

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade.



Dissertação

**Microbiolização de sementes de arroz para redução da
transmissão de *Bipolaris oryzae*.**

Aline Garske Santos

Pelotas, 2013

Aline Garske Santos

**Microbiolização de sementes de arroz para redução da
transmissão de *Bipolaris oryzae*.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre Fitossanidade (área do conhecimento: Fitopatologia).

Orientadora: Dr^a Andréa Bittencourt Moura

Coorientador: Dr. Demócrito Chiesa Freitas

Pelotas, 2013

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

S237m Santos, Aline Garske

Microbiolização de sementes de arroz para redução da transmissão de *Bipolaris oryzae* / Aline Garske Santos ; Andrea Bittencourt Moura, orientadora ; Demócrito Chiesa Freitas, coorientador. — Pelotas, 2013.

41 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2013.

1. Controle biológico. 2. Mancha parda do arroz. 3. Rizobactérias. I. Moura, Andrea Bittencourt, orient. II. Freitas, Demócrito Chiesa, coorient. III. Título.

CDD : 633.18

Banca examinadora:

Prof. Dra. Andréa Bittencourt Moura - Orientadora
(Universidade Federal de Pelotas)

Dr^a. Bianca Obes Corrêa
(Universidade Federal de Pelotas)

Prof.Dr. Orlando Antonio Lucca Filho
(Universidade Federal de Pelotas)

Pesquisadora Dra. Andréia Mara Rotta de Oliveira
(Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária- Fepagro)

*Aos meus pais Luiz Fernando e Sandra Mara,
meu marido Hugo e meu filho Vítor Hugo, minhas irmãs Fernanda, Alice e meu
irmão Kauê, pelo incentivo, paciência e compreensão em
todos os momentos
com amor*

dedico.

Agradecimentos

À Deus, por ter me concedido a oportunidade de concluir mais uma etapa.

À meus pais Luiz Fernando, Sandra Mara, minhas irmãs Fernanda e Alice e meu irmão Kauê, que mesmo longe sei que sempre torceram para que tudo desse certo.

Ao meu marido Hugo e filho Vítor Hugo pela paciência, compreensão e pelo amor presente em todos os momentos.

À Prof. Dra. Andréa Bittencourt Moura pelos ensinamentos, paciência e oportunidades proporcionadas nestes anos de trabalho.

Aos Professores do Departamento de Fitossanidade e Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, pelos ensinamentos profissionais, pessoais e pelo convívio.

À banca examinadora pela disponibilidade e contribuição no trabalho.

Aos funcionários e amigos Rosária Helena e Sérgio Freitas do Laboratório de Fungos Fitopatogênicos pelas ajudas constantes.

Aos estagiários, Carla Tunes, Rafael Nunes, Marcelo e minha colega Mariane Schüller, meus amigos, minha eterna gratidão pela ajuda no fechamento dos trabalhos. Pela colaboração das amigas e colegas Jaqueline Schafer, Priscila Rossato, Élen Bonilha, Daniela Rodriguez e Renata Mocelin sempre ajudando quando necessário e principalmente a colega Lauren Fonseca Anacker, pela amizade, ajuda e paciência em todos os momentos.

Ao Drº Demócrito Chiesa Freitas, pela ajuda nos trabalhos e atenção

dada sempre que necessário.

À Dr^a Bianca Obes Corrêa, agradeço pela ajuda profissional, sempre disponível para sanar as dúvidas, mas principalmente, pelo exemplo de amizade, paciência, pela críticas feitas e pelo estímulo dado durante todo período de trabalho. Pelo exemplo que levarei, da profissional dedicada, e convicta das suas ideias, o meu muito obrigada.

À Universidade Federal de Pelotas, pela oportunidade dada para que concluísse minha graduação em Ciências Biológicas e pela oportunidade de realização do curso de Mestrado.

A Capes, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela bolsa de estudos concedida durante o mestrado.

Enfim, agradeço a todos aqueles que de alguma forma fizeram parte desta caminhada, seja de corpo presente ou de coração, mas que sempre torceram para que eu alcançasse meus objetivos.

Biografia

Aline Garske Santos, filha de Luiz Fernando Santos e Sandra Mara Garske Santos, nasceu na cidade de Dom Pedrito, Estado do Rio Grande do Sul, em 14 de setembro de 1986.

Em 2006 ingressou na Universidade Federal de Pelotas – Pelotas (RS) onde graduou-se em Ciências Biológicas-Licenciatura concluindo o curso em 2010.

Em março de 2011, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, nível de Mestrado, na área de conhecimento Fitopatologia pela Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – Pelotas (RS), para conclusão dos estudos em agosto de 2013.

“A mente que se abre a uma nova ideia jamais voltará ao seu tamanho original.”

(Albert Einstein)

Resumo

Santos, Aline Garske. **Microbiolização de sementes de arroz para redução da transmissão de *B. oryzae***. 2013. 42f. Dissertação (mestrado) Programa de pós graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

O arroz é umas das culturas de maior importância econômica mundial. Entretanto, a ocorrência de doenças, como a mancha parda, incitada por *Bipolaris oryzae* é responsável por grandes perdas na cultura. Este trabalho teve com objetivo avaliar o potencial da microbiolização de sementes de arroz com as rizobactérias DFs185 (*Pseudomonas synxantha*), DFs223 (*P. fluorescens*), DFs306 (não identificado), DFs416 e DFs418 (*Bacillus* sp.) e as combinações DFsC01 (185/416/418) e DFsC02 (306/416/418) para redução da incidência de *B. oryzae*, de fungos manchadores e não manchadores de sementes, bem como sobre a transmissão deste patógeno das sementes para plântulas. Para tanto, utilizaram-se duas cultivares, BRS Pelota, mais suscetível e BRS Querência, mais tolerante à mancha parda. As sementes foram imersas em suspensão ($A_{540}=0,5$) dessas bactérias, sendo a testemunha imersa somente em solução salina. Após período de agitação de trinta minutos a uma temperatura de 10°C as sementes foram avaliadas quanto à incidência dos diferentes fungos pelo método do papel filtro. Para o experimento de transmissibilidade, o ensaio foi conduzido em caixas plásticas transparentes, com 25 copos com capacidade de 50 mL contendo vermiculita esterilizada. Em cada recipiente foi depositada uma semente, permanecendo em câmara úmida a temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Observou-se que tanto para a cultivar BRS Pelota quanto BRS Querência, quando avaliados incidência de *B. oryzae* e fungos manchadores e não manchadores, os melhores tratamentos foram DFs185 e DFs306. De modo geral observou-se que as maiores reduções ocorreram na cultivar BRS Querência. Para transmissão do patógeno expressa pelo índice de doença, DFs185, DFs306 e a combinação DFsC02 foram os melhores tratamentos, o que resultou também em aumento do comprimento de plântula pelos tratamentos DFs185 e DFs306. Embora mais estudos sejam necessários, o presente trabalho mostra a eficiência de rizobactérias de forma isolada na redução de patógenos presentes nas sementes sendo possível sua utilização no manejo integrado de doenças.

Palavras chaves: controle biológico, mancha parda do arroz, rizobactérias.

Abstract

SANTOS, A. G. **Microbiolization rice seeds to reduce transmission of *Bipolaris oryzae***. 2013. 42f. Dissertação (mestrado)-Programa de Pós Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Rice is a crop largest economic importance global. However, the occurrence of diseases such as brown spot, incited by *Bipolaris oryzae* is responsible for great losses in yield. This study aimed to evaluate the potential of microbiolization rice seeds with different rhizobacterias: DFs185 (*Pseudomonas synxantha*), DFs223 (*P. fluorescens*), DFs306 (unidentified), and DFs416; DFs418 (*Bacillus* sp.) Two combination were used: DFsC01 (185 / 416/418) and DFsC02 (306/416/418) to reduce the incidence of *B. oryzae* staining of not staining fungi and seeds, as well as the transmission of this pathogen from seeds to seedlings. For this, we used two cultivars, BRS Pelota, more susceptible and BRS Querência, more tolerant to brown spot. The seeds were immersed in suspension ($A_{540} = 0.5$) of these bacteria, for the control the seeds were immersed in saline solution. After stirring period of thirty minutes at a temperature of 10 ° C seeds were evaluated for the incidence of different fungi by blotter method. For the transmissibility experiment, this was conducted in transparent plastic boxes. In each box was colocated 25 cups with 50 mL sterilized vermiculite. In each cup was deposited a seed remaining in moist chamber at 25 ± 2 ° C. It was observed that both the BRS Querência as BRS Pelota, when measured incidence of *B. oryzae* and fungal staining and not staining, the best treatments were DFs185 and DFs306. In general it was observed that the largest reductions occurred in BRS Querência. For transmission of disease expressed by the index of disease DFs185, DFs306 and the combination DFsC02 were the best treatments, which also resulted in increased seedling length by DFs185 and DFs306 treatments. Although more studies are needed, this study shows you that the efficiency of rhizobacteria in isolation in reducing pathogens in seeds its use in integrated disease management is possible.

Keywords: biological control, brown spot of rice rhizobacteria.

Tabela

Tabela 1. Comprimento e massa seca da parte aérea de plântulas de arroz oriundas de sementes microbiolizadas com os tratamentos DFs185, DFs223, DFs306, DFs416, DFs418 e as combinações DFsC01 DFsC02.....33

Lista de figuras

- Figura 1.** Desenho esquemático representando os danos causados por *Bipolaris oryzae* na transmissão semente- plântula de arroz.....21
- Figura 2.** Incidência de *Bipolaris oryzae* em sementes de arroz da cultivar BRS Pelota após microbiolização com rizobactérias DFs185, DFs223, DFs306, DFs416, DFs418 e combinações DFsC01 e DFsC02 avaliadas pelo método do papel filtro.....24
- Figura 3.** Incidência de *Bipolaris oryzae* em sementes de arroz da cultivar BRS Querência após microbiolização com rizobactérias DFs185, DFs223, DFs306, DFs416, DFs418 e combinações DFsC01 e DFsC02 avaliadas pelo método do papel filtro.....26
- Figura 4.** Incidência de fungos manchadores e não manchadores em sementes da cultivar BRS Pelota microbiolizadas com os tratamentos DFs185, DFs223, DFs306, DFs416, DFs418 e combinações DFsC01 e DFsC02 avaliados pelo método do papel filtro. Testemunha considerada 100%.....28
- Figura 5.** Incidência de fungos manchadores e não manchadores em sementes da cultivar BRS Querência microbiolizadas com os tratamentos DFs185, DFs223, DFs306, DFs416, DFs418 e combinações DFsC01 e DFsC02 avaliados pelo método do papel filtro. Testemunha considerada 100%.....30
- Figura 6.** Índice de Mancha parda em plântulas de arroz das cultivares BRS Pelota e BRS Querência oriundas de sementes infestadas naturalmente com *Bipolaris oryzae* e microbiolizadas com os tratamentos: DFs185, DFs223, DFs306, DFs416, DFs418 e as combinações DFsC01 e DFsC02. Letras iguais não diferem estatisticamente segundo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.....32

Sumário

1. Introdução	14
2. Impacto da microbiolização de sementes com rizobactérias sobre <i>Bipolaris oryzae</i> presente em sementes de arroz e sua transmissão.....	19
2.2 Material e métodos.....	19
2.2.1 Sementes utilizadas no ensaio.....	19
2.2.2 Rizobactérias utilizadas.....	20
2.2.3 Microbiolização das sementes.....	20
2.2.4 Incidência de <i>Bipolaris oryzae</i> e outros fungos após microbiolização com rizobactérias.....	20
2.2.5 Impacto da microbiolização de sementes com rizobactérias sobre a transmissão de <i>Bipolaris oryzae</i> de sementes para plântulas.....	21
2.2.6 Procedimentos estatísticos.....	22
3. Resultados e discussões.....	23
4. Conclusão.....	36
5. Referências.....	37

1.INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é uma cultura de importância econômica mundial onde cerca de 150 milhões de hectares são cultivados anualmente no mundo, produzindo 590 milhões de toneladas, sendo que mais de 75% desta produção é oriunda do sistema de cultivo irrigado (EMBRAPA, 2013).

O Brasil está entre os maiores produtores do grão, destacando-se também em consumo. Segundo a CONAB (2013), a produção estimada apresenta um incremento de 4%, atingindo 12.062 toneladas na temporada 2012/2013, contra 11.599,5 no exercício anterior.

Entre os estados produtores de arroz, o Rio Grande do Sul é o que mais se destaca. Mesmo havendo uma diminuição da área cultivada, o estado apresentou produção estimada em mais de 7,8 milhões de toneladas na safra 2011/2012, concentrando aproximadamente 43% de toda área cultivada no Brasil, contribuindo com 67% da produção nacional de arroz (CONAB, 2013).

O cultivo de arroz irrigado está sujeito ao aparecimento de diversos patógenos entre bactérias, fungos, nematoides e vírus que atacam a cultura causando perdas na produtividade. Segundo Richardson (1990), os fungos são os principais patógenos que se associam às sementes levando a perdas na produção e que também interferem na qualidade fisiológica e sanitária das sementes.

No Rio Grande do Sul, os principais patógenos associados às sementes são *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc. (teleomorfo *Magnaporthe grisea* Barr.), *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoem (teleomorfo: *Cochliobolus miyabeanus* (Ito & Kuribayashi) [(sinonímia: *Drechslera oryzae*, *Helminthosporium oryzae*)], *Gerlachia oryzae* [(Hashioka&Yokogi) W. Gams (teleomorfo: *Monographella albescens* (Thümen) Parkinson, Sivanesan e C. Booth)], *Tilletia barclaya* [(Bref.) Sacc. & Syd]] e um complexo grupo de fungos causadores de manchas de grãos (FRANCO et al., 2001;).

Entre as muitas doenças que ocorrem na cultura do arroz, destaca-se a mancha parda, uma doença que vem ganhando espaço devido à capacidade de causar danos à cultura. A doença tem como agente etiológico o fungo *B.*

oryzae classificado na subdivisão Deuteromycotina (fungos imperfeitos), classe Hyphomycetes, família Dematiaceae. Sua fase perfeita corresponde a *Cochliobolus miyabeanus* que produz peritécios globosos, ascos cilíndricos e ascósporos filamentosos.

No Brasil atribuía-se a mancha parda do arroz apenas a *B. oryzae*. Entretanto, levantamento feito em lavouras do Rio Grande do Sul constatou a presença das espécies *B. cynodontis* (Marignoni) Shoemaker, *B. curvispora* (El Shafie) Sivanesan e outra espécie de *Bipolaris* não identificada (FARIAS; PIEROBOM, 2006) associadas às sementes de arroz, causando mancha nos grãos e perdas no rendimento da cultura (FARIAS, 2007).

Os sintomas da mancha parda podem ocorrer em vários tecidos e fases de desenvolvimento das plantas. Em plântulas, as lesões são oblongas e marrons, podendo rodear o coleóptilo e causar crestamento das folhas. Quando o ataque é severo, as radículas são menores que as sadias e tem lesão marrom escura. Nas plantas adultas, as lesões encontradas nas folhas geralmente são rodeadas por um halo de coloração amarela. Dependendo do nível de suscetibilidade da cultivar, as lesões podem apresentar tamanhos diferentes de 1-4 mm nas cultivares de suscetibilidade média até lesões do tipo abertas, com centro de coloração cinza, podendo variar de 5-14 mm nas cultivares com alto grau de suscetibilidade (NUNES; RIBEIRO; TERRES, 2004).

Os maiores danos nas lavouras ocorrem durante a germinação das sementes, causando a morte e redução no estande de plantas (RIBEIRO, 1988; BEDENDO, 1997). A doença também causa o enfraquecimento de plantas adultas, aumenta a esterilidade e diminui a qualidade dos grãos (Ou, 1985). O patógeno é também um dos principais fungos manchadores de grãos. Essa descoloração pode ficar restrita às glumas ou atingir internamente as sementes, reduzindo a densidade dos grãos ou formando grãos gessados, com conseqüente redução do valor comercial dos mesmos (CORRÊA, 2006).

Sementes infectadas/infestadas são uma das principais formas de transmissão de patógenos, pois, uma vez o patógeno presente na semente, este tem maior chance de provocar doenças nas plantas oriundas delas e se espalhar para outras plantas sadias, iniciando assim uma epidemia (ZAMBOLIM, 2005).

A localização do inóculo nas sementes tem efeito decisivo na transmissão e na severidade de sintomas em plântulas. Quanto mais profunda a infecção por patógenos nos tecidos das sementes, maiores são as chances de ser produzida uma plântula infectada, sendo que em condições ambientais favoráveis ao patógeno, o inóculo externo pode ser transmitido (DHINGRA, 2005).

Segundo Ou (1985), a infecção primária via semente é muito comum, embora nem sempre sementes infectadas ou contaminadas resultem em plântulas com sintomas. No entanto, quando a epidemia a campo é precoce, observa-se alta porcentagem de transmissão de fungos da semente para as plântulas, podendo chegar a 15% em se tratando de *B. oryzae* (MALAVOLTA et al., 2002).

Para o controle da doença, procura-se utilizar técnicas de manejo integrado, principalmente pelo uso de cultivares resistentes. O uso de resistência genética para o controle de doenças é uma medida eficiente e de baixo custo, no entanto, cultivares de arroz que apresentam resistência podem sofrer diminuição da sua vida útil, ou seja, ter sua resistência quebrada como consequência das adaptações das populações de patógenos (NUNES et al., 2007).

O tratamento de sementes com fungicidas como forma preventiva visto que muitos patógenos são carregados pelas sementes, além de outros patógenos habitantes do solo que atacam as sementes em germinação e as plântulas em emergência provocando tombamento na pré e pós emergência e multiplicação do inóculo (DHINGRA, 1985). Porém, o uso de fungicidas vem sendo questionado por grupos ambientalistas devido ao potencial de degradação ambiental, particularmente do solo e da água (GASPAR; LAWRENCE, 1995). Além disso, por serem produtos que necessitam de alta tecnologia para serem produzidos, acabam sendo caros aumentando os custos de produção. Outro fator negativo relacionado aos fungicidas, se dá pelo fato de seu uso indiscriminado e sem orientação acabar proporcionando seleção de populações patogênicas resistentes.

Diante disso, o controle biológico surge como uma alternativa que permite reduzir ou mesmo eliminar o uso de agrotóxicos, contribuindo para

diminuir os danos ao ambiente e os custos de produção. Este método tem como aspectos positivos o baixo custo econômico e ambiental, porém, ao contrário do controle químico, raramente é espetacular (BETTIOL, 1991), pois, em muitos casos, não apresenta estabilidade de resultados a campo. Como alternativa para superar esta limitação, tem-se adotado a estratégia da utilização de combinações de biocontroladores eficientes (DUNE et al., 1998; GUETSKY et al., 2001; DE BOER et al., 2003). Devido à capacidade das rizobactérias atuarem por diferentes mecanismos, dessa forma, geralmente aumentam a estabilidade e o espectro de ação, pois, agregam diferentes mecanismos de ação, como competição, parasitismo, predação, antibiose e indução de resistência (BETTIOL, 1991). É relatado na literatura o uso de combinações de *Pseudomonas* (Migula) e *Bacillus* (Cohn) para o controle da brusone (CHATERGEE et al., 1996; VIDHYASEKARAN et al., 1997; KRISHNAMURTHY; GNANAMANIACKAM, 1998). Espécies de *Bacillus* e de *Pseudomonas* têm sido estudadas em alguns países para o controle de doenças do arroz, sendo aplicada principalmente por microbiolização das sementes. Nestes casos, exemplos de doenças controladas são: brusone (VIDHYASEKARAN et al., 1997), queima-das-bainhas (NANDAKUMAR et al., 2001, COMMARE et al., 2002, WIWATTANAPATAPEE et al., 2004), crestamento bacteriano (VIDHYASEKARAN et al., 2001), além de fungos manchadores dos grãos (ROSALES; MEW, 1997) e meloidoginose (PADGHAM; SIKORA, 2006).

No mercado mundial, existe uma vasta lista de produtos comerciais à base de microrganismos, inclusive para o tratamento de sementes como, por exemplo, Clonotri® (*Clonostachys* e *Trichoderma*), Bioniconema (*Paecilomyces lilacinus*) Bioderma H (*Trichoderma harzianum*), Biosubtilin e FZB24® (à base de *Bacillus subtilis*) entre outros (BETTIOL, 2012).

No Brasil, o Grupo de Pesquisa em Bactérias Biocontroladoras e Promotoras de Crescimento Vegetal da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) selecionou rizobactérias que apresentam potencial para o controle de *B. oryzae* e *G. oryzae* (LUDWIG et al., 2009), *R. solani* (LUDWIG; MOURA, 2007; SOUZA JÚNIOR et al., 2010) e *P. grisea* (SOUZA JÚNIOR, 2010). No entanto, estes trabalhos avaliaram a capacidade do tratamento de sementes com rizobactérias em reduzir patógenos inoculados em plantas jovens.

Pouco se conhece a respeito do seu impacto na transmissão de patógenos presentes nas sementes, embora Moura e colaboradores (2008)

tenham mostrado que sementes microbiolizadas com isolados de *Pseudomonas amygdali* reduziram a transmissão de *B. oryzae* e *G. oryzae* para plântulas a partir de sementes naturalmente infestadas/infectadas.

Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar o potencial de bactérias pré-selecionadas de forma isolada e em combinação sobre a sobrevivência e transmissão de *B. oryzae* após a microbiolização das sementes com rizobactérias.

2. Impacto da microbiolização de sementes com rizobactérias sobre *Bipolaris oryzae* presente em sementes de arroz e sua transmissão.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram conduzidos nos laboratórios de Bacteriologia Vegetal e Laboratório de Fungos Patogênicos - Patologia de Sementes, do Departamento de Fitossanidade da Universidade Federal de Pelotas (UFPel).

2.2.1 Sementes utilizadas no ensaio

Foram utilizadas sementes de duas cultivares, BRS Pelota e BRS Querência, a primeira mais suscetível à mancha parda e a segunda, com resistência moderada à doença (SOSBAI, 2012). Utilizaram-se quatro lotes para cada cultivar. Os lotes foram selecionados de modo que apresentassem mesma origem e época de semeadura (lavouras do município de Pelotas, instaladas na mesma semana) e níveis de infecção/infestação natural por *B. oryzae* similares, determinadas pelo teste de sanidade.

As amostras foram obtidas dividindo-se a porção total de sementes produzidas, e após serem homogeneizadas, divididas em quatro porções semelhantes, duas porções foram armazenadas (18°C e umidade relativa de 65%). As outras duas porções constituíram a amostra de trabalho. Esta foi

homogeneizada novamente e reduzida por divisões sucessivas a uma ou mais amostras de trabalho de acordo com o número de sementes necessárias para cada análise realizada (BRASIL, 2009).

2.2.2 Rizobactérias utilizadas

As rizobactérias utilizadas na microbiolização das sementes de arroz pertencem à coleção do Laboratório de Bacteriologia Vegetal da Universidade Federal de Pelotas e foram pré-selecionadas de forma isolada (LUDWIG et al., 2009) e em combinação por Souza Júnior (2010). Foram utilizados os seguintes isolados: DFs185 (*Pseudomonas. synxantha*) Holland, DFs223 (*P. fluorescens*) Migula, DFs306 (não identificado), DFs416 e DFs418 (*Bacillus* sp.), além dos tratamentos combinados DFsC01 (185/416/418) e DFsC02 (306/416/418).

2.2.3 Microbiolização das sementes

Preparou-se suspensão das bactérias com 24 horas de crescimento em meio 523 (KADO; HESKETT, 1970) em solução salina (NaCl 0,85%) sendo cada suspensão ajustada para $A_{540} = 0,5$.

As combinações foram constituídas pela mistura de volumes iguais da suspensão de cada um dos isolados preparadas separadamente.

Sementes foram imersas em suspensão de bactérias e agitadas durante 30 minutos sob temperatura de 10°C. A testemunha foi composta de sementes imersas apenas em solução salina.

2.2.4 Incidência de *Bipolaris oryzae* e outros fungos após microbiolização com rizobactérias.

Sementes microbiolizadas conforme descrito no item 2.3.3 foram plaqueadas pelo método do papel filtro em caixas do tipo gerbox® (BRASIL, 2009) e levadas para sala de incubação com temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas.

A parcela experimental foi constituída por 25 sementes. O ensaio teve delineamento experimental em blocos ao acaso com quatro repetições.

Passados sete dias, foi feita a avaliação da incidência de *B. oryzae* e de fungos manchadores e não manchadores, examinando-se as sementes individualmente em microscópio estereoscópio. Calculou-se a porcentagem de incidência em relação à testemunha, considerada como 100%.

Após verificação da presença de *B. oryzae*, para confirmação da identificação do patógeno, foram observadas as características em microscópio óptico e comparado à literatura especializada na diferenciação de espécies de *Bipolaris* (SIVANESAN, 1987).

2.2.5 Impacto da microbiolização de sementes com rizobactérias sobre a transmissão de *Bipolaris oryzae* de sementes para plântulas.

Sementes foram microbiolizadas conforme descrito no item 2.3.3 e depositadas individualmente em copos plásticos com capacidade de 110 mL contendo substrato esterilizado. Estes foram colocados em caixas plásticas transparentes, mantendo-se câmara úmida. Cada caixa recebeu 24 copos sendo mantidas em sala de incubação com temperatura de 25 ± 2 °C e fotoperíodo de doze horas. Cada caixa constituiu uma parcela e o delineamento experimental usado foi o de blocos casualizados, com três repetições de cada tratamento.

Passados 15 dias de incubação foi realizada a avaliação individual de cada plântula, onde, de acordo com o sintoma apresentado, foram dadas notas conforme estabelecido por Cardoso (2011) (Fig 1).

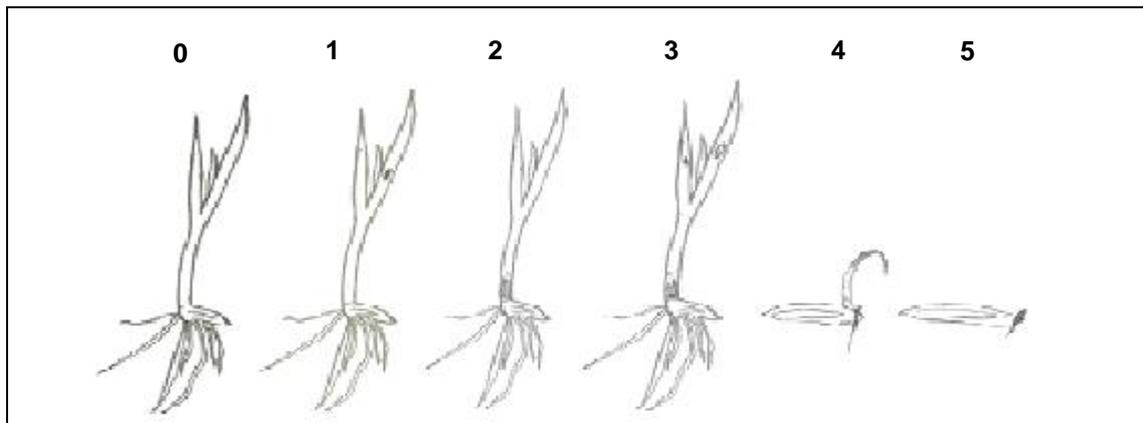


Figura 1- Desenho esquemático representando os danos ocasionados por *Bipolaris oryzae* na transmissão semente-plântula de arroz.

Os valores obtidos da escala de notas foram utilizados para o cálculo do índice de doença (ID), de acordo com a fórmula proposta por Mc Kinney (1923) citado por Cardoso (2011).

$$ID (\%) = \sum \left[\frac{\text{valor da nota} \times \text{N}^{\circ} \text{ de plantas com esta nota}}{\text{N}^{\circ} \text{ total de plantas} \times \text{valor máximo da escala de notas}} \right] \times 100$$

Posteriormente, foi feita a separação da parte aérea e sistema radicular das plântulas para a mensuração do comprimento de ambas as partes. As partes foram colocadas em sacos de papel em estufa (60° C) com circulação de ar até atingir peso constante. Após, avaliou-se a massa seca das partes.

As sementes não germinadas foram retiradas do substrato e lavadas com água corrente e posteriormente em água esterilizada, e submetidas à câmara úmida a fim de confirmar a presença de *B. oryzae* na semente.

2.2.6 Procedimentos estatísticos

Os dados obtidos nos ensaios de transmissão foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico Assistat Versão 7.6 beta (pt) (SILVA, 2006).

3 .RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na avaliação da incidência de *B. oryzae* nas sementes da cultivar BRS Pelota (Fig 1), foi possível observar que, com exceção do lote 2, todos os lotes reduziram a sobrevivência do patógeno. No lote 1, DFs418 foi o tratamento mais eficiente (50% sobrevivência), seguido de DFs185 (64%) e DFs306 (57%). Para o lote 2, a combinação DFsC01 foi o melhor dentre os demais tratamentos, com percentagem de sobrevivência de 77%. Destaque para DFs306 no lote 3 (45% de sobrevivência), seguidos dos tratamentos DFs185 e DFs416 (ambos com 56%). Para o último lote avaliado, lote 4, os tratamentos mais eficientes foram DFs306 e DFs418 (44% e 62% respectivamente). Na média geral dos lotes, novamente destacam-se DFs306 (58%), DFs418 (73%) e DFs185 (75%) como os tratamentos mais eficientes na redução do patógeno

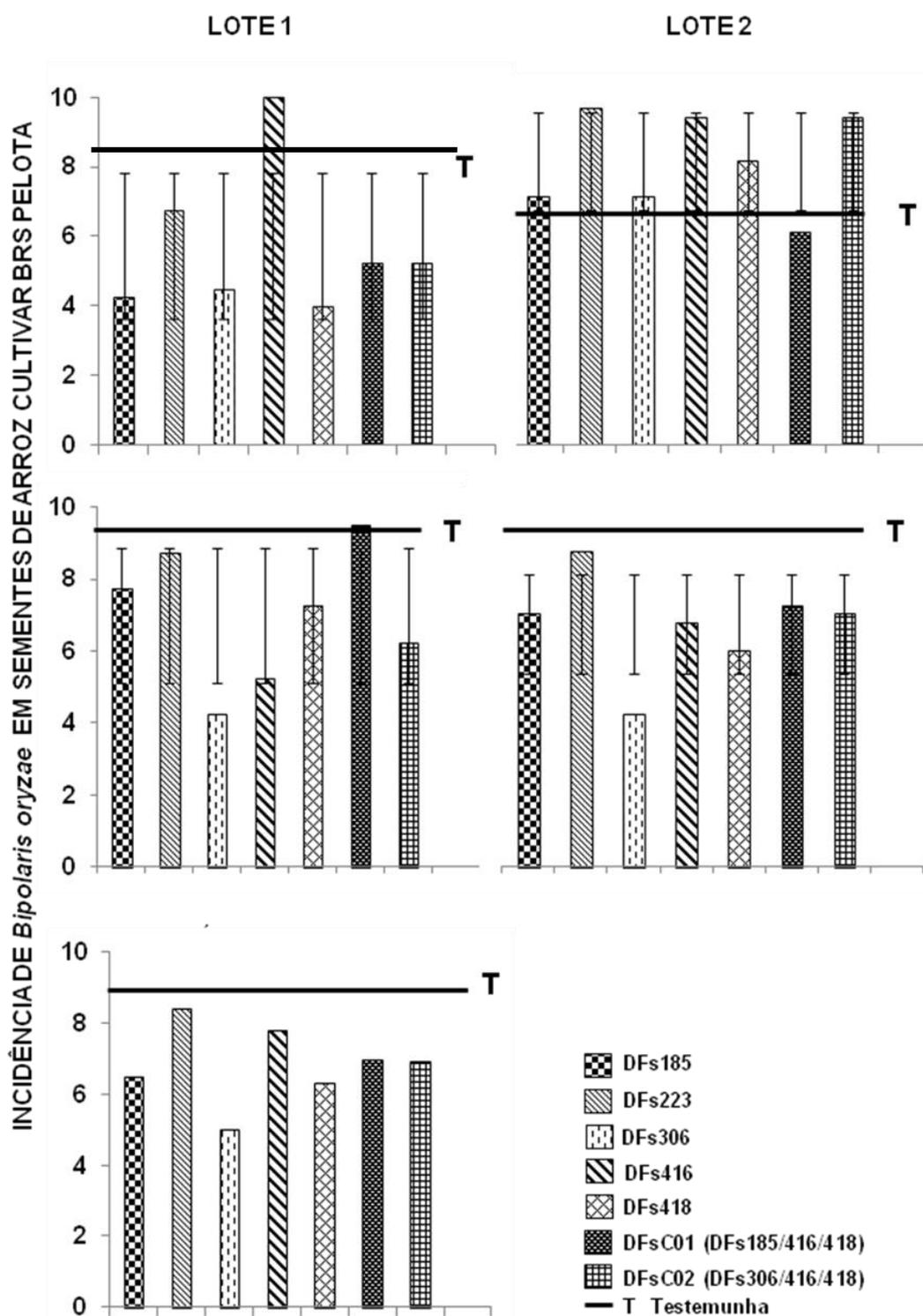


Figura 2. Incidência de *Bipolaris oryzae* em sementes de arroz da cultivar BRS Pelota após microbiolização com rizobactérias DFs185, DFs223, DFs306, DFs416, DFs418 e combinações DFsC01 e DFsC02 avaliadas pelo método do filtro.

Para a cultivar BRS Querência, foi possível observar que para todos os lotes e tratamentos houve a sobrevivência do patógeno após a microbiolização das sementes (Fig 2). Observou-se que para o lote 1 e lote 2, os tratamentos mais eficientes foram DFs185 e DFsC01. Para o lote 1, DFsC01 (45%) seguido de DFs185 (60% de sobrevivência) e no lote 2, DFs185 e DFs306, com 63% e 61%, respectivamente. Dentre os tratamentos avaliados no lote 3, DFs306, seguido de DFs185 e DFs418 foram os mais eficientes (50%, 56% e 59% de sobrevivência). Para o lote 4, observou-se percentagens de sobrevivência iguais nos tratamentos DFs185 e DFs418 (52%) e também nos tratamentos DFs306 e a combinação DFsC01(56%). Na média geral dos lotes, os tratamentos que mais proporcionaram reduções foram DFs185 (42%) seguido por DFsC01, DFs416 e DFs306 (38%, 33% e 31%, respectivamente).

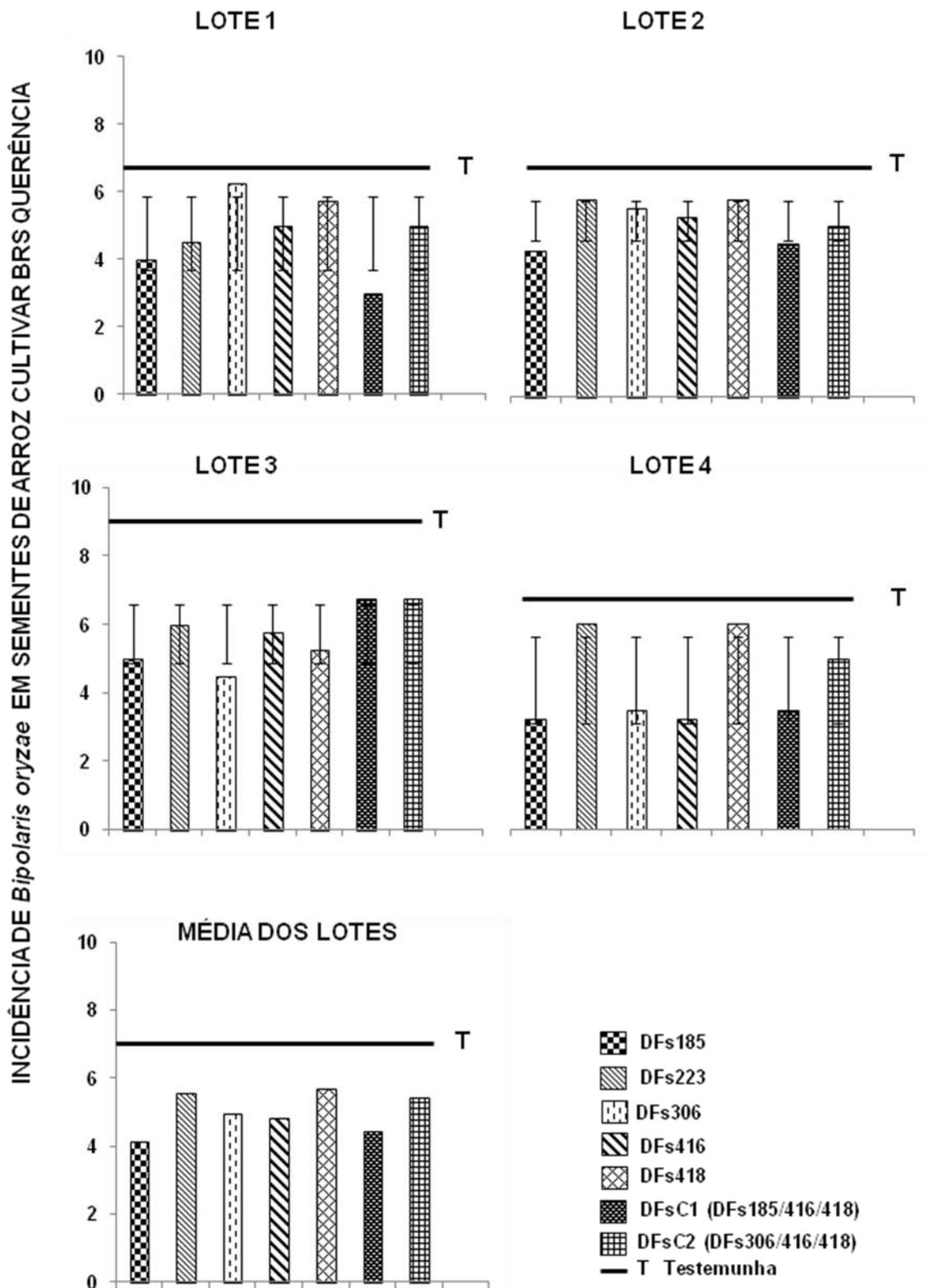


Figura 3. Incidência de *Bipolaris oryzae* em sementes de arroz da cultivar BRS Querência após microbiolização com rizobactérias DFs185, DFs223, DFs306, DFs416, DFs418 e combinações DFsC01 e DFsC02 avaliadas pelo método do papel filtro.

De modo geral, a incidência de *B.oryzae* foi maior na cultivar BRS Pelota (8,69) do que na cultivar BRS Querência (7,19) e a redução da sobrevivência, maior na cultivar BRS Querência (30,46% contra 21% na cultivar BRS Pelota).

Por outro lado, a redução média nos diferentes lotes, considerando ambas cultivares não variou muito (33,29 a 30,71%) excetuando-se o lote 2 (11,19%), embora este lote tenha apresentado nas testemunhas valores inferiores à média para cada cultivar.

Além da avaliação de *B. oryzae*, também foram levados em consideração a sobrevivência de fungos manchadores como *Alternaria* spp., *Curvularia* spp., *Gerlachia* spp., *Phoma* spp. e *Piricularia* spp., segundo Soave et al., (1985) e fungos não manchadores como *Acremonela* spp., *Aspergillus* spp., *Cladosporium* spp., *Epicocum* spp., *Fusarium* spp., *Nigrospora* spp., *Penicillium* spp., *Rhizopus* spp., e *Trichoderma* spp.

Observou-se que para a cultivar BRS Pelota, para fungos manchadores, no lote 1, os tratamentos mais eficientes foram DFs185, DFs418 e DFs306 com percentagens de 63%, 65% e 66% de sobrevivência, respectivamente. Para o lote 2, destaque para os tratamentos DFsC02 (52%) e DFs185 (78% de sobrevivência). No lote 3, a combinação DFsC02 foi o tratamento mais eficiente com percentagem de sobrevivência de 51%, seguido dos tratamentos DFs223 e DFs416 (77% e 79%). Por último, observando-se o lote 4, destaque para DFsC02, com 54% de sobrevivência, seguido do tratamento individual DFs185, com 85% de controle. Na média geral dos lotes, DFsC02 e DFs418, foram os tratamentos mais eficientes com percentagens de sobrevivência de 62% e 81%, respectivamente (Fig 3).

Avaliando-se a presença de fungos não manchadores (Fig 3), foi possível observar percentagens de reduções em todos os lotes. Para o lote 1 DFs185 (70%), para o lote 2, DFs416 e DFs223, com 71% e 75% de sobrevivência, respectivamente e para o lote 3, apenas a combinação DFsC01 apresentou redução de fungos manchadores (7,5%). Observou-se que o lote 4, com exceção do tratamento DFs306, todos os demais tratamentos utilizados proporcionaram redução de fungos não manchadores entre eles, destaque para os tratamentos DFs185, com 56% de sobrevivência, DFs223 (72%) e DFsC02 (75%). Na média geral dos lotes, DFs416 e DFs185, mostraram-se mais eficientes, com 84% e 75% de sobrevivência.

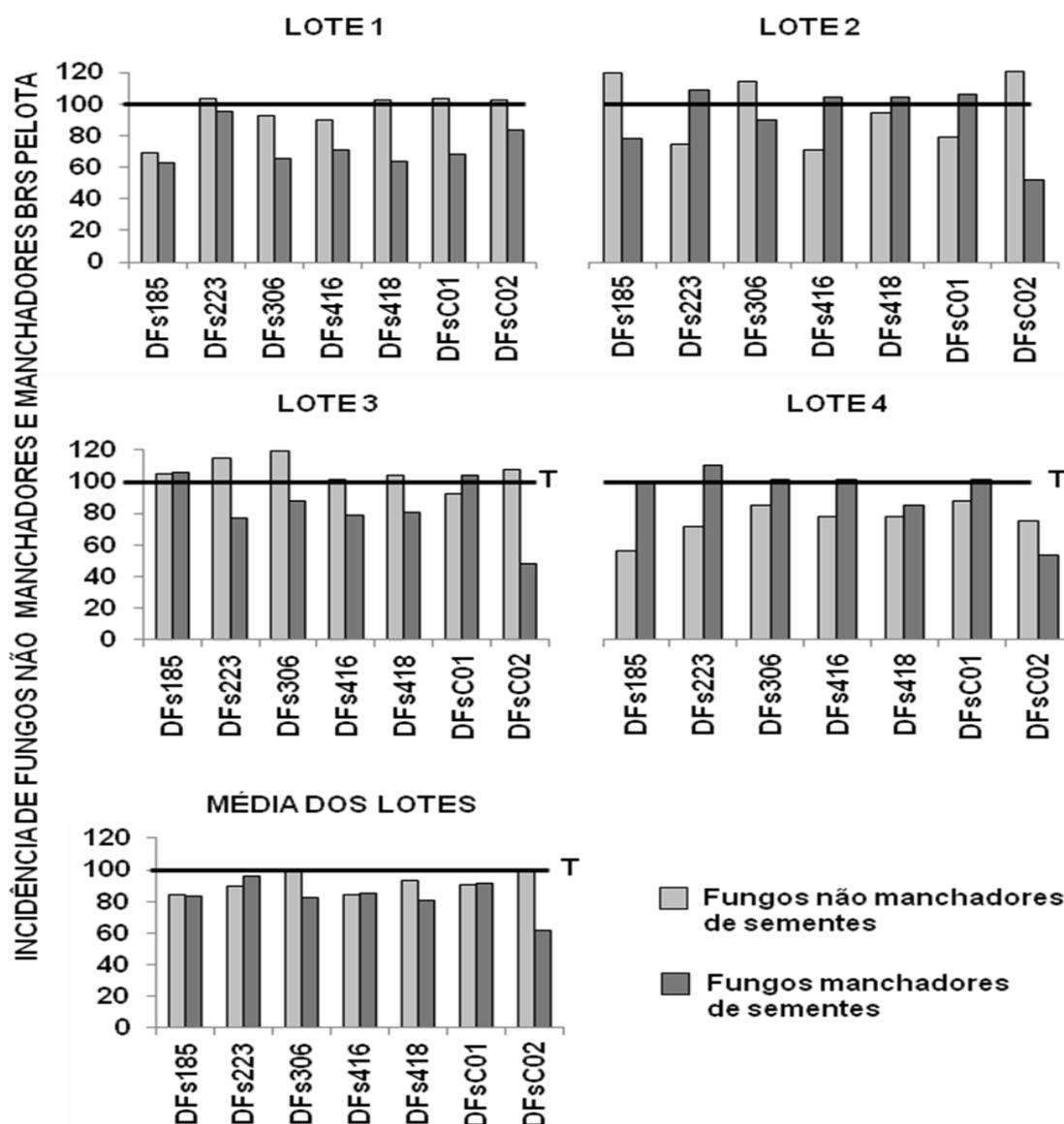


Figura 4. Incidência de fungos manchadores e não manchadores em sementes da cultivar BRS Pelota microbiolizadas com os tratamentos DFs185, DFs223, DFs306, DFs416, DFs418 e as combinações DFsC01 e DFsC02 avaliados pelo método do papel filtro. Testemunha considerada

Como demonstra a figura 4, para o lote 1, o tratamento mais eficiente foi a combinação DFsC02, com 58% de sobrevivência, seguidos de DFs185 (60%) e DFs306 (73%). No lote 2, foi possível observar que todos os tratamentos reduziram fungos manchadores, sendo as combinações DFsC02 e DFsC01 as mais eficientes, com percentagens de 67% e 73% de sobrevivência, respectivamente.

Avaliando-se o lote 3, as combinações DFsC02, DFsC01 e o tratamento DFs306 foram os mais eficientes reduzindo fungos manchadores em 57%, 42% e 34%, respectivamente. Observou-se que para o lote 4, todos os tratamentos foram eficientes na redução de fungos manchadores, onde DFsC01 e DFsC02, apresentaram 51% e o tratamento DFs416 61% de sobrevivência. Na média geral, novamente as combinações DFsC02 e DFsC01, foram os melhores tratamentos com 46% e 37% de percentagem de redução.

Em relação ao grupo de fungos não manchadores (Fig 4), destacam-se DFsC02 e DFs416, com 74% e 76% de sobrevivência no lote 1 e para o lote 2, DFs185 e DFs416 com 63% e 70% , respectivamente. Para o lote 3, os tratamentos DFs185 e a combinação DFsC02 (44% e 60% de sobrevivência) e para o lote 4, a combinação DFsC01, com 66% e o tratamento DFs416 com 68% de sobrevivência foram os destaques. Na média geral dos lotes, DFs185, DFsC02 e DFs416, foram os melhores tratamentos com 33%, 26% e 25% de redução da sobrevivência de fungos não manchadores.

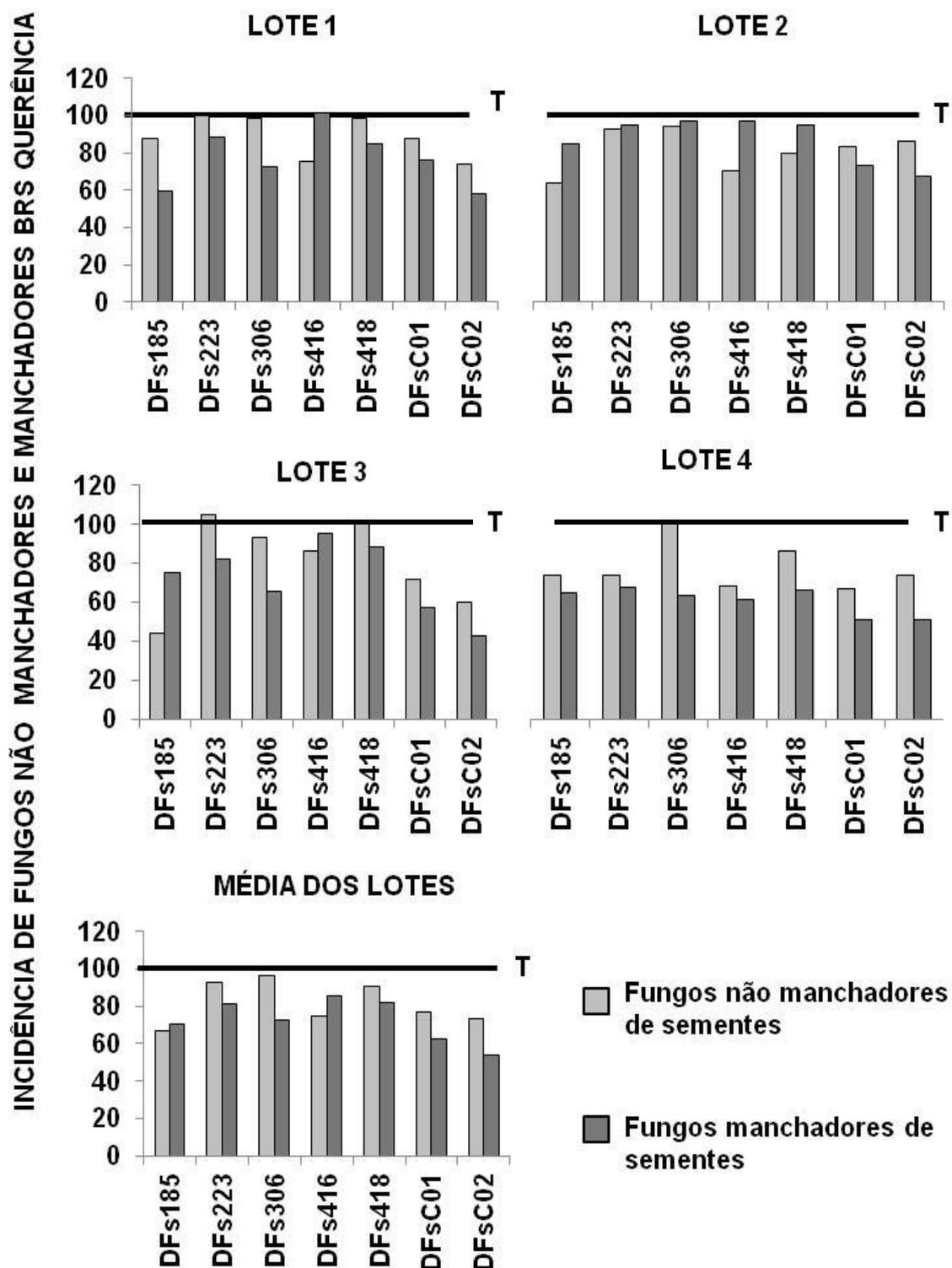


Figura 5. Incidência de fungos manchadores e não manchadores em sementes da cultivar BRS Querência microbiolizadas com os tratamentos DFs185, DFs223, DFs306, DFs416, DFs418 e combinações DFsC01 e DFsC02 pelo método do papel filtro. Testemunha considerada 100%.

Observou-se que de um modo geral, houve redução de fungos manchadores e não manchadores nas duas cultivares avaliadas quando se utilizou a microbiolização de sementes. Porém, quando comparada à cultivar BRS Pelota, a cultivar BRS Querência foi a mais eficiente nas reduções tanto de fungos manchadores (média de 75% contra 84,7% de BRS Pelota) quanto de não manchadores (81,7% contra 92,9 de BRS Pelota). Quanto aos tratamentos utilizados, observa-se que na média geral, das duas cultivares, a combinação DFsC02 e o isolados DFs185 foram os mais eficientes na redução de fungos manchadores (56,8% e 78,4%, respectivamente).

Pode-se observar que tanto nos ensaios de incidência de sobrevivência tanto de *B. oryzae* quanto de fungos manchadores e não manchadores, as maiores reduções ocorreram na cultivar BRS Querência, no entanto, valores apresentados pela testemunha para fungos manchadores foram similares para ambas cultivares (60% de incidência), e menores para a cultivar BRS Querência para fungos não manchadores (58% contra 76% em BRS Pelota) e para *B. oryzae* (29% contra 35% em BRS Pelota).

No ensaio de transmissão não houve interação entre os três fatores (tratamento bacteriano x cultivar x lote) e, portanto, os dados foram apresentados em conjunto. A maioria dos tratamentos reduziu a transmissão do patógeno das sementes para as plântulas (Fig. 5). O isolado DFs306 foi o tratamento mais eficiente, com 29% de redução, seguido pelos isolados DFs185 (25%), DFs223 e a combinação DFsC02 (DFs306/416/418), ambos com 21%.

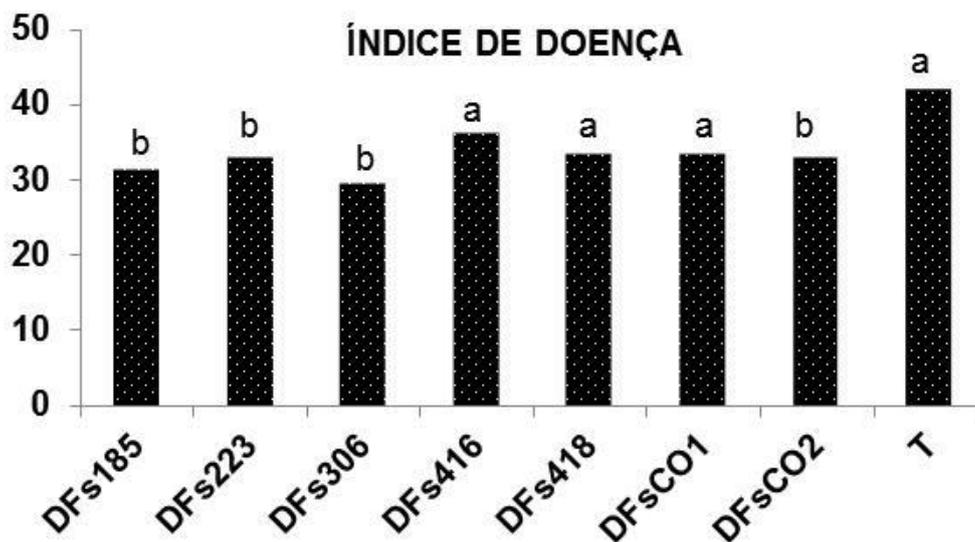


Figura 6. Índice de Mancha parda em plântulas de arroz das cultivares BRS Pelota e BRS Querência oriundas de sementes infestadas naturalmente com *Bipolaris oryzae* e microbiolizadas com os tratamentos: DFs185, DFs223, DFs306, DFs416, DFs418 e as combinações DFsC01 e DFsC02. Letras iguais não diferem estatisticamente segundo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

A redução da transmissão propiciada pelas bactérias DFs185 e DFs306 quando usadas individualmente, resultou em aumento dos comprimentos de plântulas, tanto na parte aérea quanto no sistema radicular, 22,74% e 28,64% para o tratamento DFs306 e 20,58% e 22,02% para DFs185. Para massa seca, os resultados não foram significativos (Tab. 1).

Tabela 1. Comprimento e massa seca da parte aérea de plântulas de arroz oriundas de sementes microbiolizadas com os tratamentos DFs185, DFs223, DFs306, DFs416, DFs418 e as combinações DFsC01 DFsC02

Comprimentos de plântula			
Tratamentos	Parte aérea	Raiz	Total
DFs185	12,17a	7,19ab	19,36a
DFs223	11,56ab	6,89a	18,43ab
DFs306	12,39a	7,58a	19,97a
DFs416	11,12ab	6,38ab	17,50ab
DFs418	11,21ab	6,88ab	18,07ab
DFsC1	11,58ab	6,29b	17,85ab
DFsC2	11,53ab	6,67ab	18,19ab
Testemunha	10,10b	5,89b	15,99b

Massas secas de plântulas			
Tratamentos	Parte aérea ^{NS}	Raiz ^{NS}	Total ^{NS}
DFs185	0,215	0,027	0,243
DFs223	0,233	0,028	0,261
DFs306	0,222	0,030	0,252
DFs416	0,200	0,027	0,227
DFs418	0,205	0,028	0,233
DFsC1	0,205	0,030	0,235
DFsC2	0,211	0,028	0,240
Testemunha	0,242	0,030	0,277

NS- não significativo a 5%. Letras iguais não diferem estatisticamente segundo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

De modo geral, todos os tratamentos apresentam potencial de controle de *B. oryzae* e de fungos manchadores destacando-se os isolados DFs185 e DFs306 como os tratamentos mais eficientes (apenas o isolado DFs185 proporcionou reduções para fungos não manchadores).

Este trabalho demonstra os benefícios do uso de agentes de biocontrole de *B. oryzae* e de outros fungos presentes na semente pela microbiolização com rizobactérias, podendo ser este um método possível de uso, inclusive em conjunto com outras técnicas de manejo, por ser tratar de um método de fácil aplicação, baixo custo e que não deixa resíduos no ambiente. Sabe-se que a introdução de rizobactérias nas sementes visando à redução da transmissão de patógenos, é uma alternativa de viável sucesso (LUZ, 1991).

Este fato já foi comprovado por Ludwig e colaboradores (2006) em sementes de arroz microbiolizadas com rizobactérias com os mesmos tratamentos individuais utilizados no presente trabalho onde foi observada a redução da transmissão de *B. oryzae* e *G. oryzae* de sementes infestadas/infectadas naturalmente para plântulas de arroz em ensaios em casa de vegetação.

Da mesma forma, estudos conduzidos por Fessehaie e Walcott (2005) mostraram que ao microbiolizar sementes de melancia com um isolado de *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* ou de *Pseudomonas fluorescens*, houve redução da transmissão para plântulas da bactéria patogênica *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* previamente inoculadas nas sementes. Utilizando isolados de *Bacillus subtilis* e *Trichoderma harzianum* individualmente ou em combinação para microbiolização de sementes, Herváz et al. (1998) observou a redução da transmissão de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. Em sementes de feijão microbiolizadas com bactérias biocontroladoras de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* Corrêa e colaboradores (2008) verificaram a redução da transmissão de *Colletotrichum lindemuthianum* de sementes naturalmente infestadas/infectadas para plântulas.

A redução propiciada pelo uso de rizobactérias microbiolizadas às sementes, como observado nos tratamentos DFs185 e DFs306, pode estar relacionado ao fato desses organismos produzirem substâncias que de alguma forma inibem o crescimento de patógenos fazendo com que atuem benéficamente sobre o desenvolvimento das plântulas. Já para os tratamentos que não demonstraram ser eficientes na redução, uma possível explicação seria que a microflora presente na semente poderia estar em maior quantidade, fazendo com que a microbiolização não fosse eficiente no controle dos patógenos. Segundo Lazaretti e Bettioli (1997) para que haja controle de

patógenos presentes nas sementes é preciso uma grande quantidade de inóculo para que os resultados sejam significativos

Rizobactérias são organismos capazes de colonizar o sistema radicular e atuam tanto por mecanismos diretos, como por exemplo, fixação biológica do nitrogênio, síntese de sideróforos, produção de fitormônios, solubilização de fósforo e aceleração dos processos de mineralização, quanto mecanismos indiretos como indução de resistência sistêmica nos vegetais, produção de sideróforos, produção de antibióticos e antagonismo a fitopatógenos, entre outros fatores (OLIVEIRA et al., 2003).

Além disso, apresentam como característica serem promotoras de crescimento de plantas. Como observado neste trabalho, as rizobactérias DFs185 e DFs306 proporcionaram valores superiores aos outros tratamentos com relação ao estímulo do crescimento das plântulas de arroz. Para os demais tratamentos, que apesar de terem proporcionado controle de patógenos não apresentaram nenhum aumento significativo no crescimento das plântulas, é possível que a plântula tenha tido um gasto energético maior para se defender do patógeno ou ainda pode ter havido competição por espaço, nutrientes e sítios de colonização (PAULITZ et al., 1990).

. Outro fato interessante está relacionado com o gênero de bactérias utilizados no presente trabalho, as rizobactérias *Pseudomonas* e *Bacillus*, que constituem segundo Santos et al., (2006) as espécies mais abundantes no solo. LAZZARETTI e BETTIOL, (1997) observaram que ao utilizar um produto à base de *Bacillus*, para microbiolização de sementes de arroz, todos os tratamentos reduziram significativamente as populações de *Drechslera oryzae*, *Piricularia oryzae* e *Rhizosporium sativum*, quando comparado à testemunha, além de apresentar comportamento semelhante ao fungicida quitozene em relação à incidência de *P. oryzae* e *R. sativum*.

Embora estudos mais aprofundados sejam necessários, os dados apresentados neste trabalho, demonstram resultados satisfatórios quanto ao uso da microbiolização de sementes na redução da incidência de *B. oryzae*, fungos manchadores e não manchadores, na redução da transmissão deste patógeno da semente para plântula e promoção do crescimento vegetal.

4. CONCLUSÃO

Os isolados DFs185 (*Pseudomonas synxantha*) e DFs306 (não identificado) foram os tratamentos mais eficientes na redução de *B. oryzae*.

Os mesmos tratamentos reduziram a incidência de fungos manchadores e não manchadores, além de proporcionarem redução da mancha parda em plântulas de arroz (índice de doença).

5. REFERÊNCIAS

BEDENDO, I.P. Doenças do arroz (*Oryza sativa* L.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. **Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997, v.2. p.85-99.

BETTIOL, W. Componentes do controle biológico de doenças de plantas. In: BETTIOL, W. (Ed.) **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1991. p.1-5.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 395p.

CARDOSO, G. **Efeito do potencial de inoculo de *Bipolaris oryzae* em sementes na transmissão para plântulas de arroz**. 61f. 2011. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade). Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2011.

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

COMMARE, R. J. NANDAKUMAR, R.; KANDAM, A.; SURESH, S.; BHARATHI, M.; RAGUCHANDER, T.; SAMIYAPPAN, R. *Pseudomonas fluorescens* based bioformulation for the management of sheath blight disease and leafhopper insect in rice. **Crop Protection**, v.21, p.671-677, 2002.

CONAB- Companhia Nacional de Abastecimento. Disponível em <http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1253&t> Acesso em 06/01/2013.

CORRÊA, B.O.; MOURA, A.B.; DENARDIN, N.D.; SOARES, V.N.; SCHÄFER, J.T.; LUDWIG, J. **Influência da microbiolização de sementes de feijão sobre a transmissão de *Colletotrichum lindemuthianum*** (Saac. e Magn.). *Revista Brasileira de Sementes*, v.30, n.2, p.156-163, 2008.

CORRÊA, C.L. **Sobrevivência de *Bipolaris oryzae* em sementes de arroz armazenadas sob duas condições ambientais**. 36f. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2006.

DE BOER, M.; BOM, P.; KINDT, F.; KEURENTJES, J.J.B.; VAN DER SLUIS, I.; VANLOON, L.C.; BAKKER, P.A.H.M. Control of Fusarium wilt of radish by combining *Pseudomonas putida* strains that have different disease-suppressive mechanisms. **Phytopathology**, v. 93, n.5, p.626 – 632, 2003.

DHINGRA, O. D. Importâncias e perspectivas do tratamento de sementes no Brasil. **Revista Brasileira de Sementes**, v.7, n.1, p.133-138, 1985.

DHINGRA, O. D. Teoria da transmissão de patógenos fúngicos por sementes. In: ZAMBOLIM, L. **Sementes: qualidade fitossanitária**. Viçosa: UFV; DFP. 2005. P. 75-112.

DUNE, C.; MOENNE-LOCCOZ, Y.; McCARTHY, J.; HIGGINS, P.; POEWLL, J.; DOWLING, D. N.; O'GARA, F. Combining proteolytic and phloroglucinol-producing bacteria for improved biocontrol of *Pythium*-mediated damping-off of sugar beet. **Plant Pathology**, v.47, n.3, p. 299-307, 1998.

EMBRAPA- Empresa Brasileira de pesquisa em Agropecuária. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Arroz/ArrozIrigadoBrasil/cap01.htm> Acesso em: 05/01/2013.

FARIAS, C. R. J. **Espécies de *Bipolaris* associadas à helmintosporiose do arroz (*Oryza sativa* L.) no sul do Brasil**. 2007. 104p. Tese (Doutorado) Universidade Federal de Pelotas – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Pelotas.

FARIAS, C. R. J.; PIEROBOM, C. R. Novos fungos em arroz. In: Simpósio Brasileiro de Patologia de Sementes, 9., 2006, Passo Fundo. **Anais do...**Passo Fundo, 2006

FESSEHAIE, A ; WALCOOT, R. R. **Biological Control to Protect Watermelon Blossoms and Seed from Infection by *Acidovorax avenae* subsp.** Citrulli Department of Plant Pathology, 4315 Miller Plant Sciences, The University of Georgia, Athens 30602. 2005

FRANCO, D.F.; RIBEIRO, A.S.; NUNES, C.D.; FERREIRA, E. Fungos associados a sementes de arroz irrigado no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.7, n.3, p.235-236, 2001.

GARSPAR H. K, LAWRENCE, E. D. Adubação com silício: uma alternativa no controle de doenças da cana-de-açúcar e do arroz. **Informações Agronômicas**. Piracicaba. V. 70, p. 1-5. Jun/1995

HERVÁS, A.; LANDA, B.; DATNOFF, L. E. R.; JIMÉNEZDÍAZ, M. Effects of commercial and indigenous microorganisms on *Fusarium* wilt development in chickpea. **Biological Control**, Orlando, v. 13, n. 3, p. 166-176, 1998.

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

KRISHNAMURTHY, K.; GNANMANICKAM, S.S. Biological control of rice blast by *Pseudomonas fluorescens* strain Pf7-14: evaluation of a marker gene and formulations. **Biological Control** v.13, p. 158-165, 1998.

LAZZARETI, E.; BETTIOL, W. Tratamento de sementes de arroz, trigo, feijão e soja com um produto formulado a base de células e de metabólitos de *Bacillus subtilis*. *Scientia Agricola*, Piracicaba, v. 54, p. 89-96, 1997.

LUDWIG, J.; MOURA, A.B. Controle biológico da queima-das-bainhas em arroz pela microbiolização de sementes com bactérias antagonistas. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, p.48-53, 2007.

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

LUDWIG, J.; MOURA, A.B.; SANTOS, A.S.; RIBEIRO, A.S. Biocontrole da manchaparda e da escaudadura em arroz irrigado, pela microbiolização de sementes. **Tropical Plant Pathology**, v.34, n.5, p.322-328, 2009.

LUZ, W. C. Controle biológico de doenças na espermosfera. In: In: BETTIOL, W. **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna: Embrapa-CNPDA. Cap. 3, 1991.p. 25-31.

MALAVOLTA, V. A.; PARISI, J. J. D.; TAKADA, H. M.; MARTINS, M. C. Efeito de diferentes níveis de incidência de *Bipolaris oryzae* em sementes de arroz sobre aspectos fisiológicos, transmissão do patógeno às plântulas e produção. **Summa Phytopathologica**, v.28, n.4, p.336-340, 2002.

Mc KINNEY, H.H. Influence of soil temperature and moisture on infection of seedling by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, v.26, p.195-218, 1923.

MOURA, A. B.; LUDWIG, J.; SCHAFER, J. T.; CORRÊA, B. O. Biocontrole e transmissão de *Gerlachia* spp. E *Bipolaris* spp. de sementes para plântulas de arroz. In: **Prospecção da produção técnico-científica em sementes**. Pelotas: Ed. Universitária UFPEL, p.111, 2008.

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

NUNES, C.D.M.; CARVALHO, F.I.F.; OLIVEIRA, A.C. Prevalência de raças de *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc em arroz irrigado. In: Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado, 5., 2007 **Anais do...** Pelotas, 2007.

OLIVEIRA, A. L. M.; URQUIAGA, S.; BALDANI, J. I. **Processos e mecanismos envolvidos na influência de microrganismos sobre o crescimento vegetal**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, ago. 2003. 40 p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 161).

OU, S.H. **Rice disease**. 2 ed. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1985. 308p

PADGHAM, J.; SIKORA, R. The potential for *Meloidogyne graminicola* biological control in rice under oxic and anoxic soil environments. **Bulletin-OILB/SRPO**, v.29, p.111-116, 2006.

PAULITZ, T. C.; AHMAD, J. S.; BAKER, R. Integration of *Pythium nunn* and *Trichoderma harzianum* isolate T-95 for the biological control of *Pythium* damping-off of cucumber. **Plant Soil**, v.121, p. 243-250. 1990.

ROSALES, A.M.; MEW, T.W. Suppression of *Fusarium moniliforme* in rice by rice associated antagonistic bacteria. **Plant Disease**, v.81, p.49-52, 1997.

SANTOS, E. R.; GOUVEIA, E. R.; MARIANO, R. I. R.; SOUTO-MAIOR, A. M. Controle biológico da murcha-aquosa do melão por compostos bioativos produzidos por *Bacillus* spp. **Summa Phytopathologica**, v.32, n4, p.376-378, 2006.

SILVA, F. de A. S. e AZEVEDO, C. A. V. A New Version of The Assistat-Statistical Assistance Software. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 4, Orlando-FL-USA: **Anais...** Orlando: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2006. p.393-396.

SIVANESAN, A. **Graminicolous species of *Bipolaris*, *Curvularia*, *Drechslera*, *Exserohilum* and their teleomorphs.** CAB-International Mycological Institute. Mycological. Papers, n.158, 1987. 261p.

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

SOUZA JUNIOR, I.T. **Controle biológico de doenças do arroz: ampliação do espectro de ação e promoção de crescimento pelo uso de combinações de rizobactérias eficientes.** 68f. 2010. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade). Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2010.

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

VIDHYASEKARAN, P.; KAMALA, N.; RAMANATHAN, A.; RAJAPPAN, K.; PARANIDHARAN, V.; VELAZHAHAN, R. Induction of systemic resistance by *Pseudomonas fluorescens* Pf1 against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice leaves. **Phytoparasitica** v 29, p.155-166, 2001

VIDHYASEKARAN, P.; RABINDRAN, R.; MUTHAMILAN, M.; NAYAR, K.; RAJAPPAN, K.; SUBRAMANIAN, N.; VASUMATHI, K. Development of a powder formulation of *Pseudomonas fluorescens* for control of rice blast. **Plant Pathology**, v.46, p.291-297, 1997.

WIWATTANAPATAPEE, R.; PENGGOO, A.; KANJANAMANEESATHIAN M.; MATCHAVANICH, W.; NILRATANA, L.; JANTHARANGSRI, A. Floating pellets containing bacterial antagonist for control sheath blight of rice: formulations, viability and bacterial release studies. **Journal of Controlled Release**, v.95, p.455-462, 2004.

ZAMBOLIM, L. **Sementes**: qualidade fitossanitária. Viçosa: UFV; DPF, 2005, 502p.

