

- 55** SELEÇÃO DE MICRORGANISMOS ANTAGÔNICOS A PYRICULARIA ORYZAE CAV. PARA O CONTROLE DA BRUSONE DO ARROZ (ORYZA SATIVA L.) / SELECTION OF ANTAGONISTIC MICROORGANISMS AGAINST PYRICULARIA ORYZAE CAV. FOR CONTROLLING RICE (ORYZA SATIVA L.) BLAST. W. BETTIOL<sup>1</sup> e H. KIMATI<sup>2</sup>,  
<sup>1</sup>EMBRAPA/CNPDA, C.P. 69, 13820 - Jaguariúna/SP. <sup>2</sup>ESALQ/USP, C.P. 9, 13400 , Piracicaba/SP.

Levantamentos de microrganismos, a maioria de solos e várias partes do arroz, efetuados através de isolamento e teste qualitativo de antagonismo in vitro em BDA (batata, dextrose, ágar) evidenciaram a alta frequência de antagonistas a Pyricularia oryzae: 348 de um total de 472 isolados. A maior frequência foi obtida de folhas, seguida de raízes, sementes e solo. Em todas as localidades amostradas foram isolados antagonistas.

Utilizando a técnica de cultura dupla (antagonista vs. P. oryzae) e tendo como parâmetros a porcentagem de inibição do crescimento micelial do patógeno (PIP) e a relação PIP/crescimento do antagonista, dos 348 isolados comparados foram selecionados os 27 mais eficientes, de códigos: AP-3 , AP-12, AP-42, AP-48, AP-49, AP-51, AP-85, AP-91, AP-94, AP-105, AP-114 , AP-115, AP-137, AP-150, AP-165, AP-181, AP-183, AP-203, AP-323, AP-332 , AP-339, AP-365, AP-366, AP-401, AP-420, AP-429 e AP-471.

Para estabelecer a posição sistemática dos 27 isolados selecionados, foram determinadas a morfologia celular, as dimensões celulares, os aspectos das colônias em meio de cultura, o crescimento em diferentes temperaturas , as reações aos métodos de coloração, as reações a meios seletivos e as reações bioquímicas, tendo sido verificado que todos pertencem a ordem Eubacte riales, família Bacillaceae, gênero Bacillus e espécie Bacillus subtilis.

- 56** ISOLATION AND REGENERATION OF PROTOPLASTS FROM TRICHODERMA PSEUDOKONINGII: A BIOCONTROL AGENT OF PLANT PATHOGENS. / ISOLAMENTO E REGENERAÇÃO DE PROTOPLASTOS DE TRICHODERMA PSEUDOKONINGII: UM AGENTE DE BIOCONTROLE DE FITOPATÓGENOS. I.S. Melo, CNPDA/EMBRAPA , Cx. Postal 69, 13820, Jaguariúna, SP. e J.B. Heale, King's College London , University of London, Kensington Campus, UK.

T. pseudokoningii has controlled naturally "dry eye rot" lesions caused by Botrytis cinerea on fallen apple fruit, Rhizoctonia solani and Sclerotinia minor agent of soft rot in lettuce in São Paulo State. Genetic transformation in filamentous fungi normally requires the production of protoplasts.

Mycelium of Trichoderma was incubated with a number of different lytic enzymes and stabilizers to determine their effectiveness in releasing protoplasts. The effect of culture age was also investigated.

The enzyme novozym 234, alone and in combination with cellulase from T. viride (BHD product nº 39074) was successful in releasing protoplasts. Inorganic salts containing 0.6M  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  were most effective as osmotic stabilizer.

Culture age was important in obtaining high protoplasts yield: pre - log phase cultures gave the highest yields. Protoplasts were capable of regeneration on solid media incorporating an osmotic stabilizer. Regeneration frequencies of about 11% were obtained. Observations on regenerating protoplasts showed that protoplasts either produced a germ tube directly, or did so after a period growth by budding. Nuclear staining with Giemsa showed that many protoplasts were multinucleate.