Magnaporthe oryzae* sob diferentes condições de pressão osmótica simulada por diferentes concentrações de polietilenoglicol e na presença de ácido monossilícico

Doses de PEG-6000 (g L ⁻¹)	Rizobactérias ⁽¹⁾					
	BMR 32110 ⁽³⁾		BRM 32111 ⁽⁴⁾		BRM 63523 ⁽⁵⁾	
	DMC ⁽⁶⁾	% inibição	DMC	% inibição	DMC	% inibição
0 g L ⁻¹⁽²⁾	36,58 ^a	29,52	11,26 ^a	78,30	20,93 ^a	59,67
0 g L ⁻¹	36,31 ^a	30,04	11,23 ^a	78,36	20,30 ^{ab}	60,89
79,8 g L ⁻¹	36,68 ^a	29,33	11,37 ^a	78,09	21,42 ^{ab}	58,73
121,1 g L ⁻¹	38,04 ^a	26,71	11,61 ^a	77,63	21,76 ^{ab}	58,07
180,2 g L ⁻¹	37,87 ^a	27,03	11,64 ^a	77,57	22,54 ^{ab}	56,57
264,2 g L ⁻¹	38,93 ^a	24,99	11,95 ^a	76,97	23,26 ^{ab}	55,18
298,1 g L ⁻¹	39,30 ^a	24,28	14,39 ^a	72,27	25,14 ^b	51,56
328,9 g L ⁻¹	39,37 ^a	24,14	14,89 ^a	71,31	25,26 ^b	51,33
Controle	51,90 ^b	0,00	51,90 ^b	0,00	51,90 ^c	0,00

⁽¹⁾Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05). ⁽²⁾ Tratamento absoluto com doze zero de PEG-6000 e sem silício; todos os demais tratamentos, exeto o controle, possuem ácido monossilícico (0,5 g L⁻¹); ⁽³⁾*Bacillus thuringiensis*; ⁽⁴⁾*Pseudomonas fluorescens*; ⁽⁵⁾ *Serratia marcescens*; ⁽⁶⁾DMC = diâmetro médio da colônia,

Corroborando com os resultados, Martins et al. (2020) ao testar seis isolados de rizobactérias no antagonismo *in vitro* contra *M. oryzae* constatou que cepas de *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas* sp., *Burkholderia pyrrocinia* e *Bacillus thuringiensis* inibiram a colônia de *M. oryzae* em 68%, 65% e 48% e 23%, respectivamente. Em consonância, suspensões bacterianas dos dois isolados de *Pseudomonas* suprimiram a brusone nas folhas em 81,0 e 79,2 %, de acordo com resultados dos mesmos autores. Ainda Li et al. (2018) ao estudar cepa de *Bacillus tequilensis* isolado de *Angelica dahurica* testando na supressão de brusone em plantas de arroz, constatou que o isolado conseguiu reduzir o progresso da doença, demonstrando o seu potencial como agente de controle biológico.

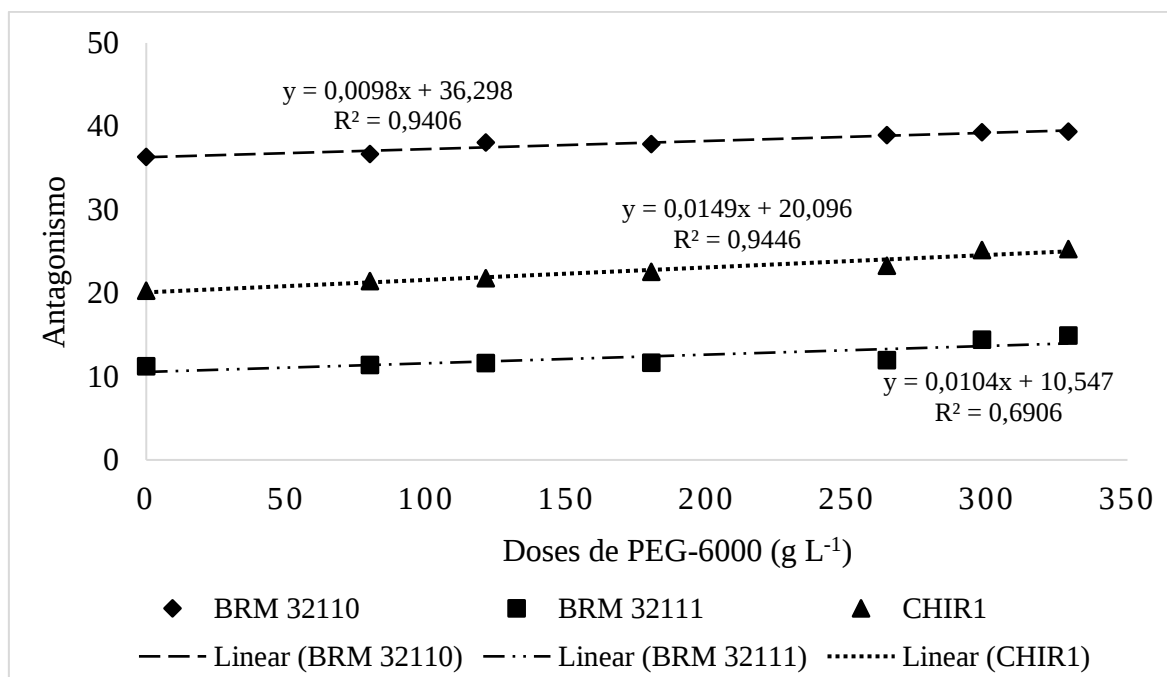


Figura 13. Antagonismo entre isolados de rizobactérias e *Magnaporthe oryzae* sob diferentes potenciais osmóticos induzido por polietilenoglicol (PEG), na presença do ácido monossilícico das rizobactérias *Bacillus thuringiensis* (BRM 32110), *Pseudomonas fluorescens* (BRM 32111) e *Serratia marcescens* (BRM 63523).

6.11 ENSAIO EM CASA DE VEGETAÇÃO

O tratamento de adubação com SiCaMg e da inoculação com BRM 32111, seja de forma isolada (T2 e T3, respectivamente) ou integrada (T4), aumentou as trocas gasosas foliares nas plantas de arroz de terras altas no último dia de imposição do déficit hídrico (Figura 14). Foi observado aumento gradativo nos parâmetros A, E, Ci e gs, nos tratamentos T2, T3 e T4, respectivamente, em ambas as condições hídricas, com os tratamentos T2 e T3 estatisticamente iguais entre si, porém com média superior ao tratamento controle (T1). Já o tratamento T4, nesses mesmos parâmetros, se diferiu positivamente de todos os demais. Esses resultados reportam o efeito do SiCaMg e BRM 32111, onde quando usados de forma isolados aumentam as trocas gasosas e de forma integrada apresentam sinergismo com aumento ainda maior nesses parâmetros, em ambas as condições hídricas. Em A/E não houve diferença entre os tratamentos e em A/Ci apenas o controle se diferiu dos demais que apresentaram médias semelhantes.

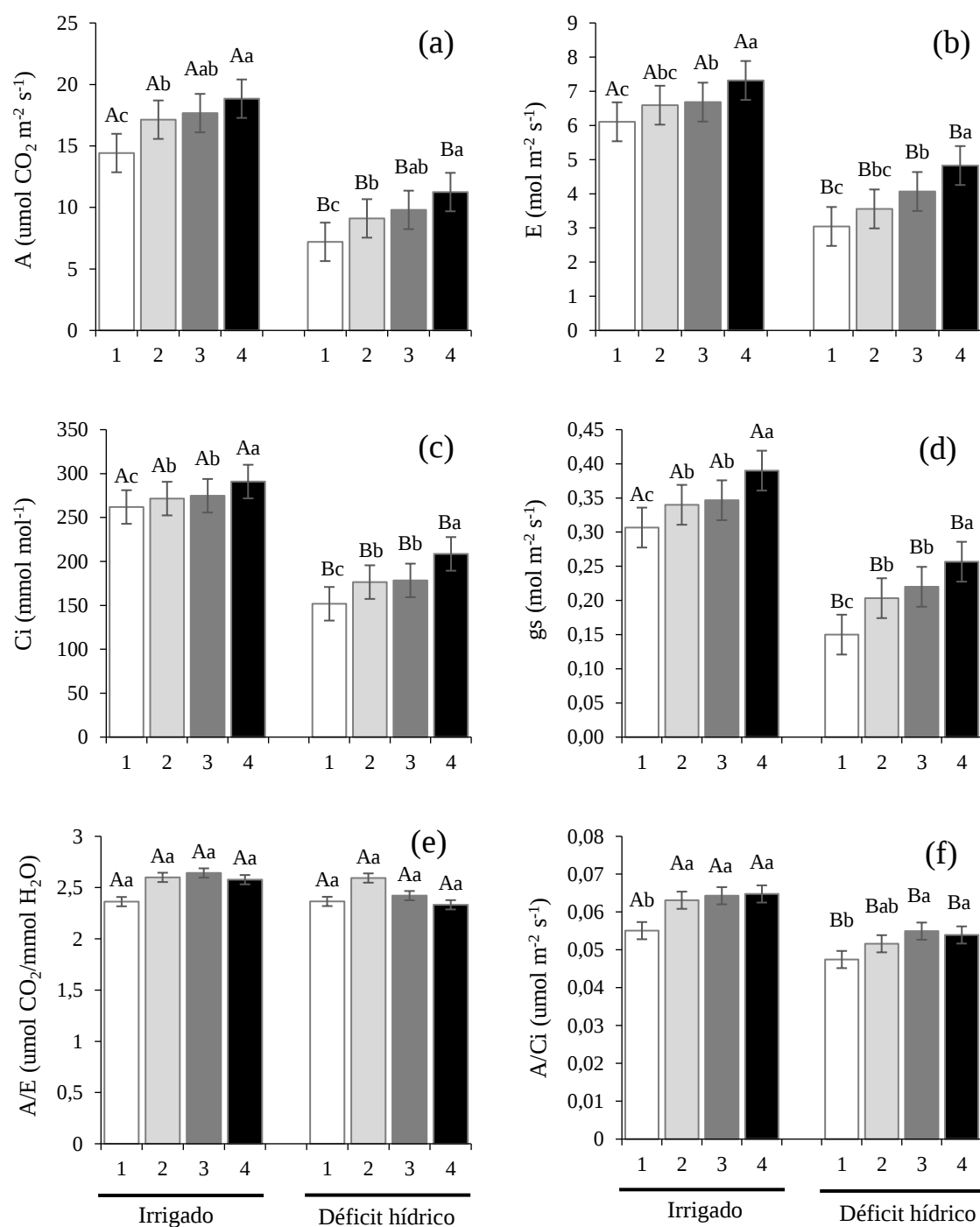


Figura 14. Trocas gasosas foliares no quarto dia da imposição do déficit hídrico em plantas de arroz de terras altas. (A) taxa de fotossíntese (a); (E) taxa de transpiração (b); (Ci) carbono interno (c); (gs) condutância estomática (d); (A/E) eficiência do uso da água (e); (A/Ci) eficiência de carboxilação da rubisco (f). Tratamentos: (1) Controle; (2) adubação com silicato de cálcio e magnésio (SiCaMg); (3) inoculação com *Pseudomonas fluorescens* (BRM 32111); (4) adubação com SiCaMg + inoculação com BRM 32111. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras minúsculas comparam os tratamentos dentro de uma mesma condição. Letras maiúsculas comparam os mesmos tratamentos nas duas condições hídricas.

Na condição irrigada as trocas gasosas foram superiores quando comparada a condição de déficit hídrico, diferindo estatisticamente em todos os parâmetros, exceto para A/E. O déficit hídrico é responsável por diversas alterações desde a nível molecular até os morfológicos, limitando o crescimento e desenvolvimento das plantas, o que explica as trocas gasosas terem sido fortemente afetado em poucos dias de seca. Entre as primeiras respostas da planta às condições de déficit hídrico é a limitação estomática (Souza et al. 2013; Reis et al. 2018), reduzindo a g_s e E como mecanismo evolutivo para diminuir a perda de água para a atmosfera (Ávila et al, 2017). Assim, o fechamento estomático leva a redução na absorção de CO_2 , resultando em menor concentração interna de carbono no interior do mesófilo foliar, e, por conseguinte, redução na taxa fotossintética e desenvolvimento das plantas (Mutava et al., 2015; Dar et al, 2018).

No entanto, a presença de SiCaMg e BRM 32111 nas condições de déficit hídrico conferiu maior resistência das plantas à seca (Figura 15) e proporcionou maior A, E, C_i , g_s , eficiência do uso da água e eficiência de carboxilação, indicando que SiCaMg e BRM 32111 atuam em sinergismo nas plantas, reduzindo a limitação não-estomática ou do metabolismo bioquímico e das reações fotoquímicas (eficiência de dissipação dos fotossistemas ou quenchings) que o déficit hídrico pode acarretar nas plantas (Demirevska et al. 2008; Souza et al. 2013; Souza et al. 2016). Além disso, SiCaMg e BRM 32111 conferiu aumento na abertura estomática (g_s), auxiliando nos processos biofísicos foliares, que estão diretamente relacionados com as trocas gasosas das plantas com o ambiente (g_s e E).



Figura 15. Plantas de arroz de terras altas submetidas a quatro dias de déficit hídrico e inoculadas com *Pseudomonas fluorescens* (BRM 32111) e silicato de cálcio e magnésio (SiCaMg).

Apesar da não diferença estatística em A/E, plantas com SiCaMg e BRM 32111 apresentaram valores superiores nas duas condições hídricas. Em condições de seca, esse aumento pode estar relacionado aos efeitos do tratamento combinado de SiCaMg e BRM 32111, que podem condicionar os ajustes osmóticos no espaço do apoplástico e/ou simplástico (Kasim et al., 2013), regendo a resposta da planta ao déficit hídrico, mitigando a desidratação de seus tecidos. Com isso, a maior capacidade da eficiência do uso da água, pode contribuir para diminuir os efeitos deletérios decorrentes da seca e aumentar a produtividade (Korup et al., 2018), devido ao melhor status hídrico da planta, que mantém a taxa fotossintética (A e A/C_i), e proporcionar melhor resfriamento das folhas pela transpiração (Maruel et al., 2016).

Nas plantas, o Si está relacionado à maior resistência ao acamamento e supressão do ataque a patógenos, decorrente da maior lignificação e silicificação das células epidérmicas. Ainda é capaz de conferir maior grau de resistência aos estresses bióticos e abióticos, diminui a taxa de evapotranspiração em situações de déficit hídrico (Balakhnina, 2013; Bakhat et al., 2018; Epstein e Bloom, 2005; Malavolta, 2006; Zanetti et al., 2016), além de estar associado, indiretamente, ao aumento no teor de clorofila e da capacidade fotossintética, a redução na transpiração e aumento na absorção de nutrientes (Ávila et al., 2010; Gunes et al., 2007). Por outro lado, a maior rigidez da cutícula aumenta a capacidade de retenção e resistência a perda de água pelo vegetal, melhorando seu gerenciamento hídrico. Quando a planta recebe o Si, começa a formar cadeias mais pesadas de ácido polissilícico, ocorrendo a polimerização, diminuindo a flexibilidade das paredes dos estômatos e ocasionando seu fechamento, ocorrendo a diminuição da transpiração e a perda de água (Luz et al., 2006; Taiz et al., 2015). Ainda, rizobactérias também auxiliam na mitigação dos danos causados por déficit hídrico. Plantas de feijão tratadas com dois isolados de PGPRs (*Bacillus pumilus* e *Bacillus mycoides*) foi observado aumento da fotossíntese, da eficiência do uso de água, da concentração de clorofilas e aumento na produção de aproximadamente 30% (Stefan et al., 2013).

Na severidade da brusone, observou-se diferença estatística na AACPD entre os tratamentos (Figura 16). Nas duas condições hídricas testadas, BRM 32111 e SiCaMg quando usados de forma isoladas (T2 e T3, respectivamente) não se diferiram entre si, porém diferiram positivamente ao controle (T1) com médias inferiores. Quando usados de forma integrada (T4), houve sinergismo entre SiCaMg e BRM 32111, com efeito positivo,

apresentando as menores médias na AACPD, diferindo positivamente dos demais tratamentos, nas duas condições hídricas.

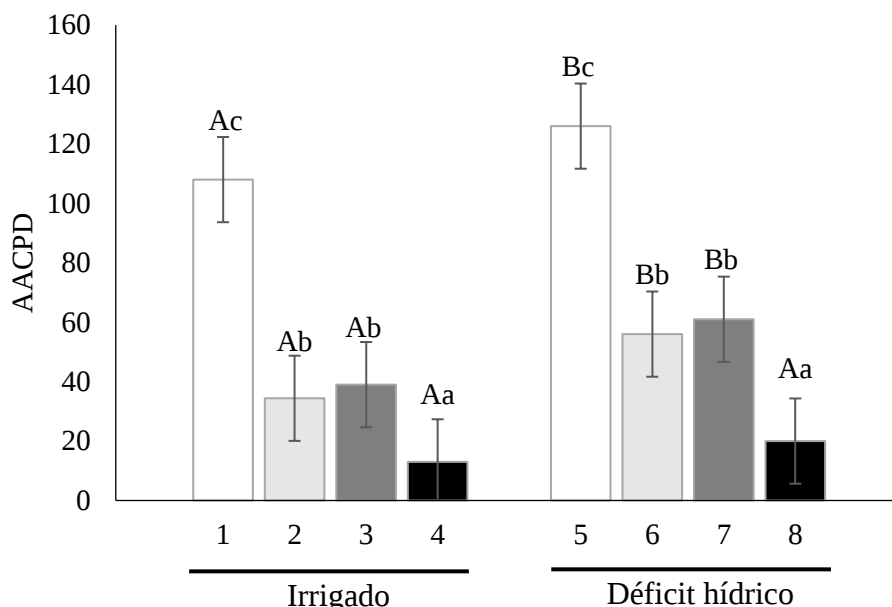


Figura 16. Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) da brusone foliar em plantas de arroz de terras altas. Tratamentos: (1) Controle; (2) inoculação com *Pseudomonas fluorescens* (BRM 32111); (3) adubação com silicato de cálcio e magnésio (SiCaMg); (4) adubação com SiCaMg + inoculação com BRM 32111. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras minúsculas comparam os tratamentos dentro de uma mesma condição. Letras maiúsculas comparam os mesmos tratamentos nas duas condições hídricas.

Quando submetidas a condições limitantes de água as plantas desencadeiam mecanismos de defesa que resultam em alterações morfofisiológicas em suas células vegetais, que inibem seu crescimento e desenvolvimento (Jaleel et al., 2009; Calbo & Moraes, 2000). Nessas condições, se tornam mais suscetíveis a posteriores estresses bióticos, como a ocorrência de doenças. Na condição de déficit hídrico a AACPD foi superior em todos os tratamentos, quando comparado com a condição irrigada, apresentando também lesões foliares maiores em tamanho e quantidade (Figura 17). Nas duas condições hídricas, no tratamento controle, as lesões apresentaram formato elíptico, com borda marrom e centro acinzentado, com aspecto esporulativo e coalescente, diminuindo a área foliar sadia (Figura 17a). Nos tratamentos com SiCaMg e BRM 32111, usados de forma isoladas foram observadas lesões esporulativas, porém em menor quantidade e, em sua maioria, distantes umas das outras, além da presença também de lesões do tipo “cabeça de alfinete” (Figura 17b e 17c). No tratamento contendo a combinação de SiCaMg e BRM 32111, não foi observado a presença de lesões esporulativas, apenas lesões fechadas (Figura 17d).

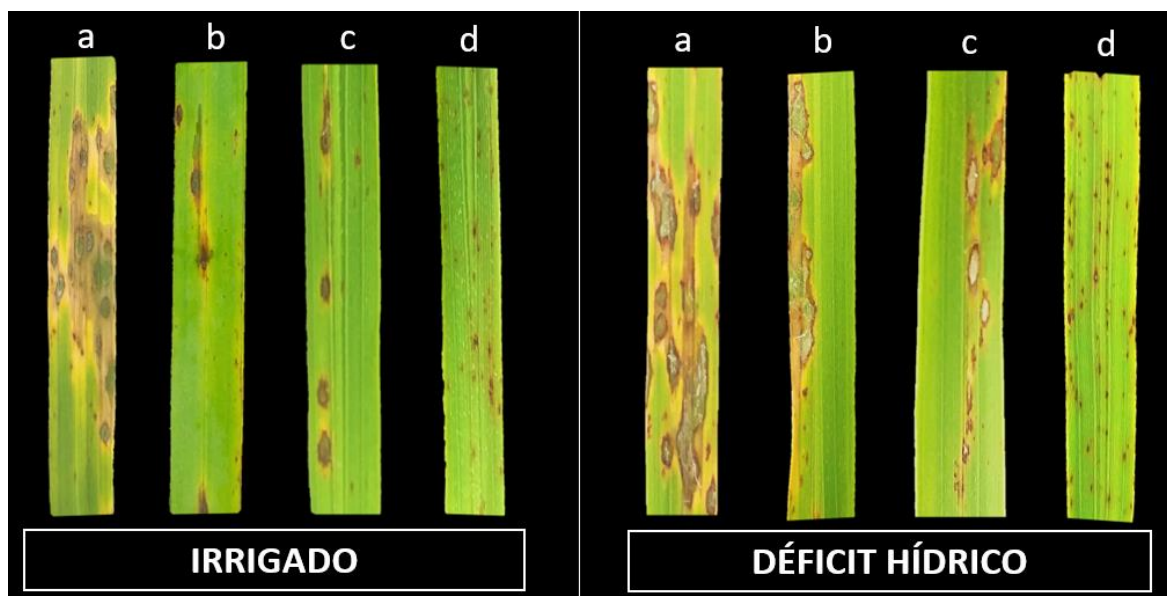


Figura 17. Severidade da brusone foliar em plantas de arroz de terras altas em duas condições hídricas (irrigado e déficit hídrico), inoculadas com suspensão de conídios de *Magnaporthe oryzae* (3×10^5 con. mL^{-1}). Tratamento controle (a); inoculação com *Pseudomonas fluorescens* (BRM 32111) (b); adubação com silicato de cálcio e magnésio (SiCaMg) (c); adubação com SiCaMg + inoculação com BRM 32111 (d).

O Si é estudado na proteção de plantas contra pragas e doenças, inclusive no arroz (Prabhu et al., 2001). É relatado que o Si aplicado no solo é absorvido na forma de ácido monossilícico pelas raízes das plantas, onde aumenta seu acúmulo e deposição na forma de sílica amorfa na parede celular das folhas (entre a cutícula e a epiderme), aumentando a rigidez cutícula, servindo de barreira física contra *M. oryzae* em plantas de arroz (Ishiguro, 2001; Yoshida, 1965). Alguns autores demonstram que o silício, além de fortalecer a parede celular, também ativa o sistema de defesa do hospedeiro (Bélanger et al., 1995; Rodrigues et al., 2004; Cruz et al., 2013).

Plantas de arroz adubadas com Si e posteriormente desafiadas por *M. oryzae* aumentaram significativamente as atividades das enzimas relacionadas à defesa, incluindo POD), polifenol oxidase (PPO) e PAL, assim como a concentração de Si e lignina, com consequente redução na incidência da brusone (Cai et al., 2008). Cortês et al. (2015) em experimentos em casa de vegetação com plantas de arroz, testou adubação com diferentes dosagens de Si (0, 1, 2, 4 e 8 ton SiCaMg.ha⁻¹), combinadas com diferentes bioagentes (controle; *Burkholderia pyrrocinia*; *Pseudomonas fluorescens*; *Trichoderma asperellum*; mistura dos três bioagentes, onde constatou efeito positivo na integração de ambos, concluindo que a melhor dosagem de Si foi de 2 ton ha⁻¹ combinado com os três bioagentes,

suprimindo a brusone foliar em até 96%. Do mesmo modo Sousa et al. (2017) avaliou adubação com Si em plantas de arroz nas mesmas dosagens, combinado com diferentes bioagentes (*Pseudomonas fluorescens*, *Burkholderia pyrrocinia* - separadas e em mistura e um pool de *Trichoderma asperellum*) constatou que a dosagem de 2 ton ha⁻¹ combinado com pool de *T. asperellum* ou com a mistura de bactérias suprimiu em até 99% a severidade de brusone foliar, aumentando ainda taxa fotossintética, pigmentos cloroplastídicos, eficiência do uso da água e açúcar solúvel total. Concomitante rizobactérias conseguem suprimir a brusone pelo seu responsivo efeito antagônico com o fungo e indução de resistência nas plantas. Em estudo realizado em casa de vegetação, foram obtidos aumento em até 65% no acúmulo de biomassa e 90% na redução da severidade da brusone nas folhas, com o uso dos isolados de *Pseudomonas* sp. e *Burkholderia* sp. (Filippi et al., 2011).

7 CONCLUSÕES

As rizobactérias BRM 32110, BRM 32111 e BRM 63523 foram resistentes à pressão osmótica apresentando maior taxa de crescimento e número de células viáveis. Concomitante a isso, se mostraram promissoras na produção de enzimas extracelulares, AIA, biofilme, sideróforos, ACC deaminase e solubilização de fosfato. Isso demonstra o possível potencial dessas rizobactérias na mitigação do déficit hídrico em plantas de arroz de terras altas.

O Si não interferiu no desenvolvimento dos isolados de rizobactérias, não apresentando efeitos negativos no crescimento, mostrando, assim, não possuir efeitos adversos, com potencial para ser usado de forma combinada para mitigação do déficit hídrico e controle de doenças em arroz de terras altas.

As rizobactérias BRM 32110, BRM 32111 e BRM 63523, combinadas ao ácido monossilícico, potencializaram o desenvolvimento radicular de plântulas, com aumento significativo de pelos radiculares provenientes de raízes muito finas, atenuando os efeitos de pressão osmótica induzidas por PEG-6000.

BRM 32111 foi a rizobactéria com maior ação antagônica contra *M. oryzae* sob deficiência hídrica induzida e na presença do Si.

BRM 32111 e SiCaMg intensificaram a mitigação do déficit hídrico em plantas de arroz de terras altas e diminuíram a severidade da brusone foliar em plantas de arroz de terras altas em condições de casa de vegetação.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHEMAD, M.; KIBRET, M. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. **Journal of King Saud University - Science**, v. 26, p. 1-20, 2014.
- AHEMAD, M.; KHAN, M. S.; ZAIDI, A.; WANI, P. A. Remediation of herbicides contaminated soil using microbes. In: KHAN, M. S.; ZAIDI, A.; MUSARRAT, J. (Eds.), *Microbes in Sustainable Agriculture*. Nova Science Publishers, New York, 2009.
- AHMAD, P.; LATEF, A. A. H. A.; RASOOL, S.; AKRAM, N. A.; ASHRAF, M., GUCEL, S. Role of Proteomics in Crop Stress Tolerance. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, 2016.
- AHMED, E.; HOLMSTROM, S. J. M. Siderophores in environmental research: roles and applications. **Microbiology Biotechnologic**, v. 7, p. 196-208, 2014.
- ALEXANDER, D. B.; ZUBERER, D. A. Use of chrome azurol S reagentes to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 12, n. 1, p. 39-45, 1991.
- ALI, A.; SABRI, A. N.; HASNAIN, S. Rhizobacterial potencial to alter auxin content and growth of *Vigna radiata*. **World Journal of Microbiology Biotechnology**, Oxford, v. 26, p. 1379-1384, 2010.
- ALORI, E. T.; DARE, M. O.; BABALOLA, O. O. Microbial inoculants for soil quality and plant health. In: *Sustainable agriculture reviews*. Springer, Switzerland, p. 281-307, 2017.
- ALVES, L. R.; REIS, A. R.; GRATÃO, P. L. Heavy metals in agricultural soils: from plants to our daily life (a review). **Científica**, v. 44, n. 3, p. 346-361, 2016.
- ANTUNES, L. C. M. A Linguagem das bactérias. **Ciência hoje**, v. 33, n. 193, p. 16-20, 2003.
- 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.
- ARAÚJO, M. F. F.; NUNES, M. C. M.; PANOSSO, R. F. **Metabolismo da vida microscópica**. 2 ed. Natal: EDUFRRN, 2012. 278 p.
- ARAÚJO, F. F.; HENNING, A.; HUNGRIA, M. Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root

development. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, vol. 21, n. 8-9, p. 1639-1645, 2005.

ARMADA, E.; ROLDAN, A.; AZCON, R. Differential activity of autochthonous bacteria in controlling drought stress in native *Lavandula* and *Salvia* plants species under drought conditions in natural arid soil. **Microbial Ecology**, v. 67, p. 410-420, 2014.

ARRUDA, L. M.; BENEDUZI, A.; MARTINS, A. F.; LISBOA, B.; LOPES, C. N.; BERTOLO, F. O. A.; PASSAGLIA, L. M. P.; VARGAS, L. K. Screening of rhizobacteria isolated from maize (*Zea mays* L.) in Rio Grande do Sul State (South Brazil) and analysis of their potential to improve plant growth. **Applied Soil Ecology**, v. 63, p. 15-22, 2013.

ARSHAD, M.; SHAHAROONA, B.; MAHMOOD, T. Inoculation with *Pseudomonas* spp. containing ACC-desaminase partially eliminates the effects of drought stress on growth, yield, and ripening pea (*Pisum sativum* L.) **Pedosphere**, Nanjing, v. 18, n. 5, p. 611-620, 2008.

ATTITALLA, I. H. Traits biologically interacting *Azospirillum lipoferum* strain R23. **Adv Biol Res**, v. 6, n. 2, p. 87-94, 2012.

ÁVILA, R. G.; MAGALHAES, P. C.; ALVARENGA, A. A.; LAVINSKY, A. D. O.; CAMPOS, C. N.; SOUZA, T. C.; GOMES JÚNIOR, C. C. Drought-tolerant maize genotypes invest in root system and maintain high harvest index during water stress. **Rev Bras Milho Sorgo**, v. 15 n.3, p. 450-460, 2017.

ÁVILA, F. W.; BALIZA, D. P.; FAQUIN, V.; ARAÚJO, J. P.; RAMOS, S. J. Interação entre silício e nitrogênio em arroz cultivado sob solução nutritiva. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 2, p. 184-190, 2010.

AZAMBUJA, I. H. V.; MAGALHÃES JUNIOR, A. M.; VERNETTI JUNIOR, F. J. Situação da cultura do arroz no mundo e no Brasil. In: Assembléia Legislativa do RS. (Org.). **Série Culturas-Arroz Irrigado**. Porto Alegre: Assembléia Legislativa do Estado do Rio Grande do Sul, p. 11-22, 2002.

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

BABALOLA, O. O. Beneficial bacteria of agricultural importance. **Biotechnol Lett**, v. 32, n. 11, p. 1559-1570, 2010.

BABY, K.; KUMAR, A.; MALLICK, M. A. Phosphate solubilizing microbes: an effective and alternative approach as biofertilizers. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 8, p. 37-40, 2016.

BACK, Á. J.; JUST, M. C. Consumo de água em lavouras de arroz irrigadas em sistema coletivo. **Revista Tecnologia e Ambiente**, v. 24, p. 133-145, 2018.

- BAKHAT, H. F.; BIBI, N.; ZIA, Z.; ABBAS, S.; HAMMAD, H. M.; FAHAD, S.; ASHRAF, M. R.; SHAH, G. M.; RABBANI, F.; SAEED, S. Silicon mitigates biotic stresses in crop plants: a review. **Crop Protection**, v. 104, p. 21-34, 2018.
- BAKKER, P. A. H. M.; PIETERSE, C. M. J.; LOON, L. C. V. Induced systemic resistance by fluorescent *Pseudomonas* spp. **Phytopathology**, v. 97, p. 239-243, 2007.
- BALAKHNINA, T. I. Effects of silicon on plant resistance to environmental stresses: review. **International Agrophysics**, v. 27, n. 2, p. 225-232, 2013.
- BATISTA, F. C.; FERNANDES, T. A.; ABREU, C. S.; OLIVEIRA, M. C.; RIBEIRO, V. P.; GOMES, E. A.; LANA, U. G. P.; MARRIEL, I. E.; PAIVA, C. A. O. Potencial de microrganismos rizosféricos e endofíticos de milho em solubilizar fosfato de ferro e produzir sideróforos. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2018.
- BEDENDO, I. P.; PRABHU, A. S. Doenças do arroz. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Eds). **Manual de fitopatologia - doenças de plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Editora Ceres, 2005.
- BÉLANGER, R. R.; BOWEN, P. A.; EHRET, D. L.; MENZIES, J. G. Soluble silicon – its role in crop and disease management of greenhouse crops. **Plant Disease**, St. Paul, v. 79, n. 4, 1995.
- BERNI, R. F.; PRABHU, A. S. Eficiência relativa de fontes de silício no controle de brusone nas folhas em arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, p. 195-201, 2003.
- BHATTACHARYYA, P. N.; JHA, D. K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. **World Journal Microbiology Biotechnology**, v. 28, p. 1327-1350, 2012.
- BHOM, W, **Methods of studying root systems**. New York: Springer-Verlag, 1979. 188 p.
- BIANCO, C.; IMPERLINI, E.; CALOGERO, R.; SENATORE, B.; AMORESANO, A.; CARPENTIERI, A.; PUCCI, P.; DEFEZ, R. Indol-3-acetic acid improves *Escherichia coli* defenses to stress. **Archives of Microbiology**, Berlin, v. 185, p. 373-382, 2006.
- BIRCHALL, J. D. The essentiality of silicon in biology. **Chemical Society Reviews**, v. 24, p. 351-357, 1995.
- BISWAS, B.; GRESSHOFF, P. M. The role of symbiotic nitrogen fixation in sustainable production of biofuels. **International Journal of Molecular Sciences**, New York, v. 15, p. 7380-7397, 2014.
- BLUM, A. Effective use of water (EUW) and not water-use efficiency (WUE) is the target of crop yield improvement under drought stress. **Field Crops Research**, v. 112, p. 119-194, 2009.

BOHNERT, H. J.; NELSON, D. E.; JENSEN, R.G. Adaptations to environmental stresses. **The Plant Cell**, v. 7, p. 1099-1111, 1995.

BOLLER, T.; FELIX, G. A renaissance of elicitors: perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors. **Annual Review of Plant Biology**, v. 60, p. 379-406, 2009.

BOYER, J. S. Advances in drought tolerance in plants. **Adv. Agron.**, v. 56, p. 187-217, 1996.

BRESSON, J.; VASSEUR, F.; DAUZAT, M.; LABADIE, M.; VAROQUAX, F.; TOURAINE, B.; VILE, D. Interact to survive: *Phyllobacterium brassicacearum* improves *Arabidopsis* tolerance to severe water deficit and growth recovery. **PloS ONE**, v. 9, e107607, 2014.

BRANDA, S. S.; VIK, S.; FRIEDMAN, L.; KOLTER, R. Biofilms: the matrix revisited. **Trends in Microbiology**, Cambridge, v. 13, p. 20-26, 2005.

BUONAURIO, R.; IRITI, M.; ROMANAZZI, G. Induced resistance to plant diseases caused by oomycetes and fungi. **Petria**, v. 19, p. 130-148, 2009.

CAI, Y., WANG, R.; AN, M. M.; BEI-BEI, L. Iron-depletion prevents biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa* through twitching motility and quorum sensing. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 41, p. 37-41, 2010.

CAI, T.; CAI, W.; ZHANG, J.; ZHENG, H.; TSOU, A. M.; XIAO, L.; ZHONG, Z.; ZHU, J. Host legume-exuded antimetabolites optimize the symbiotic rhizosphere. **Molecular Microbiology**, v. 73, n. 3, p. 507-517, 2009.

CALBO, M. E. R.; MORAES, J. A. Efeitos da deficiência de água em plantas de *Euterpe oleracea* (açai). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 23, p. 225-230. 2000.

CAMPOS, H.; COOPER, M.; HABBEN, J. E.; EDMEADES, G. O.; SCHUSSLER, J. R. Improving drought tolerance in maize: a view from industry. **Field Crops Research**, v. 90 p. 19-34, 2004.

CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do solo**. 2. ed. Piracicaba: ESALQ, 2016. 221 p.

CASTRO, R. A.; DOURADO, M. N.; ALMEIDA, J. R.; LACAVA, P. T.; NAVE, A.; MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L.; QUECINE, M. C. Mangrove endophyte promotes reforestation tree (*Acacia polyphylla*) growth. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 49, n. 1, p. 59-66, 2018.

CASTRO, R. A.; QUECINE, M. C.; LACAVA, P. T.; BATISTA, B. D.; LUZIVOTTO, D. M.; MARCON, J.; FERREIRA, A.; MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. Isolation and enzyme bioprospection of endophytic bacteria associated with plants of Brazilian mangrove ecosystem. **SpringerPlus**, v. 3, n. 1, p. 1-9, 2014.

CASTROAGUDÍN, V. L.; CERESINI, P. C.; OLIVEIRA, S. C.; REGES, J. T. A.; MACIEL, J. L. N.; BONATO, A. L. V. DORIGAN, A. F.; McDONALD, B. A. Resistance to QoI Fungicides Is Widespread in Brazilian Populations of the Wheat Blat Pathogen *Magnapothae oryzae*. **Phytopathology**, v. 105, n. 3, p. 284-294, 2015.

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.

CHAUHAN, H.; BAGYARAJ, D. J.; SELVAKUMAR, G.; SUNDARAM, S. P. Novel plant growth promoting rhizobacteria - Prospects and potential. **Applied Soil Ecology**, v. 95, p. 38-53, 2015.

CHAVES, M. M.; OLIVEIRA, M. M. Mechanisms underlying plant resilience to water deficit: prospects for water-saving agriculture. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, p. 2365-2384, 2004.

CHAVES, M. M. Effects of water deficits on carbon assimilation. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 42, p. 1-16, 1991.

CHEN, D.; WANG, S.; YIN, L. DENG, X. How does silicon mediate plant water uptake and loss under water deficiency? **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 9, p. 281, 2018.

CHITHRASHREE, A. C.; UDAYASHANKAR, S.; CHANDRA NAYAKA, S.; REDDY M. S.; SRINIVAS, C. Plant growth-promoting rhizobacteria mediate induced systemic resistance in rice against bacterial leaf blight caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. **Biological Control**, v. 59, p. 114-122, 2011.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Séries históricas de safra**, 2020. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/serie-historica-das-safras>>. Acesso em 21 Jan. 2021.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. Brasília, DF: Safra 2018/2019, 2019. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br>>. Acesso em 25 de Jan. 2021.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra Brasileira de grãos: Terceiro levantamento, safra 2017/18**. Brasília: Conab. v. 5 n. 3, p. 130, 2017. Disponível em: <<file:///C:/Users/Denner%20Robert/Downloads/BoletimZGraosZdezembroZ2017.pdf>>. Acesso em 22 de Nov. 2020.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos. Décimo segundo levantamento da safra 2017/18. 2018**. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/>>. Acesso em 21 de Jan. 2021.

COOK, R. J.; BAKER, K. F. The nature and practice of biological control of plant pathogens. Minnesota: **The American Phytopathological Society**, 1983.

CORDEIRO, M. A. S.; CORÁ, J. E.; NAHAS, E. Atributos bioquímicos e químicos do solo rizosférico e não rizosférico de culturas em rotação no sistema de semeadura direta. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, v. 36, n. 6, p. 1794-1803, 2012.

CORNELIS, P. *Peudomonas* - Genomics and Molecular Biology. 1ª ed., Norfolk (UK): Caister Academic Press, 2008. 264 p.

CORTÊS, A. C. A. S.; SOUSA, T. P. ; CORTES, M. V. C. ; RODRIGUES, F. A. ; SILVA, G. B. ; FILIPPI, M. C. C. . Enzyme-Induced Defense Response in the Suppression of Rice Leaf Blast (*Magnaporthe Oryzae*) By Silicon Fertilization and Bioagents. **Internatinal Journal of Research Studies in Biosciences**, v. 3, p. 22-32, 2015.

COUNCE, P. A.; KEISLING, T. C.; MITCHELL, A. A uniform, objective, and adaptative system for expressing rice development. **Crop Science**, Madison, v. 40, n. 2, p. 436-443, 2000.

CRAMER, G. R.; URANO, K.; DELROT, S.; PEZZOTTI, M.; SHINOZAKI, K. Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective. **BMC Plant Biology**, London, v. 11, p. 163, 2011.

CRUSCIOL, C. A.; SORATTO, R. P.; CASTRO, G. S.; COSTA, C. H.; NETO, J. F. Aplicação foliar de ácido silícico estabilizado na soja, feijão e amendoim. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 44, n. 2, p. 404, 2013.

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

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

DAR, Z. M.; MASOOD, A.; MUGHAL, A. H.; ASIF, M.; MALIK, M. A. Review on Drought Tolerance in Plants Induced by Plant Growth Promoting Rhizobacteria. **J Pharmacogn Phytochem**, v. 7, n. 3, p. 2802-2804, 2018.

DAS, S. K.; VARMA, A. Role of enzymes in maintaining soil health. In: SHUKLA, G.; VARMA, A. Soil Enzymology Berlin: **Springer-Verlag**. p.25-42, 2011.

DATNOFFT, L.; ELMER, W.; HUBER, D. **Mineral nutrition and plant disease**. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN, 2007.

DAVIES, W. J.; ZHANG, J. Roots signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. **Annual Review of Plant Physiology**, Stanford, v. 42, p. 55-76, 1991.

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

DEMIREVSKA, K.; SIMOVA-STOILOVA, L.; VASSILEVA, V.; FELLER, U. Rubisco and some chaperone protein responses to water stress and rewatering at early seedling growth of drought sensitive and tolerant wheat varieties. **Plant Growth Regul**, v. 56, n.2, p. 97-106, 2008.

DEMO, M. **Caracterización y estudios de patogenicidad de cepas del género *Staphylococcus* asiladas de leches mastíticas**. Tese (Doutorado em Microbiologia) - Universidad Nacional de Rio Cuarto, Rio Cuarto, Argentina, 1996.

DENNIS, C.; WEBSTER, J. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma* III. Hyphal interactions. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 57, n. 3, p.363-369, 1971.

DETMANN, K. C.; ARAÚJO, W. L.; MARTINS, S. C. V.; SANGLARD, L. M. V. P.; REIS, J. V.; DETMANN, E.; RODRIGUES, F. A.; NUNES-NESE, A.; FERNIE, A. R.; DAMATTA, F. M.; Silicon nutrition increases grain yield, which, in turn, exerts a feed-forward stimulation of photosynthetic rates via enhanced mesophyll conductance and alters primary metabolism in rice. **New Phytologist**, v. 196, p. 752-762, 2012.

DIAS MARTINS, T.; LAVORENTI, N. A.; URASHIMA, A. S. Comparação entre métodos para avaliação de transmissão de *Pyricularia grisea* através de sementes em triticales. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29. n. 4, p. 425-428, 2004.

DIMPKA, C.; WEINAND, T.; ASCH, F. Plant-rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. **Plant Cell, Environ**, v. 32, p. 1682-1694, 2009.

DIXON, R. A.; HARRISON, M. J.; LAMB, C. J. Early events in the activation of plant defence responses. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 32, p. 479-501, 1994.

DOKE, N.; MIURA, Y.; SANCHEZ, L. M.; PARK, H.-J.; NORITAKE, T.; YOSHIOKA, H.; KWAKITA, K. The oxidative burst protects plants against pathogen attack: mechanism and role as an emergency signal for plant bio-defence - a review. **Gene**, v. 179, p. 45-51, 1996.

DURÁN, P.; ACUÑA, J. J.; ARMADA, E.; LÓPEZ-CASTILLO, O. M.; CORNEJO, P.; MORA, M. L.; AZCÓN, R. Inoculation with selenobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi to enhance selenium content in lettuce plants and improve tolerance against drought stress. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 16, p. 201-225, 2016.

EBBOLE, D. J.; *Magnaporthe* as a model for understanding host-pathogen interactions. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 45, p. 437-456, 2007.

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

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Consumo Per capita de Arroz (*Oryza sativa* L.) e de Feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.), no Brasil, de 1985 a 2019.**, 2020. Disponível em: <https://www.cnpaf.embrapa.br/socioeconomia/docs/arroz/consumopercapitaarrozefejao.htm>. Acesso 02 de fevereiro de 2021.

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.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Mineral nutrition of plants: principles and perspectives**. Sunderland: Sinauer Associates, 2005. 380 p.

EPSTEIN, E. Silicon. **Annual Review Plant Physiology Plant Molecular Biology**, v. 50, p. 641-64, 1999.

FABIANSKA, I.; GERLACH, N.; ALMARIO, J.; BUCHER, M. Plant-mediated effects on soil phosphorus on the root-associated fungal microbiota in *Arabidopsis thaliana*. **New Phytologist**, v. 221, p. 2123-2137, 2019.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAO Rice Market Monitor: FAO, 2016**. Disponível em: www.fao.org/economic/est/publications/rice-publications/rice-market-monitor-rmm/en/. Acesso: 08 de Jan. 2021.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **World Reference Base for Soil Resources 2014 International Soil Classification System for Naming Soils and Creating Legends for Soil Maps**. World Soil Resources Reports n. 106, FAO, Rome, 2014.

FAULKNER, C.; ROBATZEK, S. Plants and Pathogens: putting infection strategies and defence mechanisms on the map. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 15, p. 699-707, 2012.

FEYS, B. J.; PARKER, J. E. Interplay of signaling pathways in plant disease resistance. **Trends in Genetics**, Oxford, v. 16, n. 1, p. 449-455, 2000.

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.

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

FILIPPOU, P.; BOUCHAGIER, P.; SKOTTI, E.; FOTOPOULOS, V. Proline and reactive oxygen/nitrogen species metabolism is involved in the tolerant response of the invasive plant species *Ailanthus altissima* to drought and salinity. **Environmental and Experimental Botany**, v. 97, p. 1-10, 2014.

FITTER, A. H.; HAY, R. K. M. 1987. **Environmental Physiology of Plants**. USA, Academic Press, 1987. 422 p.

FLEMMING, H. C. J.; WINGENDER, G.; MAYER, C. Physico-chemical properties of biofilms. In: EVANS, L. V. (Ed). **Biofilms: recent advances in their study and control**, Amsterdam: Harwood Academic, p.19-34, 2000.

FLEXAS, J.; BARÓN, M.; BOTA, J.; DUCRUET, J.; GALLÉ, A.; GALMÉS, J.; JIMÉNEZ, M.; POU, A.; RIBAS-CARBÓ, M.; SAJNANI, C.; TOMÀS, M.; MEDRANO, H. Photosynthesis limitations during water stress acclimation and recovery in the drought adapted *Vitis* hybrid Richer-110 (*V. berlandieri* x *V. rupestris*). **Journal of Experimental Botany**, v. 60, p. 2361-2377, 2009.

FRANCHE, C.; LINDSTROM, K.; ELMERICH, C. Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants. **Plant and Soil**, The Hague, v. 321, p. 35-59, 2009.

FRANK, J. F.; CHRISTEN, G. L.; BULLERMAN, L. B. Tests for groups of microorganisms. In: MARSHALL, R. T. **Standard methods for the examination of dairy products**. Washington: American Public Health Association, p. 271-286 2005.

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

GAO, L.; JIN, Z.; HUANG, Y.; ZHANG, L. Rice clock model - a computer model to simulate rice development. *Agricultural and Forest Meteorology*, Amsterdam, v. 60, n. 1, p. 1-16, 1992.

GHEVARIYA, K. K.; DESAI, P. B. Rhizobacteria of sugarcane: *in vitro* screening for their plant growth promoting potentials. **Research Journal of Recent Sciences**, Chicago, v. 3, p. 52-58, 2014.

GLAZEBROOK, J. Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 43, p. 205-227, 2005.

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

GLICK, B. R.; PATTEN, C. L.; HOLGUIN, G.; PENROSE, D. M. Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth-promoting bacteria. London: Imperial College Press, 1995. 270 p.

GLICK, B. R. Plant growth-promotion bacteria: mechanisms and applications. New York: Hindawi Publishing Corporation; **Scientifica**, p. 33, 2012.

GLICK, B. R. Modulation of plant ethylene levels by the bacterial enzyme ACC desaminase. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 251, p. 1-7, 2005.

GLICK, B. R.; PENROSE, D. M.; LI, J. A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria. **Journal of Theoretical Biology**, v. 190, n.1, p. 63-68, 1998.

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

GHOSH, R.; BARMAN, S.; MUKHERJEE, R.; MANDAL, N. C. Role of phosphate solubilizing *Burkholderia* spp. for successful colonization and growth promotion of *Lycopodium cernuum* L. (Lycopodiaceae) in lateritic belt of Birbhum district of West Bengal, India. **Microbiological Research**, Jena, v. 183, p. 80-91, 2016.

GOLDMANN, I. L.; CARTER, T.E. Jr., PATTERSON, R. P. A detrimental interaction of subsoil aluminum and drought estress on the leaf water status of soybean. **Agronomy Journal, Madison**, v.81, n.3, p.461-463, 1989.

GOMES, C. F.; MARCHETTI, M. E.; NOVELINO, J. O.; MAUAD, M.; ALOVISI, A. M. T. Disponibilidade de silício para a cultura do arroz, em função de fontes, tempo de incubação e classes de solo. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 41, p. 531-538, 2011.

GONG, M.; LI, Y. L.; CHEN, S. Z. Absciscic acid-induced thermotolerance in maize seedling is mediated by calcium and associated with antioxidante systems. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 153, p. 488-496, 1998.

GRAY, E.; SMITH, D. Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant–bacterium signaling processes. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 37, n. 3, p. 395-412, 2005.

GUNES, A.; BAGCI, E. G.; COBAN, S. Silicon-mediated changes on some physiological and enzymatic parameters symptomatic of oxidative stress in barley grown in sodic-B toxic soil. **Journal of Plant Physiology**, v. 164, n. 6, p. 807-811, 2007.

GUNES, A.; PILBEAM, D. J.; INAL, A.; COBAN, S. Influence of silicon on sunflower cultivars under drought stress, in growth, antioxidant mechanisms, and lipid peroxidation. **Journal Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 39, n. 13-14, p. 1532–2416, 2008.

GUPTA, G. et al. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Current and Future Prospects for Development of Sustainable Agriculture. **Journal Microbiolgy Biochemical Technoly**, v. 7, n. 2, p. 96-102, 2015.

GUPTA, G.; PANWAR, J.; JHA, P. N. Natural occurrence of *Pseudomonas aeruginosa*, a dominant cultivable diazotrophic endophytic bacterium colonizing *Pennisetum glaucum* (L.) R. Br. **Applied Soil Ecology**, v. 64, p. 252–261, 2013.

HABIB, A.; JAVED, N.; SAHI, S. T.; WAHEED, M. Detection of seed borne mycoflora of different coarse and fine rice varieties and their management through seed treatments. **Pakistan Journal of Phytopathology**, v. 24, n. 2, p. 133-136, 2012.

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

HARB, A.; KRISHNAN, A.; AMBAVARAM, M. M.; PREREIRA, A. Molecular and physiological analysis of drought stress in *Arabidopsis* reveals early responses leading to acclimation in plant growth. **Plant Physiology**, v. 154, n. 3, p. 1254-1271, 2010.

HEIL, M.; BOSTOCK, M. R. Induced systemic resistance (ISR) against pathogens in the context of induced plant defences. **Annals of botany**, London, v. 89, p. 503-512, 2002.

HEISER, H.; OSSWALD, W. F. Formação e função das espécies reativas de oxigênio nas interações planta-patógeno. In: PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J.R.; CIA, P. (Ed.). **Interação Planta Patógeno – fisiologia, Bioquímica e Biologia Molecular**. Piracicaba: FEALQ, p.249-283, 2008.

HERNANDEZ-APAOLAZA, L. Can silicon partially alleviate micronutrient deficiency in plants a review. **Planta**, v. 240, p. 447-458, 2014.

HERRERA-QUITERIO, A.; TOLEDO-HERNÁNDEZ, E.; AGUIRRE-NOYOLA, J. L.; ROMERO, Y.; RAMOS, J.; PALEMÓN-ALBERTO, F.; TORIBIO-JIMÉNEZ, J. Antagonic and plant growth-promoting effects of bacteria isolated from mine tailings at El Fraile, Mexico. **Revista Argentina de Microbiologia**, v.20, p. 231-239, 2020.

HMID, A.; CHAMI, Z. A.; SILLEN, W.; DE VOCHT, A.; VANGRONSVELD, J. Olive mill waste biochar: a promising soil amendment for metal immobilization in contaminated soils. **Environ SciPollut Res**. v. 22, p. 1444-1456, 2015.

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

HUANG, B.; DACOSTA, M.; JIANG, Y. Research advances in mechanisms of turfgrass tolerance to abiotic stresses: From physiology to molecular biology. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 33, p. 141-189, 2014.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasiliense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Londrina, Embrapa Soja, 36 p. - (Documentos / Embrapa Soja), 2011.

IGIEHON, N. O; BABALOLA, O. O. Biofertilizers and sustainable agriculture: exploring arbuscular mycorrhizal fungi. **Appl Microbiol Biotechnol**, v. 101, n. 12, p. 4871-4881, 2017.

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

ISHIGURO, K. Chapter 17 Review of research in Japan on the roles of silicon in conferring resistance against rice blast. **Studies in Plant science**, v. 8, p. 277-291, 2001.

JALALI, B.L.; BHARGAVA S.; KAMBLE, A. Signal transduction and transcriptional regulation of plant defence responses. **Journal of Phytopathology**, Berlim, v. 154, p. 65-74, 2006.

JALEEL, C. A.; MANIVANNAN, P.; WAHID, A.; FAROOQ, M.; AL-JUBURI, H. J.; SANDA, S.; YOSHIDA, K.; MASAYOSHI, K.; KAWAMURA, T.; MUNEKAGE, Y. N.; AKASHI, K.; YOKOTA, A. Responses of the photosynthetic electron transport system to excess light energy caused by water deficit in wild watermelon. **Physiologia Plantarum**. 142: 247-264, 2011.

JIANG, Y.; HUANG, B.; Protein alterations in tall fescue in response to drought stress and abscisic acid. **Crop Science**, Madison, n. 42, p. 202-207, 2002.

KARPAGAM, T., NAGALAKSHMI, K. Isolation and characterization of Phosphate Solubilizing Microbes from Agricultural soil. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**. v. 3, n. 3, p. 601-314, 2014.

KARADENIZ, A.; TOPCUOGLU, S. F.; INAN, S. Auxin, gibberellin, cytokinin and abscisic acid production in some bacteria. **World Journal of Microbiology and Biotchnology**, Seattle, v. 22, p. 1061-1064, 2006.

KASIM, W. A.; GAAFAR, R. M.; ABOU-ALI, R. M.; OMAR, M. N.; HEWAIT, H. M. Effect of biofilm forming plant growth promoting rhizobacteria on salinity tolerance in barley. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 61, n. 2, p. 217-227, 2016.

KASIM, W. A.; OSMAN, M. E.; OMAR, M. N.; EL-DAIM; I. A. A.; BEJAI, S.; MEIJER, J. Control of drought stress in wheat using plant-growth-promoting bacteria. **J Plant Growth Regul**, v. 32, n.1, p. 122-130, 2013.

KAVAMURA, V. N.; SANTOS, S. N.; SILVA, J. L.; PARMA, M. M.; AVILA, L. A. Screening of Brazilian cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought. **Microbiological Research**, Jaguariúna, v. 168, p. 183-191, 2013.

KENDE, H.; ZEEVAART, J. A. D. The five “classical” plant hormones. **The Plant Cell**, Rockville, v. 9, p. 1197-1210, 1997.

KHAN, Z.; RHO, H.; FIRRINCIELI, A.; HUNG, S. H.; LUNA, V.; MASCIARELLI, O.; KIM, S.; DOTY, S. L. Growth enhancement and drought tolerance of hybrid poplar upon inoculation with endophyte consortia. **Curr Plant Biol**, v. 6, p. 38-47, 2016c.

KING, E.O.; WARD, M. k.; RANEY D.E. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. **Journal of Laoratory and Clinical Medicine**. Milwaukee, v. 44, p. 301-307, 1954.

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

KØRUP, K.; LÆRKE, P. E.; BAADSGAARD, H.; ANDERSEN, M. N.; KRISTENSEN, K.; MÜNNICH, C.; DIDION, T.; JENSEN, E. S.; MARTENSSON, L. M., JORGENSEN, U. Biomass production and water use efficiency in perennial grasses during and after drought stress, **Glob Change Biol Bioenergy**, v. 10, n. 1, p. 12-27, 2017.

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.

KUMAR, A.; KUMAR, A.; DEVI, S.; PATIL, S. PAYAL, C.; NEGI, S. Isolation, screening and characterization of bacteria from rhizospheric soils for different plant gorwth promotion (PGP) activities: na *in vitro* study. **Recent Research in Science and Technology**, Chicago, v. 4, n. 1, p. 1-5, 2012.

KUMAR, A.; LI, C.; PORTIS A. R. J. Arabidopsis thaliana expressing a thermostable chimeric Rubisco activase exhibits enhanced growth and higher rates of photosynthesis at moderately high temperatures. **Photosynth Res**. 100: 143-153, 2009.

LAMBRECHT, M.; OKON, Y.; BROEK, A. V.; VANDERLEYDEN, J. Indole-3-acetic acid: a reciprocal molecule in bacteria-plant interactions. **Trends in Microbiology**, Cambridge, v. 8, n. 7, p. 298-300, 2000.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos, SP: RiMa, 2006. 550 p.

LAWLOR, D. W.; TEZARA, W. Causes of decreased photosynthetic rate and metabolic capacity in water-deficient leaf cells: a critical evaluation of mechanisms and integration of processes. **Annals of Botany**, v. 103, p. 561-579, 2009.

LEMOS, M. T. O. **Prospecção de rizobactérias promotoras de crescimento em quatro espécies arbóreas nativas do Brasil**. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 72f, 2009.

LEITE, B.; RONCATO, L.D.B.; PASCHOLATI, S.F.; LAMBAIS, M.R. Reconhecimento e transdução de sinais moleculares em interações planta-fungos patogênicos. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 5, p. 235-280, 1997.

LEUBNER-METZGER, G.; MEINS, F. Functions and regulation of plant β -1,3-glucanases (PR-2), In: **Pathogenesis-related proteins in plants**. DATTA, S.K.; MMUTHUKRISHNAN, S. (Eds) CRC Press, p.49-76, 1999.

- LI, H., GUAN, Y., DONG, Y., ZHAO, L., RONG, S., CHEN, W. 2018. Isolation and evaluation of endophytic *Bacillus tequilensis* GYLH001 with potential application for biological control of *Magnaporthe oryzae*. **PLoS ONE**, v. 13, n. 10, p. 1-18, 2018.
- LIM, J. H.; KIM, S. D. Induction of drought stress resistance by multi-functional PGPR *Bacillus licheniformis* K11 in Pepper. **Plant Pathology Journal**, v. 29, p. 201-208, 2013.
- LUCAS J. A.; RAMOS S. B.; MONTES, F.; OJEDA, J.; MEGIAS, M.; GUTIERREZ M. F. J. Use of two PGPR strains in the integrated management of blast disease in rice (*Oryza sativa*) in Southern Spain. **Field Crops Resource**. v. 14, p. 404-410, 2009.
- LUCON, C. M. M.; AKAMATSU, M. A.; HAKAKAVA, R. Promoção de crescimento e controle de tombamento de plântulas de pepino por rizobactérias. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 6, p. 691-697, 2008.
- LUZ, W. C. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e de bioproteção. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Passo Fundo, v. 4, p. 1-50, 1996.
- LUZ, J. M. Q.; GUIMARAES S. T. M. R.; KORNDÖRFER, G. H. Produção de alface em solução nutritiva com e sem silício. **Horticultura Brasileira, Brasília**, v. 4, n. 3, p. 295-300, 2006.
- MA, Y.; RAJKUMAR, M.; ZHANG, C.; FREITAS, H. Inoculation of *Brassica oxyrrhina* with plant growth promoting bacteria for the improvement of heavy metal phytoremediation under drought conditions. **Journal Hazard Mater**, v. 320, p. 36-44, 2016.
- MA, J. F.; YAMAJI, N.; MITANI, N.; TAMAI, K.; KONISHI, S.; FUJIWARA, T.; KATSUHARA, M.; YANO, M. An efflux transporter of silicon in rice. **Nature**, London, v. 448, p. 209-212, 2007.
- MA, J. F.; YAMAJI, N. Silicon uptake and accumulation in higher plants. **Trends Plant Science**, v.11, p.392-397, 2006.
- 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.
- MACIEL, J. L. N. *Magnaporthe oryzae*, the blast pathogen: current status and options for its control. **CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Nature Resources**, Whashington, v. 50, p. 1-7, 2011.
- MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. Piracicaba: Editora Ceres, 2006. 631 p.
- MARIJUAN, M. P.; BOSCH, S. M. Ecophysiology of invasive plants: osmotic adjustment and antioxidants. **Trends in Plant Science**, v. 18, p. 660-666, 2013.

MARQUES, A. P. G. C.; PIRES, C.; MOREIRA, H.; RANGEL, A. O. S.S.; CASTRO, P. M. L. Assessment of the plant growth promotion abilities of six bacterial isolates using *Zea mays* as indicator plant. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 42, n. 5, p. 1229-1235, 2010.

MARRA, L. M., SOARES, C. R. F. S.; OLIVEIRA, S. M.; FERREIRA, P. A. A.; SOARES, B. L.; CARVALHO, R. F.; LIMA, J. M.; MOREIRA, F. M. S. Biological nitrogen fixation and phosphate solubilization by bacteria isolated from tropical soils. **Plant and Soil**, v. 357, p. 389-307, 2012.

MARTÍNEZ, L. L.; PENICHE, R. A. M.; ITURRIAGA, M. H.; MEDRANO, S. M. A.; AGUILAR, J. R. P. Caracterización de rizobacterias aisladas de tomate y su efecto en el crecimiento de tomate y pimiento. **Revista Fitotecnia Mexicana**, vol. 36, n. 1, p. 63-69, 2013.

MARTINS, B. E. M.; CHAIBUB, A. A.; CORTES, M. V. C. B.; SILVA-LOBO, V. L.; FILIPPI, M. C. C. Characterization of bacterial isolates for sustainable rice blast control. **Revista Caatinga**, v. 33, p. 702-712, 2020.

MARSCHNER H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2ed. London, UK: Academic Press; 1995. 912 p.

MARULANDA, A.; PORCEL, R.; BAREA, J. M.; AZCO, N. R. Drought tolerance and antioxidante activities in lavender plants colonized by native drought-tolerant or drought-sensitive *Glomus* species. **Microbial Ecology**, Washington, v. 54, p. 543-552, 2009.

MAUREL, C.; VERDOUCQ, L.; RODRIGUES, O. Aquaporins and plant transpiration. **Plant Cell Environ**, v. 39, n. 11, p. 2580-2587, 2016.

MEHDY, M. C.; SHARMA, Y. K.; SATHASIVAN, K.; BAYS, N. W. The role of activated oxygen species in plant disease resistance. **Physiologia Plantarum**. v. 98, p. 365-374, 1996.

MELIANI, A.; BENSOLTANE, A.; BENIDIRE, L.; OUFDU, K. Plant Growth-Promotion and IAA secretion with *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*. **Journal of Botanical Sciences**, v. 6, n. 2, p. 16-24, 2017.

MILLER, G.; SUZUKI, N.; CIFTCI-YILMAZ, S.; MITTLER, R. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. **Plant Cell Environment**. Oxford, v. 33, p. 453-467, 2010.

MIRZA, M. S.; AHMAD, W.; LATIF, F.; HAURAT, J.; BALLY, R.; NORMAND, P.; MALIK, K. A. Isolation, partial characterization, and the effect of plant growth-promotion bacteria (PGPB). **Microbial Ecology**, Orlando, v. 51, p. 56-69, 2001.

MIZUBUTI, E. S. G.; MAFFIA, L. A. **Introdução à Fitopatologia**. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, 2006. 190 p.

MONAGHAN, J.; ZIPFEL, C. Plant pattern recognition receptor complexes at the plasma membrane. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 15, p. 349-357, 2012.

MONIER, J. M.; LINDOW, S.E Differential survival of solitary and aggregated bacterial cells promote aggregate formation on leaf surfaces. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 100, n. 26, p. 15077-15982, 2003.

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

MOTT, K. A.; BUCKLEY, T. N.; Stomatal heterogeneity. **Journal of Experimental Botany**. v. 49, p. 407-417, 1998.

MURCHIE, E. H.; PINTO, M.; HORTON. Agriculture and the new challenges for photosynthesis research. **New Phytologist**, v. 181, p. 532-552, 2008.

MUTAVA, R.N.; PRINCE, S. J. K.; SYED, N. H.; SONG, L.; VALLIYODAN, B.; CHEN, W.; NGUYEN, H.T. Understanding abiotic stress tolerance mechanisms in soybean: a comparative evaluation of soybean response to drought and flooding stress. **Plant Physiol Biochem**, v. 86, p. 109-120, 2015.

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

NAUREEN, Z.; HAFEEZ, F. Y.; HUSSAIN, J.; AL HARRASI, A.; BOUQELLAH, N.; ROBERTS, M. R. 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**, v. 11, n. 3, p. 186-207, 2015.

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

NOVAIS, R. F.; SMYTH, T. J. **Fósforo em solo e planta em condições tropicais**. Viçosa, MG: UFV, 1999. 399 p.

OLIVER, R. J.; FINCH, J. W.; TAYLOR, G. Second generation bioenergy crops and climate change: a review of the effects of elevated atmospheric CO₂ and drought on water use and the implications for yield. **CGB Bionergy**, v. 1, p. 97-114, 2009.

ORTIZ, N.; ARMADA, E.; DUQUE, E.; ROLDAN, A.; AZCON, R. Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi and/or bacteria to enhancing plant drought tolerance under natural soil conditions: effectiveness of autochthonous or allochthonous strains. **Journal Plant Physiol**, v. 174, p. 87-96, 2015.

PANDEY, R. & AGARWAL, R.M. Water stress-induced changes in proline contents and nitrate reductase activity in rice under light and dark conditions. **Physiol. Mol. Biol. Plants**, v. 4, p. 53-57, 1998.

PARAGINSKI, R. T.; ZIEGLER, V.; TALHAMENTO, A.; ELIAS, M. C.; OLIVEIRA, M. Propriedades tecnológicas e de cocção em grãos de arroz condicionados em diferentes temperaturas antes da parboilização. **Braslian Journal of Food Technology**, v. 17, n. 2 p. 146-153, 2014.

PARSEK, M. R.; FUQUA, C. Biofilms: emerging themes and challenges in studies of surface-associated microbial life. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 186, n. 14, p. 4427-4440, 2004.

PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B. Hospedeiro: Mecanismos de Resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds). **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v. 1, p.417-453.

PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J. R.; CIA, P. **Interação planta-patógeno: fisiologia, bioquímica e biologia molecular**. 1. ed. Piracicaba: Fealq, 2008. 627 p.

PAYNE, S. M. Iron and virulence in the family Enterobacteriaceae. **CRC Critical Reviews in Microbiology**, v. 16, p. 81-111, 1988.

PEREIRA, M. O.; VIEIRA, M. J. Effects of the interations between glutaraldehyde and the polymeric matrix on the efficacy of the biocide against *Pseudomonas fluorescens* biofilms. **Biofouling**, v. 17, p. 93-101, 2001.

PEREIRA, J. S.; PALLARDI, S. Water stress limitation to tree productivity. In: **Biomass production by fast growing trees** (J.S. Pereira & J.J. Landsberg eds.). London, Kluwer Academic. p. 37-56, 1989.

PIETERSE, C. M. J.; VAN PELT, J. A.; VAN WEES, S. C. M.; TON, J.; VERHAGEN, B. W. M.; LÉON-KLOOSTERZIEL, K.; HASE, S.; DE VOS, M.; OOSTEN, V. V.; POZO, M.; SPOEL, S.; VAN DER ENT, S.; KOORNNEEF, A.; CHALFUN-JUNIOR, A.; RESENDE, M. L.V.; VAN LOON, L. C. Indução de resistência sistêmica por rizobactérias e comunicação na rota de sinalização para uma defesa refinada. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 13, p. 277-295, 2005.

PIMENTEL, C. **Metabolismo de carbono na agricultura tropical**. Seropédica: Edur, 1998. 158 p.

PONTIGO, S.; RIBERA, A.; GIANFREDA, L.; MORA, M. L.; NIKOLIC, M.; CARTES, P. Silicon in vascular plants: uptake, transport and its influence on mineral stress under acidic conditions. **Planta**, Berlin, v. 242, n. 1, p. 23-37, July 2015.

PINHEIRO, C; CHAVES, M. M. Photosynthesis and drought: can we make metabolic connections from avaiable data? **Journal Experimental Botany**, v. 62, p. 869-882, 2011.

PRABHU, A. S.; BARBOSA FILHO, M. P.; FILIPPI, M. C.; DATNOFF, L. E.; SNYDER, G. H. Silicon from disease control perspective in Brazil. In: DATNOFF, L. E.;

SNYDER, G. H.; KORNDÖRFER, G. H. Silicon in agriculture. Amsterdam. **Elsevier**, p. 293-311. 2001.

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

PRIGENT-COMBARET, C.; BLAHA, D.; POTHIER, J. F.; VIAL, L.; POIRIER, M. A.; WISNEWSKI-DYÉ, F.; MOENNE-LOCCOZ, Y. Physical organization and phylogenetic analysis of *acdR* as leucine-responsive regulator of the 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase gene *acdS* in phytobeneficial *Azospirillum lipoferum* 4B and other Proteobacteria. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 65, n. 1, p. 202-219, 2008.

RAMEY, B. E.; KOUTSOUDIS, M. D.; von BODMAN, S. B.; FUQUA, C. Biofilm formation in plant-microbe associations. **Current Opinion in Microbiology**, Oxford, v. 7, p. 602-609, 2004.

RAMOS, R. F.; SOBUCKI, L.; ROHRIG, B.; LUDWIG, J.; DAROIT, D. J. Diversidade funcional de bactérias isoladas de solos rizosférico e não rizosférico em cultura de milho. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 17, n. 3, p. 417-427, 2018.

RAMOS, L. N. **Estrutura populacional e parâmetros epidemiológicos de isolados de *Magnaporthe grisea* (Barr)**. 2009. 139 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Instituto de Biologia, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2009.

REIS, C. O.; MAGALHÃES, P. C.; AVILA, R. G.; ALMEIDA, L. G.; RABELO, V. M.; CARVALHO, D. T.; CABRAL, D. F.; KARAM, D.; SOUZA, T. C. Action of N-Succinyl and N, O-Dicarboxymethyl Chitosan Derivatives on Chlorophyll Photosynthesis and Fluorescence in Drought-Sensitive Maize. **J Plant Growth Regul**, v. 38, p. 619-630, 2018.

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

ROLLI, E.; MARASCO, R.; VIGANI, G.; ETTOUMI, B.; MAPELLI, F.; DEANGELIS, M.L.; GANDOLFI, C.; CASATI, E.; PREVITALI, F.; GERBINO, R.; CEI, F. P.; BORIN, S.; SORLINI, C.; ZOCCHI, G., DANIELE, D. Improved plant resistance to drought is promoted by the root-associated microbiome as a water stress-dependent trait. **Environ. Microbiol.**, v. 17, p. 316-331, 2014.

ROMERO, M.; ACUÑA, L.; OTERO, A. Patents on quorum quenching: interfering with bacterial communication as a strategy to fight infections. **Recent patents on biotechnology**, v. 6, n. 1, p. 2-12, 2012.

ROSSI, F.; POTRAFKA, R.M.; PICHEL, F.G.; DE PHILIPPIS, R. The role of exopolysaccharides in enhancing hydraulic conductivity of biological soil crusts. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 46, p. 33-40, 2012.

SAGE, R. F., KUBIEN, D.S. The temperature response of C3 and C4 photosynthesis. **Plant, Cell and Environment**, v. 30, p. 1086-1106, 2007.

SAHA, R.; SAHA, N.; DONOFRIO, R. S.; BESTERVELT, L. Microbial siderophores: A mini review. **Journal of Basic Microbiology**, v. 53, n. 4, p. 303-317, 2013.

SALEH-LAKHA, S.; GRICHKO, V. P.; SISLER, E. C.; GLICK, B. R. The effect of the ethylene action inhibitor 1-cyclopropenymethyl butyl ether on early plant growth. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v. 23, n. 4, p. 307-312, 2004.

SALEEM, A. R.; BRUNETTI, C.; KHALID, A.; DELLA ROCCA, G.; RAI, A.; EMILIANI, G.; DE CARLO, A.; MAHMOOD, T.; CENTRITTO, M. Drought response of *Mucuna pruriens* (L.) DC. inoculated with ACC deaminase and IAA producing rhizobacteria. **PLoS ONE**, v. 13, e0191218, 2018.

SANDA, S.; YOSHIDA, K.; MASAYOSHI, K.; KAWAMURA, T.; MUNEKAGE, Y. N.; AKASHI, K.; YOKOTA, A. Responses of the photosynthetic electron transport system to excess light energy caused by water deficit in wild watermelon. **Physiologia Plantarum**, v. 142, p. 247-264, 2011.

SANDALIO, L. M.; RODRÍGUEZ-SERRANO, M.; ROMERO-PUERTAS, M. C.; DEL RÍO, L. A. Role of peroxisomes as a source of reactive oxygen species (ROS) signaling molecules. **Subcellular Biochemistry**, v. 69, p. 231–255, 2013.

SANTOS, R. F.; CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológico e fisiológico das plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 2, n. 3, p. 287-294, 1998.

SASIREKHA, B.; SHIVAKUMAR, S.; SULLIA, S. B. Statistical optimization for improved indole-3-acetic acid (iaa) production by *Pseudomonas aeruginosa* and demonstration of enhanced plant growth promotion. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 12, n. 4, p. 863-873, 2012.

SAUTER, A.; DAVIES, W. J.; HARTUNG, W. The long-distance abscisic acid signal in the droughted plant: the fate of the hormone on its way from root to shoot. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 52, p. 1991-1998, 2001.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; PASCHOLATI, S. F. Mecanismos bioquímicos de defesa vegetal. In: PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J.R.; CIA, P. (Ed.). **Interação Planta Patógeno – fisiologia, Bioquímica e Biologia Molecular**. Piracicaba: FEALQ, p.227-248, 2008.

SCHWESSINGER, B.; ZIPFEL, C. News from the frontline: recent insights into PAMP-triggered immunity in plants. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 11, p. 389-395, 2008.

SHARMA, P.; VERMA, P. P.; KAUR, M. Phytohormones Production and Phosphate Solubilization Capacities of Fluorescent *Pseudomonas* sp. Isolated from Shimla Dist. of

Himachal Pradesh. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6, n. 9, p. 2447-2454, 2017.

SHI, Y.; ZHANG, Y.; HAN, W.; FENG, R.; HU, Y.; GUO, J.; GOUNG, H. Silicon enhances water stress tolerance by improving root hydraulic conductance in *Solanum lycopersicum* L. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 7, p. 196, 2016.

SHORESH, M.; HARMAN, G. E.; MASTOURI, F. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. **Annual review of phytopathology**, v. 48, p. 21-43, 2010.

SIDDIQUI, Z. A.; PGPR: Prospective biocontrol agentes of plant pathogens. In:____. (Ed). **PGPR: biocontrol and biofertilization**. Dordrecht: Springer, p. 111-141, 2005.

SILVA, J.T. **Azospirillum brasiliense e Bacillus subtilis solubilizadores de fósforo em mudas de eucalipto**. 55f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2017.

SILVA, F. J.; RIBEIRO, R. C. F.; XAVIER, A. A., SANTOS NETO, J. A.; SOUZA, M. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R. Rizobactérias associadas a materiais orgânicos no controle de *Meloidogyne javanica* em tomateiro. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista–BA, v. 34, n. 1, p. 59-65, 2016.

SILVA-WERNECK, J. O.; JUNIOR, E. F. S.; EVANGELISTA, L. S.; SILVA, T. A. L.; VALDEZ, V. R.; MONNERAT, R. G. **Identificação de proteínas VIP3 em estirpes de Bacillus thuringiensis tóxicas para lepidópteros-praga. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, Brasília, DF, p. 1-20, [Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento], 2008.

SILVEIRA, J. A. G.; SILVA, S. L. F.; SILVA, E. N.; VIEGAS, R.A. Mecanismos biomoleculares envolvidos com a resistência ao estresse salino em plantas. **Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Salinidade**, Fortaleza, ISBN 978-85-7563-489-9, 2010

SKAMNIOTI, P.; GURR, S. J. Against the grain: safeguarding rice from rice blast disease. **Trends in Biotechnology**. v. 27, n. 3, p. 141-150, 2009.

SHAN, Q.; YU, Y.; YU, J.; ZHANG, J. Soil enzyme activities and their indication for fertility of urban forest soil. **Frontiers of Environmental Science and Engineering in China**, v. 2, n. 2, p. 218-223, 2008.

SOLANKI, M. K.; SINGH, R. K.; SRIVASTAVA, S.; KUMAR, S.; KASHYAP, P. L.; SRIVASTAVA, A. K.; ARORA, D. K. Isolation and characterization of siderophore producing antagonistic rhizobacteria against *Rhizoctonia solani*. **Journal of basic microbiology**, v. 54, n. 6, p. 585-597, 2014.

SOSBAI - Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado. **Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil**. Itajaí, SC: SOSBAI, 2012. 179 p.

SOUSA, T. P.; SOUZA, A. C. A. D.; CORTES, M. V. B.; LANNA, A. C.; PINHEIRO, H. A.; FILIPPI, M. C. C.; SILVA, G. B. Bioagents and silicon promoting fast early upland rice growth. **Environmental Science and Pollution Research**, p. 1-12, 2017.

SOUZA, T. C.; MAGALHÃES, P. C.; CASTRO, E. M.; DUARTE, V. P.; LAVINSKY, A. O. Corn root morphoanatomy at different development stages and yield under water stress, **Pesqui Agropecu Bras**, v. 51, n. 4, p. 330-339, 2016.

SOUZA, T. C.; CASTRO, E. M.; MAGALHÃES, P. C.; LINO, L. O.; ALVES, E. T., ALBUQUERQUE, P. E. P. Morphophysiology, morphoanatomy, and grain yield under field conditions for two maize hybrids with contrasting response to drought stress. **Acta Physiol Plant**, v. 35, p. 3201-3211, 2013.

STAUDINGER, C.; MEHMETI-TERSHANI, V.; GIL-QUINTANA, E.; GONZALEZ, E. M.; HOFHANS, F.; BACHMANN, G.; WIENKOOP, S. Evidence for a rhizobia-induced drought stress response strategy in *Medicago truncatula*. **Journal Proteome**, v. 136, p. 202-213, 2016.

STEFAN, M.; MUNTEANUA, N.; STOLERU, V.; MIHASAN, M.; HRITCU, L. Seed inoculation with plant growth promoting rhizobacteria enhances photosynthesis and yield of runner bean (*Phaseolus coccineus* L.). **Scientia Horticulturae**, v. 151, p. 22-29, 2013.

STEPIEN, P.; KLOBUS, G. Antioxidant defense in the leaves of C3 and C4 plants under salinity stress. **Physiologia Plantarum**, v. 125, p. 31-40, 2005.

STICHER, L.; MAUCH-MANI, B.; MÉTRAUX, J.P. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 35, p. 235-270, 1997.

STONE, L. F.; LIBARDI, P. L.; REICHARDT, K. Produtividade do arroz e absorção de nitrogênio afetadas pelo veranico e pela adição de vermiculita ao solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, v. 21, n. 2, p. 117-25, 1986.

STRECK, N.A.; WEISS, A.; XUE, Q.; BAENZIGER, P. S. Improving predictions of developmental stages in winter wheat: A modified Wang and Engel model. **Agricultural and Forest Meteorology**, Amsterdam v. 115, n. 3-4, p. 139-150, 2003.

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

SYLVESTER-BRADLEY, R.; ASAKAWA, N.; LA TORRACA, S.; MAGALHÃES, F. M. M.; OLIVEIRA, L. A.; PEREIRA, R. M. Levantamento quantitativo de microrganismos solubilizadores de fosfatos na rizosfera de gramíneas e leguminosas forrageiras na Amazônia, **Acta Amazônica**, Manaus, v. 12, p. 15-22, 1982.

TAIZ, L.; ZEIG, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. **Plant physiology and development**. Oxford: Sinauer Associates, 2015. 761 p.

- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**; Tradução: SANTAREM et al., 3. ed., Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.
- TANG, Y. W.; BONNER, J. The enzymatic inactivation of indole-acetic, acid. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 13, n. 1, p. 11-25, 1947.
- TEYMOURI, M.; AKHTARI, J.; KARKHANE, M.; MARZBAN, A. Assessment of phosphate solubilization activity of Rhizobacteria in mangrove forest. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 5, p. 168-172, 2016.
- TIMMUSK, S.; GRANTCHAROVA, N.; WAGNER, E. G. H. *Paenibacillus polymyxa* invades plant roots and forms biofilms. **Applied and Environmental Microbiology**, Paris, v. 71, p. 7292-7300, 2005.
- VACHERON, J.; DESBROSSES, G.; BOUFFAUD, M.L.; TOURAINÉ, B.; MOENNE-LOCCOZ, Y.; MULLER, D.; LEGENDRE, L.; WISNIEWSKI-DYE, F.; PRIGENT-COMBARET, C. Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, p. 356, 2013.
- VAN DER ENT, S.; SASKIA, C. M.; WEES, V.; PIETERSE, C. M. J. Jasmonate signaling in plant interactions with resistance-inducing beneficial microbes. **Phytochemistry**, v. 70, p. 1581-1588, 2009.
- VAN LOON, L.C., Plant response to plant growth-promoting rhizobacteria. **European Journal Plant Pathology**. v. 119, p. 243-254, 2007.
- VAN LOON, L. C.; VAN STRIEN, E. A. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 55, p. 85-97, 1999.
- VEJAN, P.; ABDULLAH, R.; KHADIRAN, T.; ISMAIL, S.; NASRULHAQ, B. O.Y. C. E. A. Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability - a review. **Molecules**, Basel, v. 21, n. 5, p. 573, 2016.
- VENEGAS, A.; RIGOL, A.; VIDAL M. Viability of organic wastes and biochars as amendments for the remediation of heavy metal-contaminated soils. **Chemosphere**. v. 119, p. 190-198, 2015.
- VERBRUGGEN, N.; HERMANS, C. Proline accumulation in plants: a review. **Amino Acids**, v. 35, p. 753-759, 2008.
- VERMA, S. C.; LADHA, J. K.; TRIPATHI, A. K. Evaluation of plant growth promoting and colonization ability of endophytic diazotrophs from deep water rice. **Journal of Biotechnology**, v. 91, p. 127-141, 2001.
- ZANETTI, L. V.; MILANEZ, C. R. D.; GAMA, VINÍCIUS, N.; AGUILAR, M. A. G.; SOUZA, C. A. S.; CAMPOSTRINI, E.; FERRAZ, T. M.; FIGUEIREDO, F. A. M. M. A. Leaf application of silicon in young cacao plants subjected to water deficit. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** (ONLINE), v. 51, p. 215-223, 2016.

ZHANG, R.; SHARKEY, T. D. Photosynthetic electron transport and photon flux under moderate heat stress. **Photosynthesis Research**, v. 100, p. 29-43, 2009.

YAMAGUCHI, M. M. **Produção, purificação e caracterização da quitinase de *Cellulomonas cellulans* Fxx.** (Doutorado). Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

YAMAJI, N.; MITANI, N.; MA, J. F. A transporter regulating silicon distribution in rice shoots. **The Plant Cell**, Baltimore, v. 20, p. 1381-1389, 2008.

YARA, K.; KUNIMY, Y.; IWAHANA, H. Comparative studies of growth characteristic and competitive ability in *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus cereus* in soil. **Applied Entomology and Zoology**. v. 32, p. 625-634

YIN, C.; DUAN, B.; WANG, X.; LI, C. Morphological and physiological responses of two contrasting *Poplar* species to drought stress and exogenous abscisic acid application. **Plant Science**, Amsterdam, n. 167, p. 1091-1097, 2004.

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

YOSHIMURA, Y.; KUBOTA, F.; UENO, O. Structural and biochemical bases of photorespiration in C4 plants: quantification of organelles and glycine decarboxylase. **Planta**, v. 220, p. 307-317, 2004.

WANG, C.J.; YANG, W.; WANG, C.; GU, C.; NIU, D.D.; LIU, H.X.; WANG, Y.P.; GUO, J.H. Induction of drought tolerance in cucumber plants by a consortium of three plant growth promoting rhizobacterium strains. **PLoS ONE**, v. 7, e52565, 2012.

WARD, J. K.; TISSUE, D.T.; THOMAS, R. B.; STRAIN, B. R. Comparative responses of model C3 and C4 plants to drought in low and elevated CO₂. **Global Change Biology**. 5: 857-867, 1999.

WILLIAMSON. L. C.; RIBRIOUX, S. P. C. P.; FITTER, A. H.; LEYSER, H. M. O. Phosphate Availability Regulates Root System Architecture in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, v. 126, p. 875-882, 2001.