

# **Antagonismo e indução de resistência a partir de bactérias do filoplano do arroz para *Magnaporthe oryzae***

Amanda Abdallah Chaibub<sup>1</sup>, Leila Garcês de Araújo<sup>2</sup>, Marta Cristina C. Filippi<sup>3</sup>, Marcio Vinicius de Carvalho Barros Côrtes<sup>4</sup>

<sup>1,2</sup>Laboratório de Genética de Microrganismos – ICB, Universidade Federal de Goiás, Caixa Postal 131, CEP 74.001-970, Goiânia, GO; <sup>3,4</sup>Embrapa Arroz e Feijão, Rodovia GO-462, km 12 Zona Rural CP 179, Cep. 75375-000, Santo Antônio de Goiás, GO.

amandachaibub@gmail.com  
leilagarcesaraujo@gmail.com  
cristina@cnpaf.embrapa.br  
marciov@cnpaf.embrapa.br

PALAVRAS - CHAVE: Biocontrole, filosfera, *Oryza sativa*, brusone.

## **1 INTRODUÇÃO**

O arroz (*Oryza sativa* L.) é considerado um produto de grande importância sócio-econômica, constituindo-se o alimento básico da metade da população mundial, com 11% da terra arável do mundo. O Brasil é o maior produtor de arroz da América do Sul, sendo cultivado em 2,9 milhões de hectares e a produção nacional de 12,63 milhões de toneladas na safra 2008/09 (Conab, 2009).

Em todas as fases de desenvolvimento, o arroz está sujeito ao ataque de doenças, que reduzem a produtividade e a qualidade dos grãos e uma das doenças mais difundidas e amplamente disseminadas em todas as regiões do mundo onde o arroz é cultivado é a brusone (Malavolta et al., 2008), causada pelo fungo *Magnaporthe oryzae* (T.T. Hebert) M.E. Barr (anamorfo *Pyricularia oryzae* Sacc.). A perda da produtividade devido à brusone tem sido aproximadamente de 100% da cultura (Prabhu et al., 2009).

O controle da brusone deve ser feito de forma preventiva adotando-se o manejo integrado da doença que requer um conjunto de práticas que tem como componentes a resistência genética da cultivar, as práticas culturais e o controle químico. As medidas alternativas de controle estão ganhando espaço nos sistemas agrícolas, e o controle biológico é uma delas por ser uma alternativa ao uso de agrotóxicos, reduzindo os riscos legais, públicos e ambientais.

### *Revisado pelo orientador*

Amanda Abdallah Chaibub – Orientanda – Graduanda em Ciências Biológicas – Universidade Federal de Goiás.

Leila Garcês de Araújo – Orientadora – Dr<sup>a</sup>. Genética e Melhoramento de Plantas – Professora do Instituto de Ciências Biológicas – Universidade Federal de Goiás.

Marta Cristina C. Filippi – Colaborador – PhD. Fitopatologia – Pesquisadora da Embrapa Arroz e Feijão.

Márcio Vinicius de C. Barros Côrtes – Colaborador – M.Sc. Bioquímica – Analista da Embrapa Arroz e Feijão.

Existem diversas investigações relatadas na literatura, utilizando bactérias epífitas como agentes de biocontrole de patógenos de parte aérea, nos mais diversos patossistemas, seja para o controle de fungos (Garita et al., 1998; Zhang & Yuen, 2000; Filippi et al., 2011) ou bactérias fitopatogênicas (Stockwell et al., 1998; Braun-Kienwnick et al., 2000), além de formulações comerciais registradas nos E.U.A. como Serenade (*Bacillus subtilis*), para controle de oídio, míldio, cercosporiose, dentre outras doenças, em diversas plantas e o BlightBan A506 (*Pseudomonas fluorescens* A506) para controle de *Erwinia amylovora*, de injúrias devido ao frio e bactérias que causam o “fruit russet” em várias culturas (Nucló et al., 1998; USDA, 2000).

O estudo da interação de *M. oryzae* com arroz e dos mecanismos de manifestação de resistência é importante para se identificar medidas alternativas de controle da brusone, econômica e ecologicamente sustentáveis. O controle de doenças através da ativação dos mecanismos de defesa intrínseco da planta mostra - se promissor e a pesquisa destes mecanismos está sendo cada vez mais estimulada para esclarecer quais são os processos bioquímicos e moleculares envolvidos (Filippi et al., 2007). A indução de resistência está sendo atualmente explorada por aumentar a durabilidade da resistência à doença e pela utilização de indutores bióticos ou abióticos (Filippi et al., 2011).

Na busca de elementos que podem estar correlacionados com a eficiência do controle de fungos, tem-se investigado o quanto representam enzimas capazes de degradar a parede celular (Zhang & Yuen, 2000), a produção de enzimas quitinase, celulase e glucanase (Garita et al., 1998; Filippi et al., 2011), a produção de AIA (Lindow et al., 1998), dentre outros mecanismos capazes de atuar no biocontrole de doenças.

A brusone reduz drasticamente a produtividade das culturas de arroz e requer medidas efetivas de controle. O controle químico das doenças está sendo amplamente utilizado pelos produtores, entretanto, este só representa um avanço tecnológico quando inserido a um programa de manejo integrado da doença, onde o uso do controle biológico é indispensável para alcançar alta produtividade assegurando uma agricultura sustentável.

## **2 OBJETIVOS**

- Caracterizar as bactérias do filo plano do arroz como agentes de biocontrole da brusone, baseando-se em estratégias de seleção conjuntas *in vitro* e *in vivo*;

- Verificar se os isolados bacterianos residentes do filoplano podem ser possíveis agentes supressores de doença atuando como indutores de resistência sistêmica à *Magnaporthe oryzae*.

### **3 METODOLOGIA**

#### **3.1 Coleta do Material Vegetal, Isolamento e Conservação de bactérias da filosfera do arroz**

No ano de 2010 foram selecionadas 30 bactérias da filosfera do arroz que foram isoladas no ano de 2009 a partir de plantas saudáveis de arroz da cultivar Sertaneja coletadas em Paranatinga – MT, de lavouras de primeiro ano e não submetidas a pulverização com fungicida.

Um grama de folhas de arroz foram picadas e acondicionadas em frascos erlenmeyer com 10 mL de solução salina (0,85%). Os frascos foram agitados, por 25 minutos a 120 rpm, e a solução submetida a uma diluição em série até  $10^{-6}$ . Alíquotas de 100 µl de cada diluição de cada amostra foram plaqueadas em placas de Petri contendo meio 523 de Kado & Heskett (1970) e meio AC para obtenção dos isolados bacterianos. Os isolamentos crescidos sem contaminação foram transferidos para criotubos contendo água destilada autoclavada para conservação.

#### **3.2 Antibiose**

Como desafiante dos 30 isolados bacterianos previamente conservados em criotubos, foi utilizado um isolado de *M. oryzae*, Py 372, obtido da coleção de micologia do laboratório de Fitopatologia da Embrapa Arroz e Feijão. Este isolado foi repicado para placas de petri contendo meio de cultura BDA acidificado e mantidas no germinador a 25°C, na presença de luz, por dez dias para se obter os discos de micélio para a antibiose.

Discos de cinco milímetros da colônia de *M. oryzae* foram colocados no centro de placas de Petri contendo meio de cultura batata dextrose ágar (BDA) e os 30 isolados bacterianos foram riscados com o uso de alça de platina em quatro pontos equidistantes, formando um quadrado ao redor do disco do patógeno (Filippi et al., 2011).

O experimento foi realizado com 31 tratamentos em delineamento inteiramente casualizado e com três repetições. As placas foram incubadas por 10 dias sob regime de luz contínua. Foram realizadas três avaliações do diâmetro de *M. oryzae* na vertical e horizontal na presença dos isolados bacterianos, sendo a terceira 10 dias depois da instalação do

experimento ou até que a testemunha de *M. oryzae* alcance a borda da placa. Dos 30 isolados bacterianos testados, os 11 que mais se destacaram na diminuição do crescimento micelial *in vitro* de *M. oryzae* foram selecionados para dois posteriores ensaios de antagonismo *in vivo* e indução de resistência que foram realizados simultaneamente, em condições de casa de vegetação.

### **3.3 Antagonismo *in vivo***

Para avaliação do antagonismo foi realizado experimento em casa de vegetação na Embrapa Arroz e Feijão, em Santo Antônio de Goiás com a cultivar Primavera. O plantio foi realizado em bandejas plásticas (15 x 30 x 10 cm) contendo 3 kg de solo adubado com NPK (5g de 5-30-15 + Zn e 3g de sulfato de amônio por 3 kg de solo) e a adubação de cobertura com 2g de sulfato de amônio foi realizada 18 dias após o plantio. O isolado Py 372 de *M. oryzae* foi cultivado em meio de aveia-ágar durante dez dias sob luz branca contínua para promover a esporulação.

Foram preparadas suspensões dos possíveis agentes indutores a partir de colônias crescidas em placas de Petri contendo meio 523 de Kado & Heskett (1970) e incubadas por 24 a 48 horas. As suspensões de cada uma das 11 bactérias foram preparadas em água destilada e a concentração foi ajustada em espectrofotômetro para  $A_{540} = 1,0$  e o inóculo de *M. oryzae* foi preparado na concentração  $6 \times 10^5$  conídios.mL<sup>-1</sup>, conforme metodologia descrita por Filippi & Prabhu (2001). Foram misturadas 10 ml do inóculo de *M. oryzae* com 10 ml da suspensão de bactéria em tubos Falcon totalizando 20 ml da mistura pulverizada em plantas de arroz com 21 dias de idade. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três repetições, totalizando 13 tratamentos descritos no quadro 1.

A avaliação da severidade de brusone nas folhas ocorreu sete dias após a inoculação através da porcentagem de área foliar afetada pela doença na primeira folha aberta, utilizando a escala de dez graus de acordo com Notteghem (1981).

### **3.4 Indução de resistência**

A indução de resistência foi feita a partir da realização de ensaios em casa de vegetação na Embrapa Arroz e Feijão com a cultivar Primavera, seguindo a mesma metodologia de plantio e cultivo dos isolados descritos no item 3.3. As suspensões de cada uma das 11 bactérias foram preparadas em água destilada e a concentração foi ajustada em espectrofotômetro para  $A_{540} = 0,5$  e o inóculo de *M. oryzae* foi preparado na concentração  $3 \times 10^5$  conídios.mL<sup>-1</sup>, conforme metodologia descrita por Filippi & Prabhu (2001).

Os possíveis indutores foram pulverizados em plantas de arroz com 19 dias, dois dias antes da inoculação com o patógeno aos 21 dias. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três repetições totalizando 13 tratamentos como mostrados no quadro 2.

A avaliação da severidade de brusone nas folhas ocorreu sete dias após a inoculação através da porcentagem de área foliar afetada pela doença na primeira folha aberta, utilizando a escala de dez graus de acordo com Notteghem (1981). Para o cálculo da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) a reação de brusone nas folhas foi observada em intervalos de dois dias após o aparecimento da primeira lesão, usando a mesma escala citada.

### **3.5 Análise estatística**

As análises estatísticas dos dados de antibiose *in vitro* e de inoculações em casa de vegetação (antagonismo *in vivo* e indução de resistência) foram realizadas no programa SPSS, versão 18.0 e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

## **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1 Antibiose**

No antagonismo *in vitro* todos os isolados bacterianos diminuíram significativamente o crescimento micelial na horizontal e na vertical de *M. oryzae* quando comparados com a testemunha (Quadro 3).

O isolado 9 de bactéria proporcionou significamente o menor crescimento na horizontal de 0,9333 e 0,9000 na vertical de *M. oryzae* (Figura 1) diferindo dos demais tratamentos. Houve uma diferença significativa entre os tratamentos, observando-se que 14 tratamentos na vertical inibiram o crescimento micelial da mesma forma não diferenciando entre si, e na horizontal 13 tratamentos mostraram-se semelhantes também na inibição. O isolado 13 foi o que proporcionou menor inibição do crescimento em relação à testemunha de *M. oryzae* na horizontal (4,3000), diferindo desta e de todos os demais tratamentos, e na vertical o tratamento 13 (4,2667) também diferiu da testemunha (7,4667), não diferindo significativamente somente do tratamento 10 (4,2667). Filippi et al. (2011) verificaram que bactérias isoladas da rizosfera de plantas de arroz de terras altas da Amazônia - PA apresentaram redução significativa no crescimento micelial de *M. oryzae*.

## 4.2 Antagonismo *in vivo*

As menores severidades de brusone nas folhas ocorreram nos tratamentos 9, 10, 11 e 12, quando se inoculou as misturas que continham as bactérias 5, 7, 11 e 14, respectivamente (Figura 2). O tratamento 9, com a bactéria 5 diminuiu significativamente a incidência de lesões na folha (Figura 3), diferindo estatisticamente das testemunhas (tratamentos 7 e 13 inoculados somente com suspensão contendo conídios de *M. oryzae*) e dos demais tratamentos (Figura 2). O tratamento 3, que foi pulverizado com a mistura contendo a bactéria 8 foi o menos antagônico à *M. oryzae*, porém está entre os tratamentos mais eficazes no controle da doença no ensaio de indução de resistência.

## 4.3 Indução de resistência

Os 11 isolados de bactérias obtidos do filoplano foram selecionados pelos resultados da antibiose *in vitro* para serem testados em condições de inoculações em casa de vegetação. Observou-se um gradiente significativo na evolução da doença entre os tratamentos, e a testemunha apresentou alta incidência de brusone nas folhas. As menores severidades de brusone nas folhas ocorreram nos tratamentos 1, 2, 3, 4, 5 e 6, quando as plantas foram induzidas com as bactérias 1, 2, 8, 9, 17 e 21, respectivamente (Figura 4), diferindo significativamente dos demais tratamentos 8, 9, 10, 11 e 12 bem como das testemunhas (7 e 13). Someya et al. (2002) observaram que a incidência de brusone nas folhas era reduzida a 59% em mudas de arroz inoculadas com suspensão bacteriana de *Serratia marcescens*. Filippi et al. (2011) também encontraram duas rizobactérias indutoras de resistência (Rizo-46 e Rizo-55) que suprimiram a brusone nas folhas.

A AACPD foi calculada para as bactérias 1, 2, 8, 9, 17 e 21 que mostraram resultados mais promissores no ensaio de indução de resistência (Figura 5). Observou-se que para este parâmetro não houve diferença significativa entre os tratamentos demonstrando que estas bactérias podem ser possíveis indutoras de resistência para brusone do arroz porque reduziram a AACPD em relação à testemunha (Figuras 6 a 11).

## 5 CONCLUSÕES

Foram obtidas bactérias do filoplano do arroz como agentes de biocontrole da brusone, que podem atuar como antagonistas e indutoras de resistência para *M. oryzae*.

## REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G.N. Control of plant diseases. In: Agrios, G.N. **Plant pathology**. 4 ed. San Diego: Academic Press, 1997. p. 171-221.
- BRAUN-KIEWNICK, A.; JACOBSEN, B.J.; SANDS, D.C. Biological control of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, the causal agent of basal kernel blight of barley, by antagonistic *Pantoea agglomerans*. **Phytopathology**; v. 90, p. 368-375, 2000.
- CONAB. **Companhia Nacional do Abastecimento**. 2009. Décimo segundo Levantamento de Avaliação da Safra 2008/2009. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/12graos\\_08.09.pdf](http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/12graos_08.09.pdf)>. Acesso em: 15 dez.2009.
- EL-KATATNY, M.H.; SOMITCH, W.; ROBRA, K.H.; EL-KATATNY, M.S.; GUBITZ, G.M. Production of chitinase and  $\beta$ -1,3-glucanase by *Trichoderma harzianum* for control of phytopathogenic fungus *Sclerotium rolfsii*. **Food technology and Biotechnology**, v.38, n.3, p.173-180, 2000.
- FILIPPI, M. C. C.; SILVA, G. B.; SILVA-LOBO, V. L.; 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** (2011), doi:10.1016/j.biocontrol.2011.04.016.
- FILIPPI, M.C.C.; SILVA, G.B.; PRABHU, A.S. Indução de resistência à brusone em folhas de arroz por isolado avirulento de *Magnaporthe oryzae*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, p. 387-392, 2007.
- FILIPPI, M.C. & PRABHU, A.S. Phenotypic virulence analysis of *Pyricularia grisea* isolates from Brazilian upland rice cultivars. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 36:27-35. 2001.
- GARITA, V.S.; BUSTAMANTE, E.; SHATTOCK, R. Selección de antagonistas para el control biológico de *Phytophthora infestans* en tomate. **Manejo Integrado de Plagas**, n. 48, p. 25-34, 1998.
- KADO, C.I. & HESKETT, M.G. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. **Phytopathology** 60:969-979. 1970.
- LINDOW, S.E.; DESURMONT, C.; ELKINS, R.; MCGOURTY, G.; CLARK, E.; BRANDL, M.T. Occurrence of indole-3-acetic acid-producing bacteria on pear and their association with fruit russet. **Phytopathology**, v. 88, p. 1149-1157, 1998.
- MALAVOLTA, V. M. A.; AZZINI, L. E.; BASTOS, C. R.; SALOMON, M. V.; CASTRO, J.L. **Summa Phytopathologica**. Progresso da brusone nas folhas e panículas de genótipos de

arroz de terras altas. Botucatu. v. 34. Abr./ Jun. 2008. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=s010054052008000200017&lng](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s010054052008000200017&lng)>.

NOTTEGHEM, J. L. Cooperative experiment on horizontal resistance to rice blast. In: International Rice Research Institute (Los Baños, Filipinas). **Blast and upland rice: report and recommendations from the meeting for international collaboration in upland rice improvement**. Los Baños. p. 43-51, 1981.

NUCLO, R.L.; JOHNSON, K.B.; STOCKWELL, V.O. Secondary colonization of pear blossoms by two bacterial antagonists of the fire blight pathogen. **Plant Disease**, v. 82, p. 661-668, 1998.

PRABHU, A.S.; FILIPPI, M.C.; SILVA, G.B.; SILVA-LOBO, V.L.; MORAIS, O.P. An Unprecedented Outbreak of Rice Blast on a Newly Released Cultivar BRS Colosso in Brazil. In: Wang, GL and Valent, B. (eds.) **Advances in Genetics, Genomics and Control of Rice Blast**. Springer Science, Netherlands, p. 257-267, 2009.

ROMEIRO, R.S.; NEVES, D.M.S.; HALFELD-VIEIRA, B.A.; MIZUBUTI, E.S.G.; DEUNER, C.C. Inadequação de uso de apenas um patógeno desafiante na seleção massal de residentes de filoplano para fins de controle biológico - um caso. **Summa Phytopathologica**, 2000.

SOMEYA, N.; NAKAJIMA, M.; HIBI, T.; YAMAGUCHI, I.; AKUTSU, K. Induced Resistance to Rice Blast by Antagonistic *Serratia marcescens* Strain B2. **J. Gen. Plant Pathol.** 68: 177-182, 2002.

STOCKWELL, V.O.; JOHNSON, K.B.; LOPER, J.E. Establishment of bacterial antagonists of *Erwinia amylovora* on pear and apple blossoms as influenced by inoculum preparation. **Phytopathology**, v. 88, p. 506-513, 1998.

USDA. **Biocontrol of Plant Diseases Laboratory** (BPD). <http://www.barc.usda.gov/psi/bpdl/bpdl.html>. 2000.

ZHANG, Z.; YUEN, G.Y. The role of chitinase production by *Stenotrophomonas maltophilia* strain C3 in biological control of *Bipolaris sorokiniana*. **Phytopathology**, v. 90, p. 384-389, 2000.



Quadro 1. Misturas (bactérias + *Pyricularia*) usadas na inoculação de plantas de arroz aos 21 dias no ensaio de antagonismo *in vivo*, em condições de casa de vegetação.

<b>T1</b> – Mistura (bactéria 1 + Py 372-6x10 <sup>5</sup> ).
<b>T2</b> – Mistura (bactéria 2 + Py 372-6x10 <sup>5</sup> ).
<b>T3</b> – Mistura (bactéria 8 + Py 372-6x10 <sup>5</sup> ).
<b>T4</b> – Mistura (bactéria 9 + Py 372-6x10 <sup>5</sup> ).
<b>T5</b> – Mistura (bactéria 17 + Py 372-6x10 <sup>5</sup> ).
<b>T6</b> – Mistura (bactéria 21 + Py 372-6x10 <sup>5</sup> ).
<b>T7</b> – Testemunha (Py 372-3x10 <sup>5</sup> ).
<b>T8</b> – Mistura (bactéria 4 + Py 372-6x10 <sup>5</sup> ).
<b>T9</b> – Mistura (bactéria 5 + Py 372-6x10 <sup>5</sup> ).
<b>T10</b> – Mistura (bactéria 7 + Py 372-6x10 <sup>5</sup> ).
<b>T11</b> – Mistura (bactéria 11 + Py 372-6x10 <sup>5</sup> ).
<b>T12</b> – Mistura (bactéria 14 + Py 372-6x10 <sup>5</sup> ).
<b>T13</b> – Testemunha (Py 372-3x10 <sup>5</sup> ).

Quadro 2. Bactérias e concentrações dos conídios de *Magnaporthe oryzae* (Py) usados na inoculação para ensaio de indução de resistência. Em plantas de arroz com 19 dias foram pulverizadas as bactérias, dois dias antes da pulverização do patógeno, aos 21 dias de idade em condições de casa de vegetação.

<b>T1</b> – Pulverização – bactéria 1 (indutora) pulverizada 2 dias antes e Py 372-3x10 <sup>5</sup> .
<b>T2</b> – Pulverização – bactéria 2 (indutora) pulverizada 2 dias antes e Py 372-3x10 <sup>5</sup> .
<b>T3</b> – Pulverização – bactéria 8 (indutora) pulverizada 2 dias antes e Py 372-3x10 <sup>5</sup> .
<b>T4</b> – Pulverização – bactéria 9 (indutora) pulverizada 2 dias antes e Py 372-3x10 <sup>5</sup> .
<b>T5</b> – Pulverização – bactéria 17 (indutora) pulverizada 2 dias antes e Py 372-3x10 <sup>5</sup> .
<b>T6</b> – Pulverização – bactéria 21 (indutora) pulverizada 2 dias antes e Py 372-3x10 <sup>5</sup> .
<b>T7</b> – Testemunha (Py 372-3x10 <sup>5</sup> ).
<b>T8</b> – Pulverização – bactéria 4 (indutora) pulverizada 2 dias antes e Py 372-3x10 <sup>5</sup> .
<b>T9</b> – Pulverização – bactéria 5 (indutora) pulverizada 2 dias antes e Py 372-3x10 <sup>5</sup> .
<b>T10</b> – Pulverização – bactéria 7 (indutora) pulverizada 2 dias antes e Py 372-3x10 <sup>5</sup> .
<b>T11</b> – Pulverização – bactéria 11 (indutora) e Py 372-3x10 <sup>5</sup> .
<b>T12</b> – Pulverização – bactéria 14 (indutora) e Py 372-3x10 <sup>5</sup> .
<b>T13</b> – Testemunha (Py 372-3x10 <sup>5</sup> ).

Quadro 3. Médias do crescimento micelial de *Magnaporthe oryzae* na horizontal (DH) e na vertical (DV), na presença das bactérias do filoplano do arroz.

<b>Trat</b>	<b>DH (cm)</b>	<b>DV (cm)</b>
31	7.2667a*	7.4667a*
13	4.3000b	4.2667b
10	4.2000bc	4.2667b
3	4.1000bc	4.1333bc
27	4.0000bcd	4.0000bc
30	3.5000bcde	3.5667bcd
26	3.5000bcde	3.6667bcd
12	3.5000bcde	3.5000bcde
15	3.3333bcdef	3.4000bcdef
29	3.2000bcdefg	3.3000bcdef
6	3.1667bcdefg	3.2333bcdefg
25	3.1000bcdefg	3.2333bcdefg
24	3.1000bcdefg	3.2000bcdefg
22	3.1000bcdefg	3.2000bcdefg
20	3.0667bcdefg	3.1333bcdefg
23	3.0333bcdefg	2.8667bcdefg
16	2.9000bcdefg	3.2000bcdefg
18	2.7000bcdefg	2.6000bcdefg
28	2.5333bcdefg	2.6667bcdefg
11	2.3000bcdefg	2.3333bcdefg
5	2.2000bcdefg	2.2000bcdefg
14	2.1000bcdefg	2.1333bcdefg
7	1.9667cdefg	1.9333bcdefg
4	1.9333cdefg	1.9667bcdefg
19	1.7333defg	1.8333cdefg
21	1.4000efg	1.4667defg
17	1.1333fg	1.2000efg
1	1.1000fg	1.0667fg
8	0.9667g	0.9333g
2	0.9667g	1.0667fg
9	0.9333g	0.9000g

\*Médias seguidas da mesma letra em uma coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, em nível de 5 % de significância. Tratamento 31 (testemunha): Isolado de *M. oryzae*



Figura 1. Antagonismo *in vitro* do isolado 9 sobre *Magnaporthe oryzae* (A) após dez dias de crescimento, B (Testemunha sem antagonista).

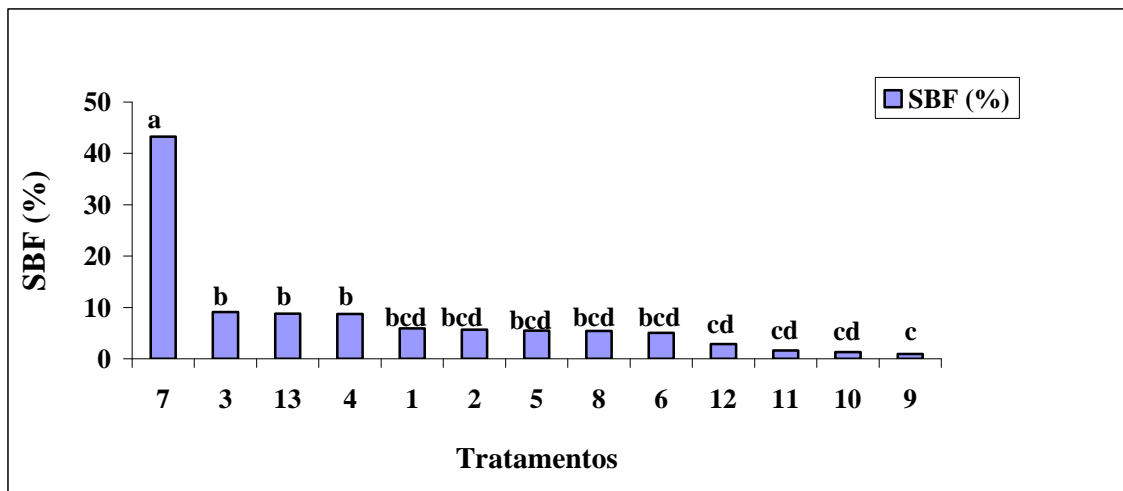


Figura 2. Severidade de brusone nas folhas (SBF) em plantas de arroz inoculadas no ensaio de antagonismo *in vivo*, em condições de casa de vegetação. Mistura de bactérias e *M. oryzae* pulverizadas no mesmo dia.

- 7 e 13: tratamentos inoculados somente com suspensão contendo conídios de *M. oryzae* (testemunhas).

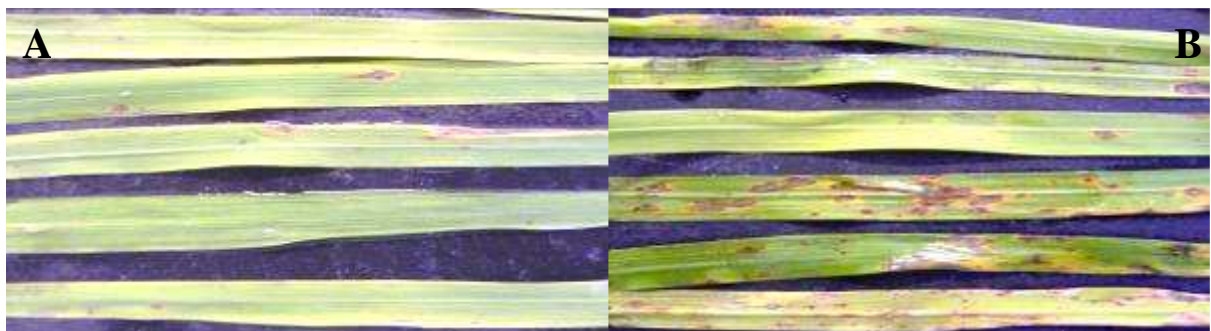


Figura 3. Sintomas de brusone nas folhas de arroz inoculadas com a mistura de *Magnaporthe oryzae* + isolado 5 (A), e somente com *Magnaporthe oryzae*  $3 \times 10^5$  conídios/ml (B).

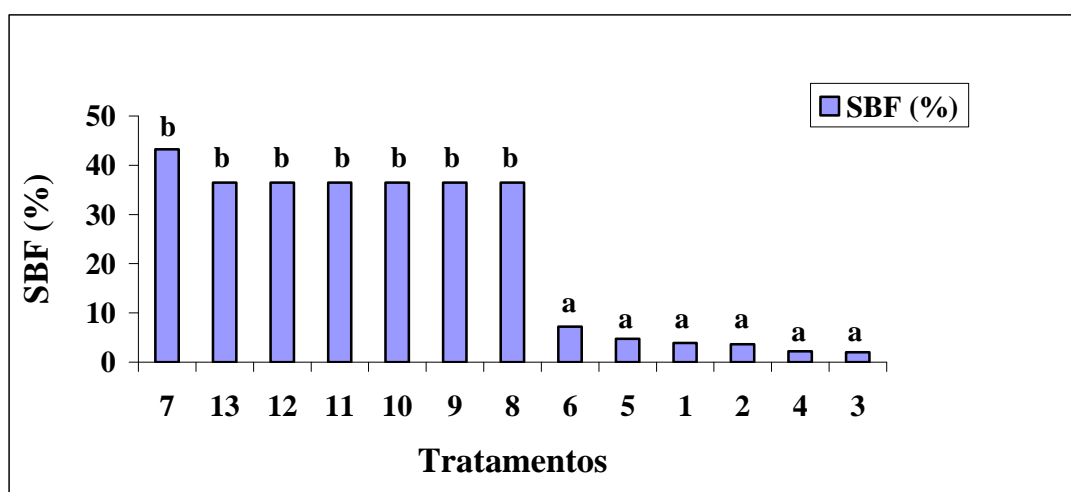


Figura 4. Severidade de brusone nas folhas (SBF) em plantas de arroz inoculadas no ensaio de indução de resistência, em condições de casa de vegetação. Bactérias pulverizadas 48 horas antes da inoculação do patógeno.  
 - 7 e 13: tratamentos inoculados somente com suspensão contendo conídios de *M. oryzae* (testemunhas).



Figura 5. Folhas de arroz pulverizadas com isolado 8 dois dias antes da inoculação com *Magnaporthe oryzae* (A), testemunha pulverizada com *Magnaporthe oryzae*  $3 \times 10^5$  conídios/ml (B).

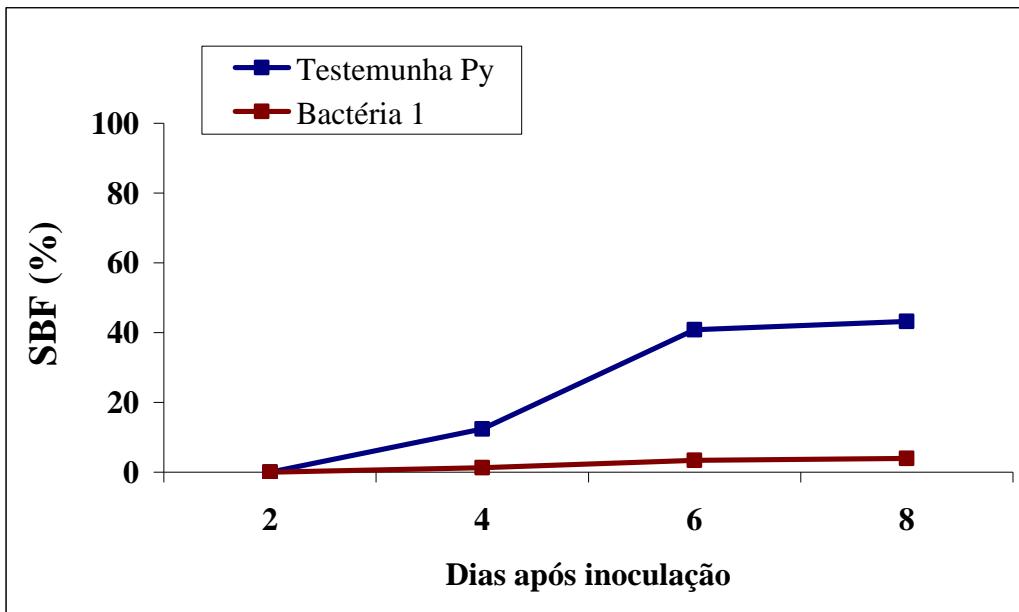


Figura 6. Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) no ensaio de indução de resistência. Pulverização da bactéria 1 (provável agente indutor) dois dias antes da inoculação com *M. oryzae* em relação ao tratamento inoculado somente com o patógeno (testemunha Py).

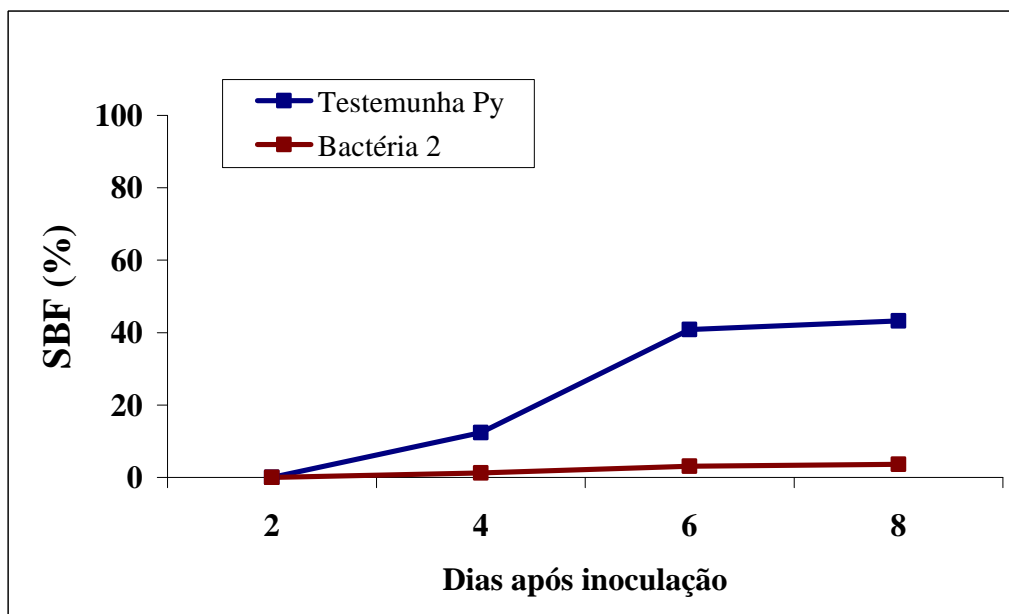


Figura 7. Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) no ensaio de indução de resistência com pulverização da bactéria 2 (provável agente indutor) dois dias antes da inoculação com *M. oryzae* em relação ao tratamento inoculado somente com o patógeno (testemunha Py).

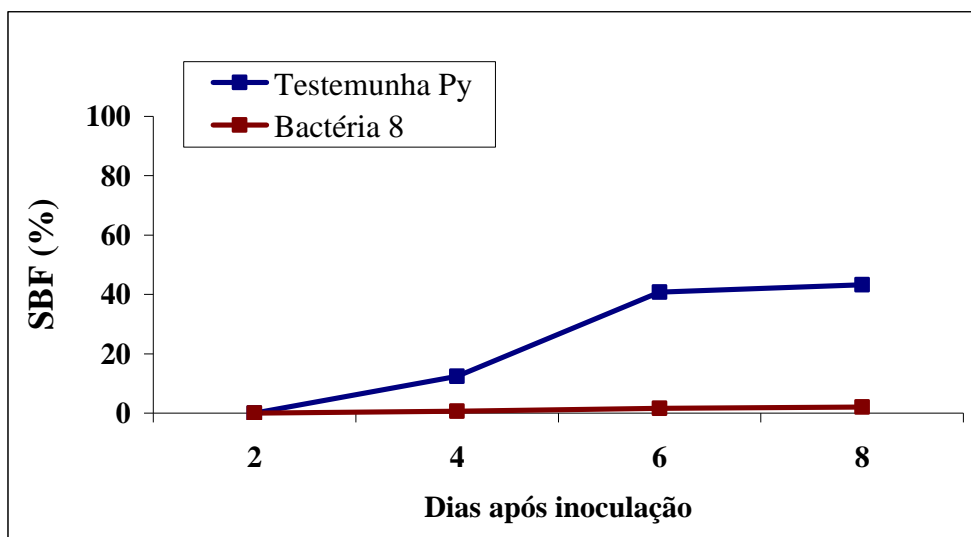


Figura 8. Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) no ensaio de indução de resistência com pulverização da bactéria 8 (provável agente indutor) dois dias antes da inoculação com *M. oryzae* em relação ao tratamento inoculado somente com o patógeno (testemunha Py).

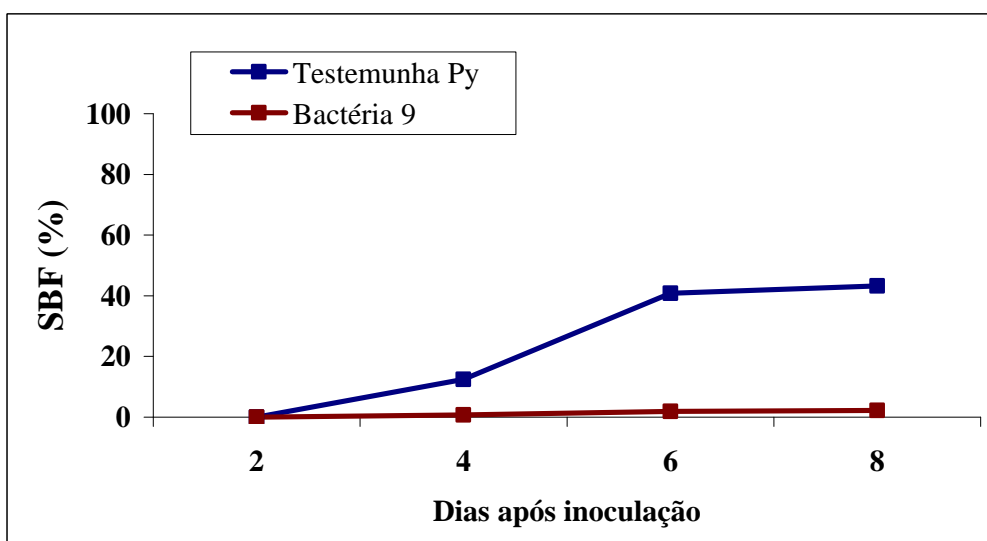


Figura 9. Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) no ensaio de indução de resistência com pulverização da bactéria 9 (provável agente indutor) dois dias antes da inoculação com *M. oryzae* em relação ao tratamento inoculado somente com o patógeno (testemunha Py).

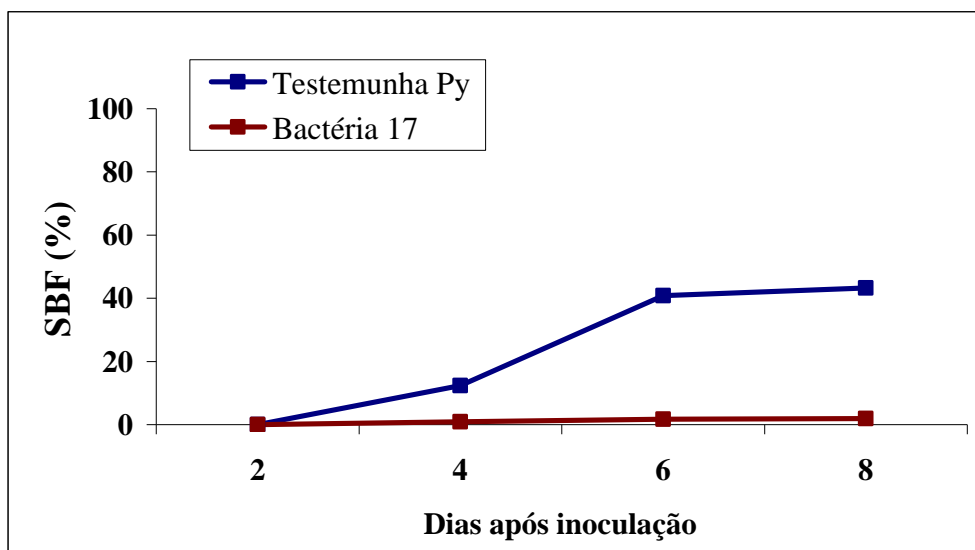


Figura 10. Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) no ensaio de indução de resistência com pulverização da bactéria 17 (provável agente indutor) dois dias antes da inoculação com *M. oryzae* em relação ao tratamento inoculado somente com o patógeno (testemunha Py).

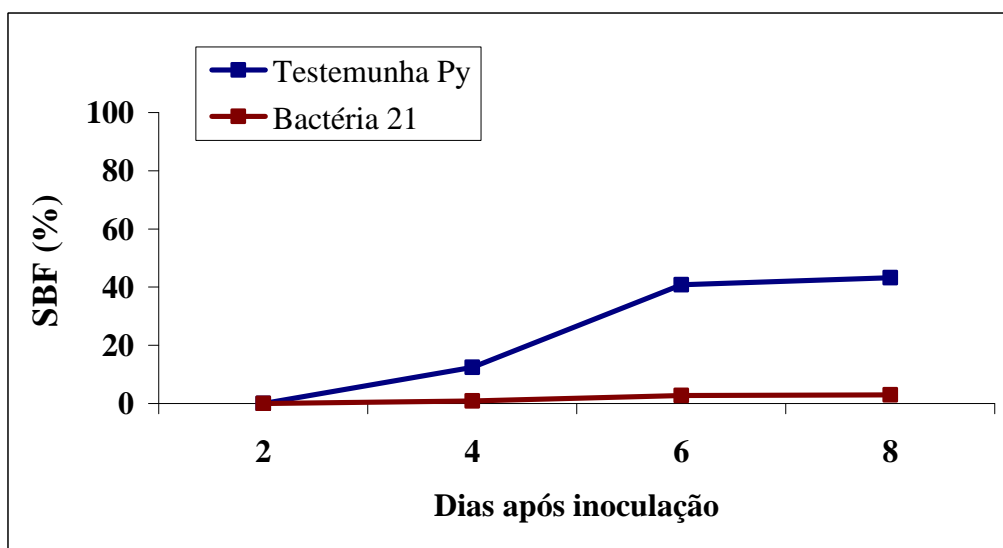


Figura 11. Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) no ensaio de indução de resistência com pulverização da bactéria 21 (provável agente indutor) dois dias antes da inoculação com *M. oryzae* em relação ao tratamento inoculado somente com o patógeno (testemunha Py).