

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA
CURSO DE MESTRADO**

**APLICAÇÃO CONJUNTA DE RIZOBACTÉRIAS E BACTÉRIAS
ENDOFÍTICAS PARA O BIOCONTROLE DO
MAL-DO-PANAMÁ DA BANANEIRA**

LILIANE SANTANA LUQUINE

**CRUZ DAS ALMAS – BA
OUTUBRO – 2012**

**APLICAÇÃO CONJUNTA DE RIZOBACTÉRIAS E BACTÉRIAS
ENDOFÍTICAS PARA O BIOCONTROLE DO
MAL-DO-PANAMÁ DA BANANEIRA**

LILIANE SANTANA LUQUINE

Engenheira Agrônoma

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2010

Dissertação submetida ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e Embrapa Mandioca e Fruticultura, como requisito parcial para a obtenção do Grau de Mestre em Microbiologia Agrícola.

Orientador: Harllen Sandro Alves Silva

Co-Orientador: Élide Barbosa Corrêa

CRUZ DAS ALMAS – BA

OUTUBRO – 2012

FICHA CATALOGRÁFICA

L966 Luquine, Liliane Santana

Aplicação conjunta de rizobactérias e bactérias endofíticas para o biocontrole do Mal-do-Panamá da bananeira / Liliane Santana Luquine. – Cruz das Almas, 2012.
50f. il.; 30 cm.

Orientador: Dr. Harllen Sandro Alves Silva
Co-orientador: Dr^a. Élide Barbosa Corrêa

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Bahia do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, 2012.

1. Banana 2. Mal-do-Panamá. 3. Doença de planta. 4. Murcha vascular I. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia II. Silva, Harllen Sandro Alves. III. Título.

CDD : 632.3

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA
CURSO DE MESTRADO**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
LILIANE SANTANA LUQUINE**

Prof. Dr. Harllen Sandro Alves Silva
Embrapa Mandioca e Fruticultura
(Orientador)

Flávio Henrique Vasconcelos Medeiros
Universidade Federal de Lavras

Dr^a. Carla da Silva Sousa
Universidade Federal do Recôncavo
da Bahia

**CRUZ DAS ALMAS – BA
AGOSTO – 2012**

1. DEDICATÓRIA

A toda a minha família, em especial a minha mãe
Lucidalva, pelo incentivo, dedicação, apoio e amor
incondicional durante toda a minha vida.

2. AGRADECIMENTOS

A DEUS pela vida, pela força e por me conduzir sempre no caminho certo.

A meus pais Valdomiro e Lucidalva, e aos meus irmãos Valmir e Lucinete alicerces em todos os momentos.

Ao meu namorado, José pelo apoio, companheirismo, carinho, compreensão e por estar sempre ao meu lado.

A meu orientador Dr. Harllen, pela ajuda na realização deste trabalho, pela confiança, amizade, e ensinamentos que muito contribuíram para a minha formação profissional.

A Dr^a. Élide, pela disponibilidade em ajudar sempre que precisei.

A Kaliane Araújo, por ter me ajudado nos experimentos, além da amizade.

Ao pessoal do Laboratório de Microbiologia do Solo e Resíduos Orgânicos: Luciano, Rosiane, Emanuelle, Mary e Rodrigo pela convivência e momentos de descontração.

A João Vieira, técnico do Laboratório de Nematologia, pelo grande auxílio, pela amizade, paciência e disposição em ajudar sempre que necessário.

A Keila, Josilda, Juliana, Rosiane, Milene e Verônica pela amizade e palavras de incentivo.

Aos pesquisadores Saulo e Emanuel pela disponibilidade e colaboração para a realização deste trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola da UFRB e Embrapa Mandioca e Fruticultura, pela oportunidade de realização do curso e a CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao pessoal do Laboratório de Práticas Culturais, em especial Sinésio, João Serqueira, Paulo, Teles, Sismil e Bizunga, pela amizade.

A todos os colegas do curso pelo convívio e amizade, e a funcionária Marcia Cristina da Secretaria da Pós-Graduação da UFRB pelo ótimo atendimento.

E a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

Muito Obrigaga!

ÍNDICE

Página

RESUMO

ABSTRACT

INTRODUÇÃO.....	1
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
1. A cultura da banana.....	3
2. Mal-do-Panamá.....	4
3. Bactérias benéficas na agricultura.....	6
4. Controle biológico de fitopatogénos.....	11
MATERIAL E MÉTODOS.....	14
RESULTADOS.....	20
DISCUSSÃO.....	27
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	34
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36

RESUMO

Luquine, L.S. Aplicação conjunta de rizobactérias e bactérias endofíticas para o biocontrole do mal-do-Panamá da bananeira

O Brasil é o quinto maior produtor mundial de banana, com produção em torno de 7,2 milhões de toneladas. Dentre as doenças que acometem a bananeira, o mal-do-Panamá é considerada uma das mais destrutivas, provocando perdas elevadas. A associação de plantas com bactérias benéficas pode promover o biocontrole de doenças, diminuindo o impacto dos agrotóxicos no meio ambiente. Com o objetivo de avaliar a ação conjunta de bactérias rizosféricas e endofíticas quanto a capacidade de atuar com diferentes mecanismos de ação, foram conduzidos ensaios em laboratório para detectar bactérias capazes de produzir compostos voláteis, produzir quitinase e atuar de forma a controlar o *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) em discos de rizoma de bananeira. De um total de 317 isolados bacterianos avaliados, observou-se que oito produzem compostos voláteis e dezenove são quitinolíticos. Das vinte e sete testadas em discos de rizoma, quinze reduziram significativamente a área colonizada pelo fungo. Os isolados selecionados nos testes *in vitro* foram testados em combinação em mudas micropropagadas de bananeira em casa de vegetação. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5x2x2, com cinco combinações de isolados, duas variedades (Maçã e Prata Anã), e duas épocas de aplicação dos tratamentos. Foi possível verificar no ensaio *in vivo* diferença significativa entre os tratamentos e o número de aplicações, nas duas cultivares. Mudanças tratadas com a combinação de bactérias 1 (APC51 + PA05 + APC7), apresentaram redução significativa da severidade da doença quando receberam duas aplicações de tratamento. Essa combinação de isolados proporcionou a redução na severidade do mal-do-Panamá em até 54 % na cultivar Prata Anã e 46 % na cultivar Maçã. Portanto o presente estudo revelou que rizobactérias e bactérias endofíticas quando utilizadas em combinação têm potencial para atuarem no controle de doenças de plantas.

Palavras-chaves: *Musa* spp., murcha vascular, sinergismo.

ABSTRACT

Luquine, L.S. Combined application of rhizobacteria and endophytic bacteria for biocontrol of the fusarium wilt of banana

Brazil is the fifth largest producer of banana, producing around 7.2 million tonnes. Among the diseases affecting banana, mal-do-Panama is considered one of the most destructive, causing heavy losses. The association of plants with bacteria can promote the biocontrol of diseases, reducing the impact of pesticides on the environment. Aiming to evaluate the joint action of rhizospheric and endophytic bacteria as the ability to act with different mechanisms of action, laboratory tests were conducted to detect bacteria able to produce volatile compounds, producing chitinase and act to control *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) in banana rhizome discs. From a total of 317 bacterial isolates evaluated, eight and nineteen produce volatile compounds are chitinolytic. The twenty-seven tested discs rhizome, fifteen significantly reduced the area colonized by the fungus. The selected isolates in vitro tests were tested in combination with micropropagated banana plantlets in the greenhouse. The experimental design was completely randomized in a factorial 5x2x2, with five combinations of isolates, two varieties (Maçã and Prata Anã), and two treatment moments. It was verified in *in vivo* tests significant difference between treatments and the number of applications for both cultivars. Seedlings treated with the combination 1 (PA05 + APC51 + APC7), showed significant reduction in disease severity when given two treatment applications. This combination of isolates yielded a reduction in the severity of the fusarium wilt in up to 54% in Prata Anã cultivar and 46% in Maçã cultivar. Therefore, the present study showed that rhizobacteria and endophytic bacteria when used in combination have the potential to act in controlling doenças plant.

Keywords: *Musa* spp., vascular wilt, synergism.

INTRODUÇÃO

A bananeira, *Musa spp.*, é uma das fruteiras mais consumidas e mais produzidas no Brasil colocando o país em quinto lugar entre os principais produtores mundiais. De acordo com dados da FAO, a produção brasileira em 2009 foi de 7,2 milhões de toneladas, em uma área aproximada de 512 mil hectares. O Nordeste se destaca como principal região produtora, tendo o estado da Bahia como seu maior produtor e segundo maior em nível nacional, perdendo apenas para o estado de São Paulo (IBGE, 2011).

No entanto, a produção de banana pode ser comprometida devido a fatores como incidência de pragas e doenças. As doenças são causadas por fungos, bactérias, vírus e nematoides que provocam perdas consideráveis. Dentre as doenças fúngicas, o mal-do-Panamá causado pelo fungo habitante do solo *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense*, é considerada uma das mais destrutivas, provocando perdas elevadas, sendo fator limitante ao cultivo de variedades apreciadas pelo mercado, como é o caso da banana Maçã.

Estratégias para o controle do mal-do-Panamá incluem o uso de variedades resistentes já que até o momento não existe controle químico. Todavia, o melhoramento genético em bananeira é considerado complexo e demorado, devido às características da cultura. Desta forma, medidas alternativas, como o uso de agentes de controle biológico, devem ser estudadas no sentido de minimizar as perdas provocadas pela doença.

Um grande número de estudos com micro-organismos benéficos, como as rizobactérias e bactérias endofíticas, têm sido realizados com a intenção de melhorar o desempenho de mudas no campo, e que podem ser empregadas para o incremento da produção agrícola, como promotoras do crescimento de plantas e como agentes de biocontrole de doenças.

Nesse sentido, bactérias rizosféricas e endofíticas podem favorecer o desenvolvimento vegetal por meio de vários mecanismos de ação, como produção de substâncias reguladoras do crescimento, aumento na disponibilização de nutrientes na rizosfera, bem como pela supressão de fitopatógenos neste ambiente. A supressão de patógenos pode ocorrer pela produção de sideróforos, antibióticos, competição, seja ela por nichos ecológicos

ou por espaço e nutrientes, predatismo ou parasitismo e indução de resistência (LUGTENBER e KAMILOVA, 2009). Outros importantes mecanismos de supressão de patógenos por rizobactérias são a produção de enzimas líticas tais como quitinases e β -1,3-glucanases, que degradam a quitina e o glucano presentes na parede celular de células fungicas, a produção de ácido cianídrico (HCN) e a degradação de toxinas produzidas pelos patógenos (RAMAMOORTHY et al., 2001).

Neste trabalho serão abordados, na forma de uma breve revisão bibliográfica, aspectos gerais e econômicos da cultura da bananeira, características gerais do *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, e o potencial de uso de bactérias como agentes de biocontrole. O trabalho apresentado no capítulo 1 baseou-se na hipótese que rizobactérias e bactérias endofíticas de bananeira serem capazes de reduzir a incidência e a severidade do mal-do-Panamá, quando aplicadas individualmente ou em combinação. Diante deste contexto, 317 isolados bacterianos pertencentes à coleção do Laboratório de Microbiologia do Solo e Resíduos Orgânicos da Embrapa Mandioca e Fruticultura, oriundos de plantas saudáveis de bananeira foram testados *in vitro* para o biocontrole de *F. oxysporum* f. sp. *cubense*. Os isolados mais promissores foram avaliados posteriormente em um ensaio de biocontrole *in vivo* com mudas micropropagadas de bananeira das cultivares Maçã e Prata Anã.

REVISÃO DE LITERATURA

1 - A cultura da bananeira

A bananeira (*Musa* spp.), encontra-se classificada botanicamente na classe das Liliopsida (Monocotiledôneas), subclasse Zingiberidae, ordem Scitaminales, Família Musaceae. A família Musaceae compreende três subfamílias: Strelitzoideae, Helicinoideae e Musoideae e esta última pertencem os gêneros *Ensete* e *Musa*. O gênero *Musa* engloba o grupo das bananeiras com frutos comestíveis (SIMMONDS, 1960). Segundo Borges e Souza (2004), é uma planta herbácea, apresenta caule subterrâneo (rizoma), sistema radicular fasciculado, pseudocaule formado por bainhas foliares, terminando em uma copa de folhas compridas e largas e o número de frutos que produz depende da variedade.

A bananeira tem origem na Ásia, sendo posteriormente disseminada para várias partes do mundo, com destaque para países de clima tropical e subtropical, onde encontrou condições favoráveis ao seu desenvolvimento (NELSON et al., 2006).

A banana é um alimento rico em vitaminas A, B e C, minerais, como cálcio, potássio e ferro (VIEIRA, 2009). O fruto é muito apreciado tanto pelas características de sabor, aroma e facilidade de consumo *in natura* quanto pela sua versatilidade em termos de utilização (cozida, frita, doces, tortas e sorvetes) (DONATO, 2006).

O Brasil em 2009 produziu 7,2 milhões de toneladas de bananas, ocupando o quinto lugar no ranking mundial, atrás de Índia, Filipinas, China e Equador (FAO, 2011). O Nordeste brasileiro representou 37,3% dessa produção, tendo o estado da Bahia como seu maior produtor (40,2%) e segundo maior em nível nacional (15,3%), perdendo apenas para o estado de São Paulo (18,5%) (IBGE, 2011).

A bananicultura possui elevada importância social e econômica. Na região Nordeste do Brasil, é uma das principais explorações agrícolas entre as fruteiras, assumindo importância fundamental por seu valor na alimentação, na fixação de mão-de-obra no meio rural e por gerar divisas para o País (GOMES et al., 2004). Na Bahia a produção de banana está concentrada na agricultura de base familiar,

que representa 60 % dos produtores rurais, na faixa dos 50 ha, garantindo emprego e renda, gerando aproximadamente, 14 mil empregos diretos e 20 mil indiretos (NOTÍCIAS DA BAHIA, 2008).

Em todo o Brasil são encontradas condições edáficas favoráveis para o cultivo da banana (BORGES & SOUZA, 2004) desde a faixa litorânea até os planaltos do interior, o que deixa o país entre os maiores produtores mundiais (NOMURA e FUZITANI, 2005). Porém, a produção ainda sofre perdas consideráveis devido à deficiência nutricional, manejo da cultura inadequado e a ocorrência de pragas e doenças.

Em muitos estados brasileiros, depois da laranja, a bananeira é a fruteira mais cultivada, com expressiva quantidade produzida e área plantada (VIEIRA, 2009). Entre as variedades mais cultivadas estão: Maçã, Pacovan, Prata Anã, Terra (mercado interno) e Nanica, Nanicão e Grande Naine (exportação) (SILVA et al., 2004).

As cultivares do tipo Prata são responsáveis por aproximadamente 60% da área cultivada com bananeira no Brasil. Apresentam normalmente porte alto e frutos de sabor doce a suavemente ácido, à exceção da 'Prata-Anã' ('Enxerto'), mutante da 'Branca' (LICHTENBERG et al., 1998), que possui porte médio.

A banana 'Maçã' é a preferida pela maioria dos consumidores em razão de seu paladar, obtendo maiores preços no mercado. Todavia, devido a sua alta suscetibilidade ao mal-do-Panamá, está sendo dizimada de norte a sul do país (SILVA et al., 1999).

2 - Mal-do-Panamá

Dentre as doenças provocadas por fungos, o mal-do-Panamá é considerada uma das mais destrutivas que acomete a bananeira, provocando perdas elevadas, e sendo fator limitante ao cultivo de variedades apreciadas pelo mercado, como a Maçã (altamente suscetível), Prata Comum e Prata Anã (suscetível) (CORDEIRO et al., 2004).

O mal-do-Panamá é causado pelo fungo habitante do solo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (E. F. Smith) Snyder e Hansen (1953), descrito pela primeira vez em 1874, na Austrália. Entretanto, tornou-se uma doença de importância após sua detecção no Panamá em 1904, e durante muitos anos foi a

principal doença da bananicultura, sendo responsável pela destruição de grandes plantações comerciais em muitos países do mundo (FERNANDES et al., 2006). No Brasil, foi inicialmente verificada em 1930 no município de Piracicaba (São Paulo) e nos dias atuais pode ser encontrada em todas as regiões do mundo que produzem a banana (NOGUEIRA, 2002).

O mal-do-Panamá, quando ocorre em cultivares altamente suscetíveis, como a banana 'Maçã', provoca perdas de até 100 % na produção. Já na cultivar 'Prata', que apresenta menor suscetibilidade, a incidência do mal-do-Panamá, geralmente, situa-se, em torno de 20 % (CORDEIRO, 2000).

As espécies do gênero *Fusarium* pertencem à classe dos Deuteromicetos, cuja forma perfeita ainda não é conhecida, são heterogêneas, cosmopolitas, encontrados em regiões subtropicais e tropicais com ampla distribuição geográfica, apresenta espécies não-patogênicas e patogênicas, entre elas o *F. oxysporum* f. sp. *ubense* agente causal do mal-do-Panamá (FOURIE et al., 2009). *Fusarium* spp. é caracterizado pelo crescimento rápido em meio de cultura apresentando colônias com coloração que varia da cor violeta à púrpura com micélio aéreo e difuso (DOMSCH, 1980).

A penetração do *F. oxysporum* f. sp. *ubense*, ocorre através das raízes da planta, seguindo pelo xilema. Os microconídios invadem os tecidos condutores, bloqueando o movimento da água no sistema vascular da planta. Os esporos germinam e continuam sua expansão pelo xilema (JONES, 2000).

As plantas infectadas exibem externamente um amarelecimento progressivo das folhas mais velhas para as mais novas, começando pelos bordos do limbo foliar e evoluindo no sentido da nervura principal. Em seguida, as folhas murçam e quebram junto ao pseudocaule dando aparência de um guarda-chuva fechado. Verificam-se ainda descoloração vascular e rachaduras no pseudocaule (KUPPER, 2005; CORDEIRO et al., 2004). Internamente, pode-se observar coloração pardo-avermelhada provocada pela presença do patógeno nos vasos, que se inicia na área periférica em direção ao centro da bainha (CORDEIRO et al., 2004). Segundo Coelho (2009), os cachos das bananeiras atacadas, independentemente de sua idade, tem seu desenvolvimento paralisado e as bananas entram em fase de desidratação e apodrecimento.

O principal meio de disseminação do fungo ocorre via mudas infectadas. Em nível local, essa pode também ocorrer pela água de irrigação, de drenagem e

de inundação, implementos agrícolas, homens e animais. Deve-se incluir, também, a disseminação pelo vento e pelo contato de raízes com rizomas, pseudocaule e raízes infectadas, dada a intensa produção de inóculo no rizoplano e em áreas circunvizinhas (CORDEIRO et al., 2005).

Estratégias para o controle do mal-do-Panamá incluem o uso de variedades resistentes, a depender do mercado consumidor e do destino da produção. Todavia, o melhoramento genético em bananeira é considerado complexo e demorado, devido às características da cultura. O controle químico não é eficiente (SILVA et al., 2004a). Desta forma, medidas alternativas, como o controle biológico, devem ser estudadas no sentido de minimizar as perdas provocadas pela doença.

Foi constatado o controle por hiperparasitismo por uma linhagem de *Burkholderia cepacia*, isolada de aspargos, colonizou os espaços intercelulares de raízes de banana, promovendo o controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (PAN et al., 1997). Estes autores observaram que, *in vitro*, esta bactéria colonizava a superfície da hifa do patógeno, causando protuberâncias, que resultaram em deformação do micélio e conseqüentemente redução do potencial patogênico do fungo.

Lian et al. (2009) observaram que bactérias endofíticas isoladas de plantas de bananeira sadias, reduziram em 67 % sintomas do mal-do-Panamá e promoveram crescimento de mudas de bananeira micropropagadas.

3 – Bactérias benéficas na agricultura

Em associação com as plantas, os micro-organismos podem ter efeito deletério, nulo ou benéfico. Entre os micro-organismos cultiváveis, de acordo com Romeiro (2007) estima-se que uma pequena parcela possa ter algum efeito benéfico quando associada à planta. Segundo Chen et al. (1996), não mais do que 2 % do total de micro-organismos existentes, considerando micro-organismos rizosféricos, endofíticos e epifíticos são benéficos.

A associação entre rizobactérias e raízes de plantas, varia com a capacidade de mobilidade da bactéria, adesão à raiz e taxa de liberação dos exsudatos pelas raízes (LUGTENBERG e KAMILOVA, 2009). De acordo com a localização nas raízes as bactérias podem ser classificadas em, rizobactérias -

vivem próximas ou colonizando a rizosfera e bactérias endofíticas – residentes de espaços intercelulares e/ou dentro de células (GRAY e SMITH, 2005). As rizobactérias possuem sistemas eficazes de captação de compostos orgânicos eliminados pela raiz, enquanto, as endofíticas tem acesso direto aos compostos orgânicos presentes no apoplasto (TILAK et al., 2005).

As rizobactérias promotoras do crescimento de plantas ou PGPR (plant growth-promoting rhizobacteria) constituem um grupo muito amplo de micro-organismos, uma vez que, sob essa designação, incluem-se quaisquer bactérias que vivam na rizosfera e afetem beneficemente o crescimento de uma ou mais espécies vegetais (FREITAS, 2007). Este grupo de bactérias é considerado importante, pois parte destes micro-organismos é capaz de promover o controle biológico de agentes causadores de enfermidades em plantas, sendo investigados em todo o mundo com vistas à redução do uso de agrotóxicos na agricultura (ROMEIRO & GARCIA, 2009).

Essas bactérias têm sido estudadas em uma extensa variedade de plantas de interesse agrícola, tais como, banana (PAIXÃO, 2008), citros (ARAUJO et al., 2001; AMORIM & MELO, 2002), milho (ARAUJO et al., 2000), batata (REITER et al., 2002), trigo e sorgo (ZINNIEL et al., 2002), feijão (SILVEIRA et al., 1995), cacau (SILVA, 2007); tomate (SILVA et al., 2004b, SOARES et al.; 2010), entre outras.

Silva et al. (2004b) selecionaram 28 isolados que exibiram atividade de indução de resistência sistêmica, caracterizada pela separação espacial entre rizobactérias e patógenos, de um total de 500 isolados testados para biocontrole de *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. No experimento de Luz (2001) PGPRs reduziram drasticamente a contaminação com fungos patogênicos presentes nas sementes de trigo, sendo a antibiose o mecanismo mais significativo neste experimento.

No trabalho realizado por Ladeira (2004) avaliou-se o potencial de 11 isolados de rizobactérias no controle da mancha foliar, com resultado positivo de todos os isolados para o teste *in vitro*, destacando-se para o teste *in vivo* o isolado FL2. Amorim e Melo, (2002) testaram o potencial antagônico de 33 rizobactérias contra *Phytophthora parasítica* e *Phytophthora cytophthora*, verificando que todos os isolados proporcionaram redução da podridão radicular do citrus. Idris et al.

(2007) utilizaram rizobactérias para o controle da podridão da raiz em sorgo, incitada por *Fusarium oxysporum*, via tratamento do solo.

A supressão de patógenos por rizobactérias pode ocorrer pela produção de sideróforos, enzimas, antibióticos, competição, seja ela por nichos ecológicos ou por espaço e nutrientes, predatismo ou parasitismo e indução de resistência (LUGTENBER e KAMILOVA, 2009). Tais mecanismos de biocontrole influenciam na capacidade de colonização, sobrevivência e, conseqüentemente, na atividade do patógeno.

A combinação de diferentes mecanismos de ação pela aplicação de rizobactérias via combinação de isolados pode potencializar o efeito benéfico e, conseqüentemente, garantir o desenvolvimento da planta (RAUPACH e KLOEPPER, 1998).

A colonização de raízes de plantas por rizobactérias em microcolônias ocorre à medida que as pontas das raízes crescem e os exsudatos são eliminados, caracterizando um fator fundamental na interação benéfica entre a bactéria e a planta hospedeira (BENIZRI et al., 2001). Este processo de colonização e estabelecimento sofre influência de fatores bióticos (características do hospedeiro, presença de patógeno e outros micro-organismos associados à planta) e abióticos (umidade, temperatura, pH, textura do solo, luminosidade) (SILVEIRA, 2001).

Rizobactérias são micro-organismos capazes de atuarem na promoção de crescimento (HARTHMANN et al., 2010) e no controle biológico de doenças de plantas (LUZ, 2001). Gêneros como *Azospirillum*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* e *Serratia*, já foram descritos por serem capazes de exercer algum efeito benéfico no crescimento das plantas (TILAK et al., 2005).

Os efeitos benéficos exercidos pelas rizobactérias promotoras do crescimento de plantas podem ser conseguidos de forma direta pelo estímulo ao crescimento da planta, principalmente na ausência dos micro-organismos patogênicos, ou de forma indireta, pela proteção microbiológica (BERNARDES, 2006).

A promoção direta do crescimento das plantas pela ação de rizobactérias ocorre por meio da produção de ácido cianídrico, reguladores de crescimento vegetal, enzimas, mineralização de nutrientes, solubilização de fosfatos, fixação

do nitrogênio e aumento da absorção pelas raízes, entre outros. A promoção indireta do crescimento ocorre quando as rizobactérias atuam como agentes de controle biológico pela produção de ácido cianídrico, bacteriocinas e antibióticos, competição por espaço, produção de sideróforos e competição por outros nutrientes, parasitismo, indução de resistência e proteção cruzada (MARIANO et al., 2004). Apesar dessa divisão, o agente de controle biológico pode atuar por mais de um mecanismo aumentando assim suas chances de sucesso (BETTIOL, 1991).

São considerados micro-organismos endofíticos, incluindo bactérias e fungos, aqueles que colonizam os tecidos internos das plantas por todo seu ciclo de vida ou parte dele, e sem causar danos aparentes (WILSON, 1995). No início dos anos setenta, micro-organismos endofíticos eram considerados neutros, não causando danos ou benefícios às plantas, mas sabe-se, atualmente, que esses micro-organismos em muitos casos desempenham um papel importante na proteção de plantas contra predadores e/ou patógenos (AZEVEDO et al., 2000).

Diversos estudos têm demonstrado que micro-organismos endofíticos possuem atividade supressiva a nematoides, fungos, bactérias e insetos-praga, impactando positivamente na sanidade das plantas (BAKCMAN e SIKORA, 2008; RYAN et al., 2008).

Benchimol et al. (2000) testaram o efeito de bactérias endofíticas isoladas de plântulas de pimenta-do-reino na redução da mortalidade causada por fusariose, enfermidade provocada pelo fungo *Fusarium solani*, e detectaram que a espécie *Methylobacterium radiotolerans* controlou o patógeno, causando redução significativa do número de plantas mortas (BENCHIMOL et al., 2000).

No trabalho de Shiomi et al. (2006), foram selecionados isolados de bactérias endofíticas de folhas e ramos de cafeeiro com potencial para o controle biológico da ferrugem do cafeeiro, causada pelo fungo *Hemileia vastatrix*. Alguns isolados foram eficientes em controlar a ferrugem do cafeeiro, embora outros tenham aumentado a severidade da doença.

Silva et al. (2008) selecionaram isolados de bactérias endofíticas de diferentes espécies e gêneros obtidos de folhas e haste de tomateiro e pimentão para o controle da pinta bacteriana (*Pseudomonas syringae*) do tomateiro; as espécies bacterianas mais eficazes na redução da severidade da pinta bacteriana foram *Acinetobacter johnsonii*, *Bacillus pumilus*, *Paenibacillus macerans*, *Bacillus*

sphaericus, *B. amyloliquefaciens* e *Staphylococcus aureus*. Mais de 50% dos isolados eficazes na redução da severidade foram da espécie *Bacillus pumilus*.

Lin et al. (2009) demonstraram a eficiência de bactérias endofíticas *Bacillus subtilis* no controle da murcha de *Verticillium* na cultura da berinjela em casa de vegetação.

Silva et al. (2006) avaliaram bactérias endofíticas quanto a capacidade de reduzir a severidade da ferrugem do cafeeiro utilizando testes em discos de folha. Constataram que o isolado 3F (*Brevibacillus choshinensis*) como potencial indutor de resistência reduzindo a severidade da doença em mais de 85 % quando inoculado 72 horas antes da inoculação do patógeno *Hemileia vastatrix*.

Os micro-organismos endofíticos são originados de comunidades epifíticas da filosfera e da rizosfera, podendo ser encontrados não apenas nas partes aéreas dos vegetais, mas também em raízes que são sua principal porta de entrada. Uma vez estabelecidos dentro dos tecidos, micro-organismos endofíticos podem ser transmitidos pela propagação vegetativa da planta por sucessivas gerações (DONG et al., 1994). O modo de dispersão das bactérias endofíticas pode ser via sementes, propagação vegetativa, partes mortas da planta ou insetos (BALDANI, 1997).

Os micro-organismos endofíticos penetram na planta, inicialmente através da raiz; entretanto, partes aéreas das plantas, como as flores, caules e cotilédones podem também ser portas de entrada. Uma vez no interior da planta essas bactérias podem se localizar no ponto de entrada ou se dispersar de forma sistêmica (ZINNIEL et al., 2002). Bactérias endofíticas parecem penetrar ativamente nos tecidos de plantas com o auxílio de enzimas hidrolíticas como celulasas e pectinases, além de aberturas naturais ou provocadas por injúrias (QUADT-HALLMANN et al., 1997).

O fato de essas bactérias serem capazes de colonizar os tecidos internos das plantas lhes conferem vantagens sobre outros micro-organismos por poderem sobreviver em um ambiente mais uniforme onde são menos afetadas pela temperatura, potencial osmótico e radiação ultravioleta (LODEWYCKX et al., 2002).

As bactérias endofíticas podem ser classificadas em: passageiras, oportunistas e competentes. As passageiras habitam o solo e eventualmente conseguem entrar na planta por feridas, por exemplo. Ao entrar pela raiz ficam

restritas ao córtex. As oportunistas são bactérias que estabelecem uma troca de sinais químicos com a planta e geralmente colonizam o exterior da raiz. Por uma oportunidade, podem entrar na raiz, ficando geralmente restritas ao córtex assim como as passageiras. As competentes são aquelas que respondem aos sinais químicos das raízes, se adaptando muito bem ao ambiente interno da planta. Conseguem colonizar, além do córtex, outros tecidos da raiz, tecidos vasculares, podendo colonizar toda a planta (HARDOIM et al., 2008).

Além das bactérias endofíticas serem potenciais agentes de biocontrole, por apresentarem um nicho ecológico similar a fitopatógenos (RYAN, 2008) e muitas produzirem compostos antimicrobianos (DOBBELAERE et al., 2003), podem trazer muitos outros benefícios às plantas: síntese e liberação de análogos de reguladores de crescimento como ácido indolacético (AIA), citocininas e giberelinas (BHATTACHARJEE et al., 2008), incremento na tomada de nutrientes, aumento de resistência a estresse hídrico e osmótico e indução de resistência sistêmica na planta (DOBBELAERE et al., 2003). Na maioria dos gêneros de bactérias endofíticas, a produção de auxinas, etileno e citocininas, o aumento da absorção de água e nutrientes bem como a supressão de micro-organismos deletérios são responsáveis pela promoção de crescimento da planta (MARIANO et al., 2004).

Bactérias habitantes da rizosfera também acarretam esses benefícios para a planta. No entanto, habitar o interior do tecido vegetal é mais interessante para a bactéria por ela estar menos vulnerável a competir com outros micro-organismos do solo e estar protegida de muitos fatores desfavoráveis (bióticos e abióticos) (BHATTACHARJEE et al., 2008).

4 - Controle biológico de fitopatógenos

É cada vez maior e crescente a busca por alimentos saudáveis, livres de resíduos de agrotóxicos. Nesse sentido o interesse em utilizar micro-organismos como agentes de biocontrole na agricultura têm aumentado significativamente, devido a uma maior conscientização sobre impactos ambientais, resíduos em alimentos e manejo de recursos naturais, representando uma excelente alternativa para a redução do uso de insumos químicos (SOUZA, 2001).

O controle biológico de fitopatógenos é a total ou a parcial redução da sua população por outros organismos, e ocorre rotineiramente na natureza (AGRIOS, 2004). Segundo Bettioli (1991), a doença na planta é o resultado da interação entre o hospedeiro, o patógeno, e diversos não patógenos que habitam o sítio de infecção, apresentando potencial para limitar a atividade do patógeno ou aumentar a resistência do hospedeiro. Para este autor, os componentes do controle biológico são o patógeno, o hospedeiro e os antagonistas, sob a influência do ambiente, todos interagindo num sistema biológico.

Cook & Baker (1993) definem controle biológico como a redução da intensidade de inóculo ou das atividades determinantes da doença realizadas por meio de um ou mais organismos que não o homem. Nesta definição, segundo Junqueira e Gasparotto (1991), as atividades determinantes da doença envolvem crescimento, infectividade, agressividade, virulência e outros atributos do patógeno ou processos que determinam a infecção, o desenvolvimento dos sintomas e a reprodução do patógeno.

O termo organismos, como cita Cook e Baker, inclui indivíduos ou populações avirulentas ou hipovirulentas dentro das espécies patogênicas, bem como outros antagonistas aos patógenos. Este termo é utilizado para designar agentes biológicos com potencial para interferir nos processos vitais dos fitopatógenos, devendo estes estar adaptados ecologicamente ao mesmo tecido das plantas ocupado pelos patógenos, mas sendo não patogênicos às mesmas (BETTIOLI & GHINI, 1995). Melo & Azevedo (1998) definem o controle biológico como sendo o controle de um micro-organismo por outro micro-organismo.

O controle biológico visa manter, por meio de certas práticas, um equilíbrio no agroecossistema, de modo que o hospedeiro, na presença do patógeno, não sofra danos significativos, em função da ação controladora dos organismos não patogênicos do sistema (BETTIOLI, 1991). Assim sendo, este método de controle inclui práticas culturais que promovem um ambiente favorável aos antagonistas e a resistência da planta hospedeira ou ambos; o melhoramento da planta para aumentar a resistência ao patógeno ou adequar o hospedeiro para as atividades antagônicas de micro-organismos; a introdução em massa de antagonistas, linhagens não patogênicas ou outros organismos benéficos (CARDOSO, 1978).

O conhecimento dos mecanismos envolvidos no controle biológico é de fundamental importância para aumentar as vantagens competitivas no ambiente.

Os principais mecanismos das interações antagonísticas entre micro-organismos incluem a competição, a antibiose e o micoparasitismo, além da indução de resistência do hospedeiro (MOORE-LANDECKER, 1996; TRONSMO & HJELJORD, 1998).

Algumas rizobactérias são capazes de induzir resistência sistêmica em plantas. A ISR (Induced Systemic Resistance) pode ser definida como um processo de defesa ativa da planta, em que esta utiliza múltiplos mecanismos induzidos sistemicamente por rizobactérias e que se apresenta eficiente contra uma variedade de patógenos de plantas (LUZ, 1996). Alguns dos mecanismos propostos para indução de resistência sistêmica em plantas por rizobactérias incluem vários processos fisiológicos, tais como: aumento da produção das proteínas solúveis em ácido (ZDOR & ANDERSON, 1992), acúmulo de fitoalexinas (VAN PEER et al., 1991), lignificação (HOFFLAND & BIK, 1993), produção de ácido salicílico em baixa concentração de ferro (LEEMAN et al., 1995).

Outros importantes mecanismos de supressão de patógenos por rizobactérias são a produção de enzimas líticas que atuam na lise de células fúngicas, como quitinases e β -1,3-glucanases, que degradam a quitina e o glucano presentes nas paredes das células fúngicas e a degradação de toxinas produzidas pelos patógenos (BERG et al., 2000; RAMAMOORTHY et al., 2001).

Espécies de bactérias endofíticas também foram relatadas como importantes fontes de agentes de biocontrole (KAVINO et al., 2007). A utilização de bactérias endofíticas como agentes de controle biológico deve-se à capacidade de colonizarem ambientes similares aos de patógenos de plantas (HALLMANN, et al., 1997). Bactérias endofíticas podem atuar como antagonistas aos fitopatógenos por meio de antibiose, competição por nutrientes, indução de resistência sistêmica, produção de enzimas hidrolíticas e exclusão de nicho (ROSENBLUETH & MARTINEZ-ROMERO, 2006).

Bactérias endofíticas podem interferir indiretamente no crescimento de fitopatógenos via indução de resistência sistêmica. Contudo, existem poucos estudos relacionando indução de resistência sistêmica e bactérias endofíticas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram testados 317 isolados, sendo 99 rizobactérias e 218 bactérias endofíticas obtidas de fragmentos de raízes, pseudocaule e folhas de bananeira, apresentando bom estado fitossanitário, das cultivares 'Prata Anã' e 'Prata Comum' do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura, localizada no município de Cruz das Almas, Bahia. Esses isolados fazem parte da coleção do Laboratório de Microbiologia do Solo e Resíduos Orgânicos - Embrapa Mandioca e Fruticultura.

1. Produção de compostos voláteis inibidores de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense* por bactérias

Verificou-se a produção, pelos antagonistas, de compostos voláteis inibidores do crescimento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense* (Foc) pelo método baseado em Bharat et al. (1980), que consistiu em utilizar placas sobrepostas, espalhando-se 100 µL de cada suspensão bacteriana sobre o meio Nutriente Agar (NA) em placa de Petri, de forma a produzir uma camada de células na superfície do meio. Após o crescimento das bactérias a 25 °C, foi depositado um disco do micélio do patógeno com 7 mm de diâmetro sobre o meio no fundo de outra placa contendo meio BDA. As tampas foram removidas e as duas placas unidas, seladas com filme de PVC e incubadas em temperatura de 25 °C. O ensaio foi realizado em triplicata. Placas contendo apenas o Foc foram utilizadas como controle.

As placas foram incubadas a 25 °C, até que o micélio do fungo na placa controle atingisse o crescimento máximo. Todas as placas foram fotografadas com câmera digital, para mensuração do crescimento radial do micélio, através do software ImageTool v.3.0 (UTHSCSA, University of Texas Health Science Center, San Antonio).

Foram considerados apenas os isolados bacterianos que reduziram a área de crescimento micelial do patógeno nas três repetições.

2. Produção de quitinase por bactérias antagonistas a *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

Para detecção da produção de quitinase, foi utilizado a metodologia descrita por Renwick et al. (1991), onde os isolados bacterianos foram multiplicados em meio de sais minerais ágar (Tuite, 1969), suplementado com quitina coloidal, como única fonte de carbono. Posteriormente, os isolados bacterianos foram semeadas em pontos distintos da superfície do meio e incubadas a 25 °C durante 10 dias, sendo utilizadas quatro repetições para cada tratamento. Após o período de incubação, foi analisada a produção de quitinase constatada pela observação de um halo transparente ao redor da colônia contrastando com o restante do meio com aspecto leitoso.

3. Antagonismo de bactérias a *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* em discos de rizoma de bananeira

Neste ensaio foram usadas as bactérias selecionadas nos testes de produção de compostos voláteis e produção de quitinase. Rizomas originados de plantas de bananeira da variedade 'Maçã' apresentado bom aspecto fitossanitário, crescidas sob condições de campo, foram escalpelados e cortados em discos de 7 cm de diâmetro e 1 cm de espessura. Esses passaram pelo tratamento com álcool (50%) por 1 minuto, seguido de hipoclorito de sódio (2%) por 1 minuto, em seguida foram lavados 3 vezes com água destilada esterilizada. Os discos desinfestados foram colocados em caixas plásticas (11 x 11 x 3,5 cm), contendo papel de filtro umedecido com água esterilizada.

Todo o procedimento foi realizado em câmara de fluxo laminar. Inicialmente os discos receberam aplicação de 200 µL da suspensão bacteriana. Para o preparo da suspensão as culturas haviam sido incubadas por 24 h a 25 °C, e decorrido este intervalo as colônias foram ressuspensas em água destilada esterilizada. A concentração de cada suspensão foi ajustada para $OD_{540} = 0,5$ o que correspondia a 10^9 ufc.mL⁻¹. Após 48 h da aplicação dos isolados bacterianos realizou-se a inoculação utilizando-se discos (0,7 cm) de micélio de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* com esporos mais BDA. O fungo utilizado para inoculação foi cultivado em BDA a temperatura de 25 °C, durante 10 dias. Para

este ensaio o delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro repetições por antagonista, sendo que cada repetição era composta por 3 discos. Como controle utilizaram-se discos não tratados e discos inoculados com *Foc*. Observações diárias foram realizadas para verificar o crescimento micelial e presença de lesões no rizoma. Após 12 dias de crescimento do fungo a 25 °C, o tecido foi fotografado com câmera digital e a área lesionada mensurada com o auxílio do software ImageTool v.3.0 (UTHSCSA, University of Texas Health Science Center, San Antonio). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Skott-Knott ($\alpha = 5\%$). As análises foram realizadas com o auxílio do programa estatístico SISVAR.

4. Antibiose recíproca entre os isolados selecionados

Os estudos relativos à produção de substâncias antimicrobianas entre os isolados bacterianos objetivam a possibilidade do uso de combinações de isolados. O teste usado foi o da dupla camada, adaptado de Romeiro (2007), onde os isolados foram semeados por ponto em placas de Petri contendo meio NA, utilizando alça de platina para depositar uma gota de cada isolado em pontos equidistantes na superfície do meio. As placas foram então incubadas a 25 °C por 24 h. Adicionou-se, com pipeta esterilizada, 1 mL de clorofórmio na tampa de cada placa por 20 minutos com as mesmas invertidas. Em seguida, as placas foram entreabertas em ambiente asséptico durante 30 minutos para que os resíduos de clorofórmio fossem eliminados. Adicionou-se 0,1 mL de suspensão aquosa de células do isolado a 5,0 mL de meio NA semi-sólido homogeneizando em seguida. Com as placas na posição normal, o meio semi-sólido foi vertido sobre a superfície das placas com as colônias já mortas por clorofórmio. Estas placas foram incubadas a 25 °C e examinadas após 1, 2 e 5 dias para verificar a presença de halos de inibição.

5. Biocontrole de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (*Foc*) por bactérias em casa de vegetação

Foram empregados os isolados selecionados nas etapas anteriores em combinações de isolados, positivos para produção de compostos voláteis (PA05,

PA28, PA29, PC05 e BRZ09), produção de quitinase (APC7, BF18, PC50, APC5 e BPC2), e no ensaio em discos de rizoma (PA40, AF9, BF19, BF31 e APC51). Também foram acrescentados isolados antagônicos ao Foc (106A, 262C e PC23) selecionados por Cardoso et al. (2010), em ensaios *in vitro* de antagonismo direto. As combinações entre os isolados compatíveis resultaram nos tratamentos: T1 (APC51 + PA05 + APC7), T2 (PA40 + PA28 + PC50), T3 (BF31 + BRZ09 + BF18 + PC23), T4 (BF19 + PA29 + BPC2 + 116A) e T5 (AF9 + PC08 + APC5 + 262C).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5x2x2, com cinco tratamentos (combinações de isolados), duas variedades (Maçã e Prata Anã), e duas épocas de aplicação dos tratamentos (no momento do transplântio das mudas para tubetes plásticos e após 30 dias da aplicação juntamente com a inoculação do Foc). Utilizaram-se seis repetições por tratamento e uma muda por repetição. Mudas não tratadas e mudas inoculadas com o Foc compuseram o controle.

5.1. Preparo da suspensão bacteriana

As culturas foram incubadas a 25 °C por 24 h em meio NA e as colônias ressuspendidas em água destilada esterilizada. A concentração de cada suspensão foi ajustada em espectrofotômetro para $OD_{540} = 0,5$, o que correspondia a 10^9 ufc mL⁻¹.

5.2. Preparo do inóculo de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

Para o preparo do inóculo, colônias de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, (raça 1) do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura, foram cultivadas durante sete dias em meio de cultura BDA (Batata-dextrose-água), incubadas a temperatura de 25 °C. Decorrido este período, adicionou-se água destilada às placas e com um pincel fino procedeu-se a remoção dos conídios, obtendo-se uma suspensão conidial. Para a remoção de fragmentos de micélio, a suspensão foi filtrada utilizando-se duas camadas de gaze. Por meio de hemacitômetro tipo Neubauer, a concentração da suspensão conidial foi ajustada para 10^3 conídios.mL⁻¹.

5.3. Tratamento das mudas de bananeira com as combinações de isolados bacterianos

Foram utilizadas mudas de bananeira das cultivares 'Maçã' e 'Prata Anã' micropropagadas, na fase de aclimatação, cultivadas em substrato composto por uma parte de substrato vegetal Plantmax estaca: 1 parte de pó de fibra de coco, adicionados de 0,2% da fórmula PG MIX e 0,2% da fórmula OSMOCOTE, produzidas na CAMPO – Companhia de Promoção Agrícola, localizada em Cruz das Almas. As mudas foram transferidas para tubetes plásticos (19 cm de altura x 5,4 cm de largura), contendo o mesmo substrato já descrito, onde receberam a aplicação das suspensões bacterianas previamente preparadas. A dispensa dos isolados bacterianos combinados foi realizada pela aplicação de 40 mL da suspensão (10^9 ufc.mL⁻¹), no substrato de cada muda. As mudas foram mantidas em casa de vegetação.

5.4. Transplântio para vasos e inoculação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* (Foc)

Após 30 dias do tratamento das mudas com as bactérias foi realizada a inoculação com Foc. As mudas foram retiradas do substrato de cultivo e suas raízes imersas na suspensão do inóculo contendo 10^3 conídios.mL⁻¹, por 20 minutos. Em seguida, foram transplantadas para vasos com capacidade para 2,0 litros, contendo solo previamente autoclavado. Após inoculação com o Foc metade das mudas (6 repetições) receberam uma segunda aplicação dos combinados (40 mL da suspensão a 10^9 ufc.mL⁻¹). As mudas foram mantidas em casa de vegetação até a avaliação.

O índice de infecção (ID) foi calculado vinte e cinco dias após a inoculação do fungo, tendo como base a avaliação da severidade de lesões no rizoma, por adaptação da fórmula proposta por Cirulli e Alexander (1966), atribuindo as notas de 1 a 6, de acordo com a escala de avaliação de sintomas proposta por Cordeiro e Dantas (1993) em que 1= tecido vascular completamente claro, sem descoloração vascular; 2= pontos isolados de descoloração no tecido vascular; 3= descoloração em 1/3 do tecido vascular; 4= descoloração entre 1/3 e 2/3 do tecido

vascular; 5= descolaração maior que 2/3 do tecido vascular; 6= descolaração total do tecido vascular (Figura1).

O índice de infecção foi calculado pela fórmula:

$ID = 100 [(nota \times n^{\circ} \text{ de mudas com a mesma nota}) / (nota \text{ máxima} \times n^{\circ} \text{ de repeti\c{c}oes})]$.

Os dados foram submetidos à análise de variância não-paramétrica de Kruskal-Wallis. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Student-Newman-Keuls a 5% de significância. As análises foram realizadas com o auxílio do programa estatístico Bioestat.

Figura 1 – Escala de severidade do mal-do-Panamá no rizoma



(CORDEIRO et al., 1993)

RESULTADOS

1. Produção de compostos voláteis inibidores de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* por bactérias

Dos 317 isolados bacterianos avaliados, apenas 8 isolados inibiram o crescimento micelial do *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, em todas as repetições. Foram eles: PA05, PA28, PA29, PA40, PC08, BF31, BF35 e BRZ09 (Tabela 1). Na Figura 1, é possível verificar a redução do crescimento do fungo quando comparado ao controle, indicativo de que as bactérias são produtoras de compostos voláteis.

Tabela 1- Isolados bacterianos selecionados *in vitro* como produtores de compostos voláteis inibidores do crescimento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* e seus respectivos locais de origem.

Isolados positivos	Cultivar	Origem
PA05	Prata Anã	Rizosfera
PA28	Prata Anã	Rizosfera
PA29	Prata Anã	Rizosfera
PA40	Prata Comum	Rizosfera
PC08	Prata Comum	Rizosfera
BF31	Prata Comum	Área foliar
BF35	Prata Comum	Área foliar
BRZ09	Prata Comum	Raiz

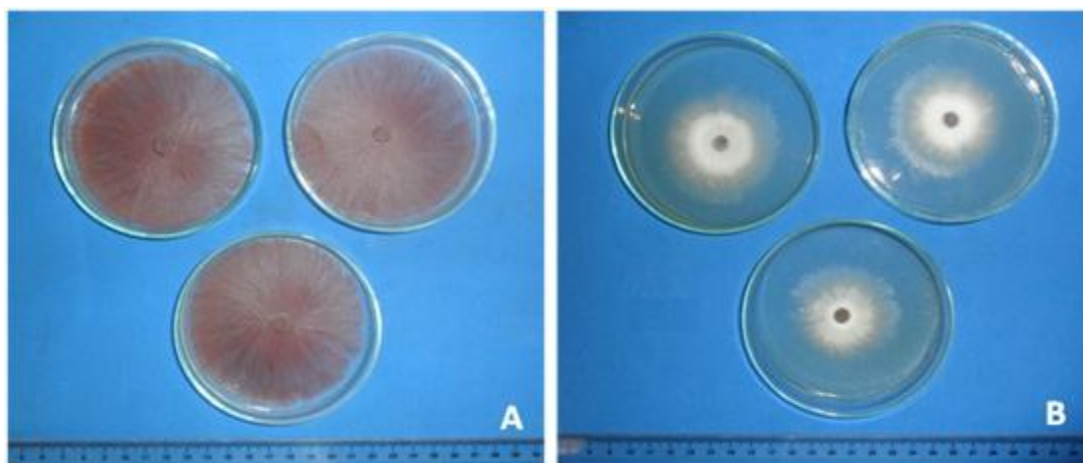


Figura 1. Teste para produção de compostos voláteis pelos isolados bacterianos testados: (A) Controle, (B) Isolado PC 08, produtor de compostos voláteis inibidores de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.

2. Produção de quitinase por bactérias antagonistas a *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

Em relação à produção de quitinase, observou-se que os isolados PA40, PC21, PC50, PC52, PC86, APC5, APC7, APC10, APC12, APC18, APC51, AF9, ARZ12, BF18, BPC2, BPC17, BPC21, BPC24 e BF19 apresentaram formação de halos transparentes circundando as colônias, indicando serem capazes de degradar a quitina (Figura 2). Dentre esses isolados, seis são rizobactérias e treze são bactérias endofíticas (Tabela 2).

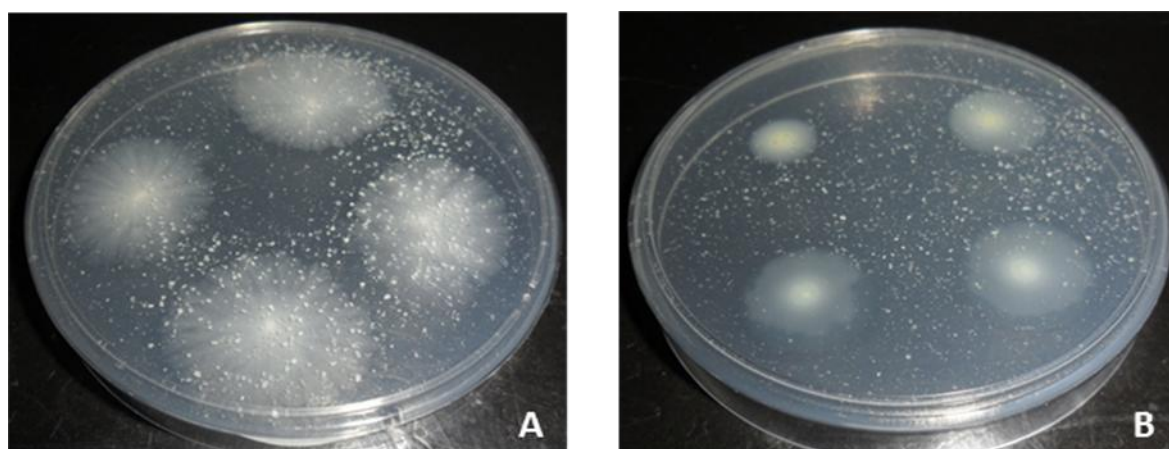


Figura 2. Teste para produção de quitinase pelos isolados testados: (A) Negativo para produção de quitinase, (B) Positivo para produção de quitinase.

Tabela 2- Isolados bacterianos selecionados *in vitro* como produtores de quitinase e seus respectivos locais de origem.

Isolados positivos	Cultivar	Origem
PC21	Prata Comum	Rizosfera
PC90	Prata Comum	Rizosfera
PA40	Prata Anã	Rizosfera
PC86	Prata Comum	Rizosfera
PC52	Prata Comum	Rizosfera
PC50	Prata Comum	Rizosfera
APC12	Prata Anã	Pseudocaule
APC18	Prata Anã	Pseudocaule
APC7	Prata Anã	Pseudocaule
APC10	Prata Anã	Pseudocaule
APC5	Prata Anã	Pseudocaule
AF9	Prata Anã	Pseudocaule
ARZ12	Prata Anã	Raiz
BF18	Prata Comum	Pseudocaule
BPC21	Prata Comum	Pseudocaule
BF19	Prata Comum	Área Foliar
BPC24	Prata Comum	Pseudocaule
APC51	Prata Anã	Pseudocaule
BPC2	Prata Comum	Pseudocaule

3. Antagonismo de bactérias a *Fusarium oxysporum* f. sp. *cabense* em discos de rizoma de bananeira

Dos 27 isolados avaliados 15 reduziram significativamente a área colonizada por Foc, em diferentes faixas. Dois isolados se destacaram, restringindo a faixa de colonização dos discos pelo patógeno em até 400 mm² (Figura 3).

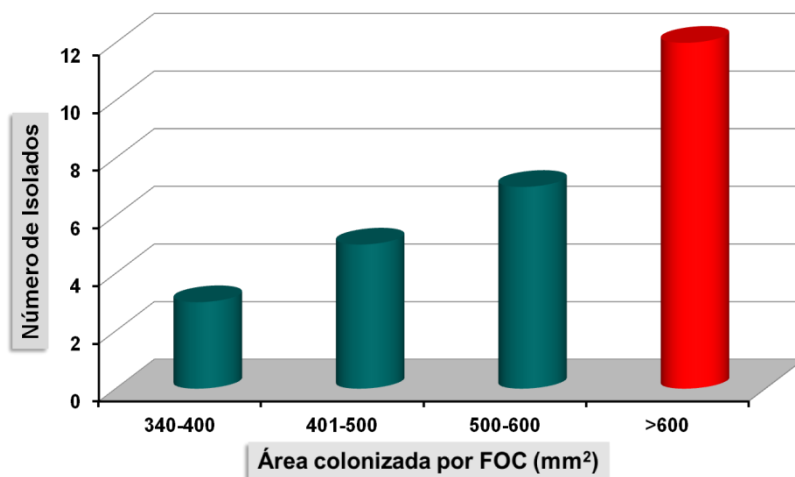


Figura 3. Número de isolados antagonistas a *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* por faixas de área colonizada em discos de rizoma de bananeira.

Os isolados BF19 (343,30 mm²) e APC51 (344,05 mm²), foram o de melhor desempenho, proporcionando uma redução de quase 60% da área colonizada por Foc quando comparados ao controle (845,41 mm²) (Figura 4).

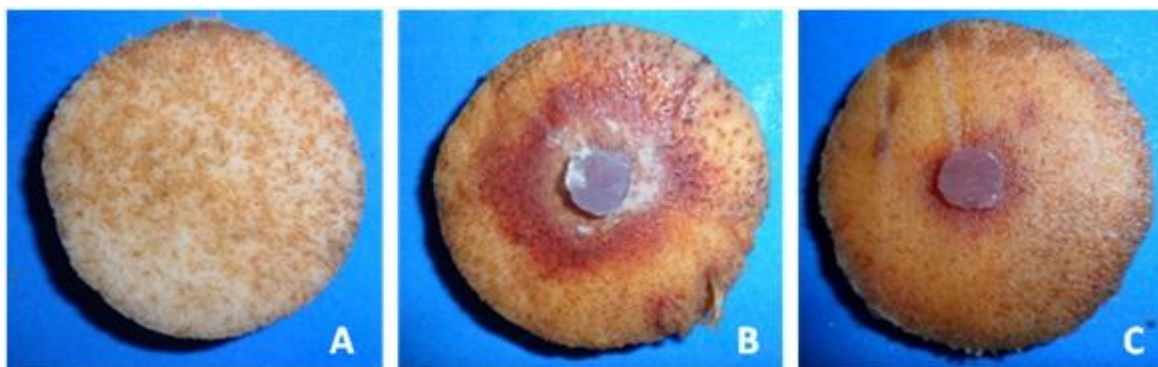


Figura 4. Colonização de discos de rizoma de bananeira por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc). (A) Disco não tratado e não inoculado; (B) Disco apenas inoculado com Foc; (C) Disco tratado com o isolado BF19 e inoculado com Foc.

4. Antibiose recíproca entre os isolados selecionados

Foi observada a formação de halo de inibição ao redor das colônias evidenciando inibição do crescimento entre alguns dos isolados avaliados (Figura 5), havendo então restrição na formação de combinados.

Os isolados que apresentaram incompatibilidade entre si foram: PC 50 + 359; BPC 2 + PC 23; APC 7 + PC 23; PA 05 + PC 23; BF 31 + 262 C; BF 18 + 262 C; PA 28 + 262 C; APC 51 + 106 A e PC 50 + 106 A.

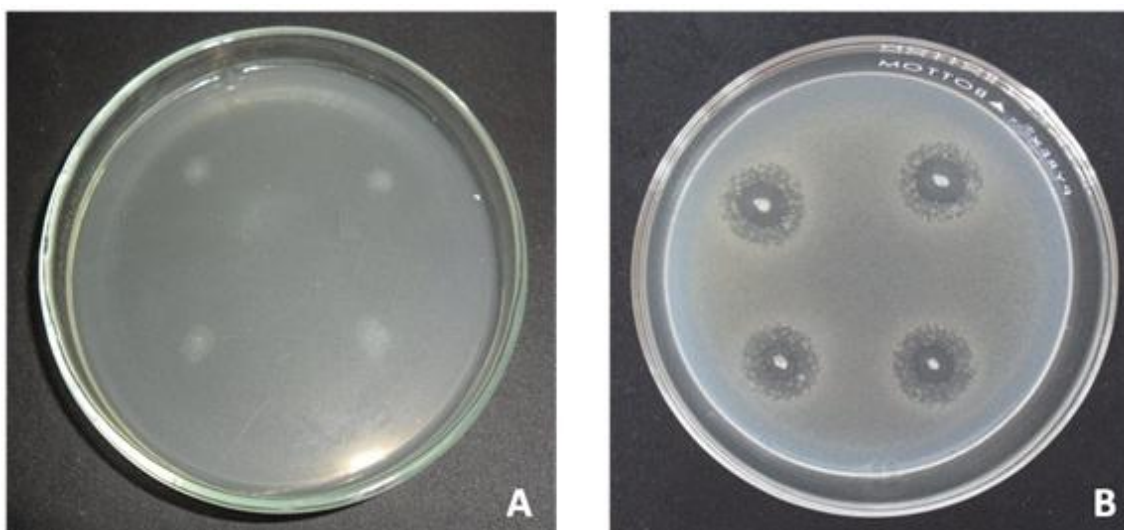


Figura 5. Compatibilidade (A) e incompatibilidade (B) entre isolados bacterianos, avaliados no teste de antibiose recíproca.

5. Biocontrole de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* (Foc) por bactérias em casa de vegetação

Foi possível verificar no ensaio em casa de vegetação diferença significativa entre os tratamentos e o número de aplicações, nas duas cultivares avaliadas (Tabela 3 e 4).

Mudas da cultivar Prata Anã apresentaram redução significativa da severidade da doença quando receberam duas aplicações do tratamento (Tabela 3). Os tratamentos 2 e 3 reduziram significativamente o índice de doença (ID) apenas quando foram aplicados uma vez, sendo que o tratamento 3 aumentou o ID quando as mudas receberam 2 aplicações. Não houve diferença significativa

entre as mudas tratadas com as combinações 4 e 5 e as mudas controle com relação ao ID (Tabela 3).

Tabela 3. Índice de doença em mudas de bananeira da cultivar Prata Anã tratadas com combinações de isolados bacterianos rizosfericos e endofíticos, inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.

Tratamento	Número de aplicações		H
	1	2	
1	100,00 bB	45,85 aA	9,78**
2	53,73 aA	53,73 aA	-
3	53,73 aA	71,73 aA	24,14 ^{ns}
4	100,00 bA	100,00 bA	-
5	100,00 bA	100,00 bA	-
Controle	100,00 bA	100,00 bA	
H	27,38**	24,70**	

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls a 5% de significância. ** e * significativo a 1 e 5%, respectivamente, pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis. ^{ns} não significativo.

Não houve diferença estatística entre os tratamentos quando as mudas da cultivar Maçã receberam apenas uma aplicação de tratamento. Contudo, quando as mudas receberam duas aplicações, os tratamentos 1, 4 e 5 reduziram significativamente o ID quando comparados aos demais e também quando comparados com as mudas que receberam apenas uma aplicação. A severidade da doença foi maior na cultivar Maçã, onde todas as plantas tiveram índice de doença igual 100 % quando receberam apenas uma aplicação de tratamento (Tabela 4).

Tabela 4. Índice de doença em mudas de bananeira da cultivar Maçã tratadas com combinações de isolados bacterianos rizosfericos e endofíticos, inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.

Tratamento	Número de aplicações		H
	1	2	
1	100,00 aB	53,73 aA	9,90**
2	100,00 aA	100,00 bA	-
3	100,00 aA	100,00 bA	-
4	100,00 aB	71,73 aA	10,29**
5	100,00 aB	53,73 aA	9,90**
Controle	100,00 aA	100,00 bA	
H	-	24,98**	

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls a 5% de significância. ** e * significativo a 1 e 5%, respectivamente, pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis. ^{ns} não significativo.

DISCUSSÃO

A partir dos resultados apresentados, foi possível inferir que, embora as bactérias componham o grupo de micro-organismos que se encontra em grande diversidade e quantidade na rizosfera, apenas uma pequena parcela destes micro-organismos tem papel na supressão de fitopatógenos. Segundo Chen et al., (1996) entre os micro-organismos cultiváveis, não mais do que 2 %, do total de micro-organismos existentes no solo, apresentam efeito benéfico para as plantas e de acordo com Romeiro (2007) entre os encontrados na rizosfera apenas uma pequena percentagem de micro-organismos pode possuir mecanismos benéficos de atuação nas plantas.

Este fato foi observado neste trabalho, pois, dos 317 isolados testados contra o Foc, 5,66 % foram eficientes quando testado *in vitro* e apenas 3,14 % foram capazes de reduzir a severidade da doença em até 55 % quando testados *in vivo*.

Com a intenção de formar combinações de bactérias que pudessem atuar com diferentes mecanismos de ação, ensaios em laboratório foram conduzidos para detectar bactérias capazes de produzir compostos voláteis, produzir quitinase, bem como atuar no controle do *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* (Foc) em discos de rizoma de bananeira.

Dos isolados selecionados como produtores de compostos voláteis, o isolado PC 08 proporcionou 61,4% de redução do crescimento micelial do Foc em relação ao controle.

A amônia e o ácido cianídrico (HCN) são os principais compostos voláteis produzidos por rizobactérias que podem atuar no controle biológico de fitopatógenos. Vários isolados de bactérias do gênero *Pseudomonas* produzem HCN na rizosfera, inibindo o crescimento de vários organismos, como observado no sistema de controle biológico *P. fluorescens* x *Thielaviopsis* sp. em fumo (DÉFAGO et al., 1990).

Macagnan et al. (2009) testaram cinco actinomicetos selecionados para o biocontrole da vassoura-de-bruxa do cacaueteiro, todos os cinco foram capazes de produzir compostos voláteis e inibir a germinação de basidiósporos de *Crinipellis pernissiosa*.

Wheatley (2002) estudou interações mediadas por voláteis entre uma ampla gama de fungos e bactérias de solo. Os resultados demonstraram que os isolados fúngicos tiveram o crescimento micelial estimulado em até 40% ou inibido em até 60%, dependendo do isolado bacteriano.

Chuankun et al. (2004) relataram que a supressividade de solos a fungos estava fortemente correlacionada a presença de compostos orgânicos voláteis. Zou et al. (2007) também correlacionam a atividade supressiva de solos à presença de compostos orgânicos voláteis de ação fungistática produzidos por bactérias, em especial as do gênero *Bacillus*.

Trabalhos recentes revelam que *B. subtilis* é capaz de produzir substâncias voláteis com atividade antifúngica. Porém, muitas dessas substâncias voláteis produzidas por este micro-organismo são ainda desconhecidas (KAI et al. 2007).

Embora no ensaio para verificar a produção de compostos voláteis, durante o pareamento, não tenha ocorrido sobreposição da colônia das bactérias antagonistas sobre o fitopatógeno, observou-se clareamento do micélio do Foc, na região de influência dos possíveis metabólitos produzidos pelas bactérias. Logo, os compostos produzidos pelas bactérias afetou de alguma forma o Foc.

Dos isolados bacterianos testados, dezenove apresentaram atividade quitinolítica. A quitinase, produzidas por alguns micro-organismos, degrada a quitina pela quebra das ligações glicosídicas β , -1,4 existentes nos polímeros de N-acetilglucosamina (COHEN-KUPIEC, 1998). Após ser hidrolizada a quitina pode ser absorvida e metabolizada, servindo como substrato e fonte de energia para os antagonistas. Assim a produção de quitinase pelos isolados bacterianos pode ser um mecanismo utilizado no biocontrole, principalmente de fungos fitopatogênicos, considerando que a parede celular desses micro-organismos é composta basicamente por polissacarídeos como a quitina e glucana (GOODAY, 1990; GOODAY et al., 1992).

A utilização de partes vegetais destacadas, como o exemplo dos discos de rizoma de bananeira, nos testes de seleção de agentes de biocontrole é uma estratégia que apresenta vantagens como redução de custo, espaço físico e tempo, além de resultados mais consistentes por se aproximar das condições reais. Entretanto, os testes de seleção de agentes de biocontrole realizados em condições assépticas não traduzem as condições reais encontradas em campo e a seleção feita em casa de vegetação é inviável, pois demanda muito espaço.

Aliada a esta técnica a utilização de imagens digitais para avaliação dos resultados, mostrou-se uma ferramenta muito precisa, por possui maior confiabilidade em função do armazenamento das informações e possibilitar a verificação de erro, quando assim for necessário, diferente da avaliação tradicional por escala, onde pode haver influência do avaliador.

Apesar deste teste ter sido realizados em discos de rizoma, o que é uma tentativa de aproximação da realidade, é também de extrema importância considerar as relações ecológicas entre os micro-organismos presentes no solo, pois as interações ecológicas não ocorrem isoladamente, mas mutuamente e com grande complexidade, diferente das condições simuladas em laboratório (BETTIOL & GHINI, 1995). O controle biológico de doenças de plantas deve ser considerado uma íntima interação do patógeno com o hospedeiro, influenciada pelo ambiente (BACKER & COOK, 1974).

Os estudos relativos à produção de substâncias antimicrobianas entre as bactérias selecionadas objetivaram estudar a possibilidade do uso de combinações de isolados. Mesmo havendo formação de halo de inibição entre algumas bactérias em estudo, foi possível formar combinações entre isolados compatíveis. De acordo com Mafia et al. (2007) a aplicação de isolados rizobacterianos combinados representa uma importante estratégia de otimização da ação sinérgica dos isolados compatíveis.

Um exemplo do efeito sinérgico da combinação de isolados foi observado no patossistema *Rhizoctonia solani* – arroz, em que o uso de isolados de *Streptomyces* spp. e *Bacillus cereus* Frankland & Frankland, produtores de quitinase e combinados com isolados de *P. fluorescens* e *Burkholderia cepacia* Palleroni & Holmes, produtores de antibióticos, ocasionou maior supressão do patógeno (Sung & Chung, 1997). No entanto em certas situações, a combinação de diferentes isolados pode não apresentar efeito sinérgico. Em outro exemplo a aplicação de uma combinação de dois isolados quitinolíticos (*Paenibacillus* sp. 300 e *Streptomyces* sp. 385), na proporção 1:1 ou 1:4, foi efetiva no controle da murcha de *Fusarium* do pepino, causada por *F. oxysporum* Schlecht. f. sp. *cucumerinum* Owen e produziram resultado superior ao obtido quando os isolados foram aplicados individualmente (SINGH et al., 1999).

Dos dezoito isolados bacterianos selecionados *in vitro* por serem quitinolíticos, produtores de compostos voláteis e reduzirem o crescimento

micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, três deles, usados em combinação no tratamento 1, APC51, APC7 e PA05, reduziram a severidade do mal-do-Panamá em mudas de bananeira em até 54 % na cultivar Prata anã e 46 % na cultivar Maçã, quando foram aplicados duas vezes nas mudas.

A aplicação das bactérias 30 dias antes da inoculação do Foc favoreceu o estabelecimento das bactérias que proporcionaram um efeito preventivo à planta contra o patógeno. Quando aplicadas uma segunda vez, no momento da inoculação do Foc ocorreu ainda competição por espaço e nutriente.

Competição é a interação entre dois ou mais organismos empenhados na mesma ação por alimento (nutrientes), espaço e oxigênio (BETTIOL, 1991). A competição por espaço se dá, principalmente, pela ocupação dos sítios de colonização e a competição por nutrientes, pelos três elementos essenciais para a maioria dos patógenos: carbono, nitrogênio e ferro (PAULITZ, 1990). A competição por nutrientes fornecidos por raízes e exsudados de sementes ocorre na maior parte das interações entre bactérias e patógenos nas raízes, sendo responsável, pelo menos, por um pequeno coeficiente no biocontrole, observado pela introdução de bactérias (WELLER, 1988).

Em experimento realizado por Weber et al. (2007) utilizando mudas de bananeira 'Maçã' tratadas com bactérias endofíticas houve redução considerável da severidade de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.

No biocontrole do mal-do-Panamá, os resultados demonstram que a dispensa dos antagonistas foi eficiente. Segundo Romeiro e Garcia (2009), bactérias benéficas, quando dispensadas em plantas são capazes de promover o controle biológico de enfermidades por antagonismo direto, por indução de resistência ou por ambos os mecanismos. Entre as mais comuns e que atuam de forma efetiva, estão as bactérias do gênero *Bacillus* e *Pseudomonas* (SILVEIRA et al., 2004).

Neste estudo a endófito APC 51, se destacou no teste em disco de rizoma e também no ensaio em casa de vegetação, demonstrando ser um potencial agente de controle biológico. Este isolado, conforme Ramos et al., (2011) é pertencente ao gênero *Bacillus*, corroborando com que está escrito na literatura. Em trabalho realizado por Lian et al. (2008) bactérias endofíticas *Bacillus* sp. e *Pseudomonas* sp. isoladas de plantas de banana foram eficientes antagonistas contra o mal-do-Panamá. Espécies de *Bacillus* têm sido amplamente testadas no

controle biológico uma vez que produzem endósporos, o que facilita a formulação dos produtos para aplicação comercial. Para o controle de doenças, produtos como Companion, EcoGuard, HiStick N/T, Kodiak, Rhizo-Plus, Serenade, Subtilex e YieldShield, a base de *Bacillus*, são registrados para uso agrícola nos Estados Unidos (MARIANO et al., 2004).

Bactérias antagônicas, como as do gênero *Bacillus*, de modo geral agem significativamente por antibiose e, ocasionalmente, por parasitismo ou competição. Micro-organismos que agem por antibiose, geralmente têm amplo espectro de ação, de forma que na inibição dos fungos a produção de substâncias tóxicas é mais efetiva do que qualquer outro mecanismo de ação envolvido (KUPPER et al., 2003).

Isolados de *B. subtilis* produzem uma grande variedade de metabolitos antifúngicos, entre os quais se podem ser citados a surfactina, iturina e fengicina. Embora estruturalmente semelhantes, surfactinas, iturinas e fengicinas são diferentes em alguns aspectos biológicos em relação a sua atividade. Como exemplo, iturinas e fengicinas exibem uma forte atividade antifúngica e são inibitórios para o crescimento de uma ampla gama de fitopatógenos. No tocante a surfactinas, as mesmas não são fungitóxicas, mas exercem algum efeito sinérgico antifúngico, quando em companhia da iturina A (MAGET-DANA et al., 1992).

Os isolados BF19, PA29, BPC2, 116A, AF9, PC08, APC5 e 262C selecionados *in vitro* por apresentarem potencial de controle do fungo Foc não controlaram a doença em mudas de bananeira 'Prata Anã'. E os isolados PA40, PA28, PC50, BF31, BRZ09, BF18 e PC23 não foram capazes de controlar na cultivar Maçã.

Apesar desses isolados não terem apresentado resultados satisfatórios de controle do mal-do-Panamá, no ensaio *in vivo*, não podemos desconsiderar a eficiência desses isolados no controle desta doença da bananeira, considerando que foi avaliada apenas uma condição de temperatura, umidade, concentração de inóculo, forma de inoculação e um tipo de solo. Nas condições em que o experimento foi conduzido em casa de vegetação, o patógeno foi aplicado numa concentração de inóculo muito elevada, o que não permitiu que alguns isolados bacterianos demonstrassem seu potencial antagônico.

Diversos trabalhos têm demonstrado que agentes de controle biológico de doenças de plantas não respondem de maneira semelhante aos resultados obtidos em laboratório, devido às grandes variações nas condições ambientais. O uso combinado de micro-organismos para o controle biológico pode se constituir numa boa estratégia para amenizar os efeitos do ambiente. Isso devido a diferentes condições ambientais em que cada micro-organismo sobrevive e atua, diminuindo assim os efeitos das características do ambiente no inoculante, aumentando sua eficiência com a compensação de um micro-organismo na ausência de ação do outro, além também de relação sinérgicas que podem torná-los mais eficientes (GUETSKY et al. 2001).

Mafia et al., (2007), também observaram que os isolados C11b e C2 mesmo qualificado como compatível para o teste de antibiograma, não promoverem incrementos quando comparados a testemunha, provavelmente pela falta de capacidade de estabelecimento na rizosfera. Este resultado pode ter sido afetado pela disponibilidade de nutrientes, o que de acordo com Romeiro (2007) interfere na capacidade de sobrevivência e competitividade dos micro-organismos, prejudicando o desenvolvimento de atividade dos isolados tanto para promoção de crescimento como para biocontrole do fungo.

O tratamento T3 que corresponde à combinação dos isolados BF31 + BRZ09 + BF18 + PC23, apesar de ter reduzido o ID apenas com uma aplicação, fez com que a planta ficasse mais sensível a doença e elevou o nível de severidade do mal-do-Panamá quando as mudas receberam duas aplicações, na cultivar Prata Anã. Weller (1988) e Rosenblueth & Martínez-Romero (2006) citam como fatores responsáveis pelo desempenho inconsistente de um biocontrolador a perda da competitividade ecológica devido à alteração de alguma característica da bactéria, a variação na colonização pelo antagonista, e a interferência de fatores bióticos e abióticos. Esses resultados podem ter sofrido influência do meio já que o solo de cultivo das mudas de bananeira estava desprovido de elementos nutritivos, o que como citado anteriormente influencia negativamente na capacidade de sobrevivência e competitividade das bactérias, prejudicando a ação biocontroladora destas bactérias.

Além disso, a relação entre a bactéria e seu hospedeiro é variável podendo, por diversos fatores, deixar de ser simbiótica ou mutualística, se tornando saprofítica ou oportunística, nesse caso fitopatogênica, conforme revela

(STROBEL e DAIAY, 2003). Segundo Musson (1994), alguns organismos endofíticos podem se comportar como não patogênicos em um hospedeiro e patogênicos em outros. Cameron (1970) observou que isolados de *Pseudomonas* spp. obtidos de tecidos sadios de cerejeira revelaram-se, posteriormente, fitopatogênicos.

A análise da severidade da doença mostrou os isolados combinados APC51 + PA05 + APC7, que compunham o tratamento 1, como os melhores para o biocontrole do mal-do-Panamá em mudas de bananeira, que receberam duas aplicações de tratamento, 30 dias antes e no momento da inoculação do Foc. Esta combinação se mostrou satisfatória tanto para cultivar Maçã quanto para a Prata anã, provavelmente devido ao melhor estabelecimento na rizosfera dos isolados, resultando efeito benéfico. A eficiência *in vivo* destes combinados ocorreu pela provável capacidade destes microrganismos em sobreviver em equilíbrio dinâmico na natureza. A comunidade microbiana na rizosfera é representada por populações diversificadas e numerosas em estado de equilíbrio dinâmico, refletindo o ambiente físico, químico, biológico e suas relações (DANTAS et al., 2009).

Os resultados apresentados nesse trabalho ratificam que é possível a utilização de agentes de biocontrole como método alternativo-complementar de controle de doença de plantas, constituindo uma importante ferramenta de interesse agrícola. Portanto, esforços devem ser direcionados para ampliar a informações sobre o comportamento ecológico desses antagonistas, de modo a se desenvolver ferramentas de aplicação e manutenção destes no solo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A cultura da bananeira apresenta importante papel econômico e social no país. Na Bahia a produção de banana envolve principalmente a agricultura familiar, contribuindo na renda e sobrevivência dessas famílias. Contudo sua produção e produtividades é afetada pela ocorrência do mal-do-Panamá, doença limitante ao cultivo de variedades apreciadas pelos consumidores, que causa grandes prejuízos nas regiões produtoras de banana, devido a dificuldade de controle.

A sociedade requer a utilização de estratégias que permitam o aumento da produção de alimentos sem acarretar prejuízos ao meio ambiente e a saúde humana. Uma alternativa para atingir esse objetivo consiste no uso de bactérias com potencial para o controle biológico de pragas e doenças.

Neste estudo, as bactérias rizosféricas e endofíticas selecionadas nos testes *in vitro* demonstraram ter potencial para o controle do Foc, pois foram capazes de reduzir a severidade do mal-do-Panamá em mudas micropropagadas de banana 'Maçã,' que é altamente suscetível ao fungo e também em mudas de banana 'Prata anã' (suscetível), em condições de casa de vegetação.

Estes resultados abrem novos caminhos para pesquisas em controle biológico do Foc no sentido de elucidar quais mecanismos estariam envolvidos na supressão do fungo nesta condição, intencionando um melhor entendimento das relações entre as bactérias, o patógeno e a planta hospedeira, para que haja, no futuro, a possibilidade de desenvolvimento de produtos biológicos capazes de exercer o controle deste fitopatógeno em condições de campo.

Trabalhos futuros deverão ser conduzidos para identificação das bactérias ao nível de espécie.

O método de inoculação do patógeno em discos de rizoma de bananeira colonizados por antagonistas, seguidos de análise digital das imagens para quantificação da área lesionada pelo fungo, podem ser empregados como ferramenta auxiliar em trabalhos visando a seleção de agentes de controle biológico a Foc.

Trabalhos futuros deverão ser conduzidos em diferentes condições edafoclimáticas para avaliar o comportamento dos isolados bacterianos

selecionados, permitindo identificar com precisão isolados promissores. Além disso, testes no campo também devem ser conduzidos para avaliar a sobrevivência do agente de biocontrole e a capacidade em diminuir a população do patógeno no solo, com conseqüente diminuição de inóculo e do desenvolvimento da doença.

O fato da produção de mudas micropropagadas ser realizada pela empresa CAMPO, localizada dentro da Embrapa Mandioca e Fruticultura, facilitará a continuidade deste estudo com relação à possibilidade do emprego de potenciais agentes de controle biológico nos processos de produção de mudas de bananeira para fins de plantios comerciais.

A utilização de agentes biológicos constitui numa alternativa ecológica aos agroquímicos, além de ser uma estratégia significativa contra patógenos do solo para os quais as medidas de controle são restritas. Assim, os resultados destes trabalhos demonstraram que as bactérias tem grande potencial para o biocontrole do mal-do-Panamá.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, G.N. How pathogens attack plants. In: AGRIOS, G.N. (Ed.). Plant Pathology. 5th ed. Elsevier Academic Press, 2004, p.177-203.
- AMORIM, E. P. R.; MELO, I. S. Ação antagônica de rizobactérias contra *Phytophthora parasitica* e *P. citrophthora* e seu efeito no desenvolvimento de plântulas de citrus. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.24, n.2, p.565-568, 2002.
- ARAÚJO, W. L.; MACCHERONI JUNIOR, W.; AGUIAR-VILDOSO, C.I.; BARROSO, P. A. V.; SARIDAKIS, H. O.; AZEVEDO, J. L. Variability and interactions between endophytic bacteria and fungi isolated from leaf tissues of citrus rootstocks. **Canadian Journal of Microbiology**, v.47, p.229-236, 2001.
- ARAÚJO, J. M.; SILVA, A. C.; AZEVEDO, J. L. Isolation of endophytic actinomycetes from roots and leaves of maize (*Zea mays* L.) **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.43, p.447-451, 2000.
- AZEVEDO, J.L.; MACCHERONI JR., W.; PEREIRA, J.O.; ARAÚJO, W.L. Endophytic microorganisms: A review on insect control and recent advantages on tropical plants. **Environmental Biotechnology**, v. 3, n.1, 31 p., 2000.
- BACKMAN, P.A.; SIKORA, R. Endophytes: An emerging tool for biological control. **Biological Control**. v.46,p.1-3, 2008.
- BAKER. K. F.; COOK, J. **Biological control of plant pathogens**. San Francisco. American Phytopathological Society. 1974.
- BALDANI J. I.; CARUSO, L.; BALDANI, V. L. D.; GOI, S. R.; DÖBEREINER, J.. Recent advances in BNF with non-legume plants. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 29, n. 5/6, p. 911-922, 1997.

BENCHIMOL, R. L.; CHU, E. Y.; YUITIMUTO, R.; DIAS-FILHO, M. B. Controle da fusariose em plantas de pimenta-do-reino com bactérias endofíticas: sobrevivência e respostas morfofisiológicas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 7, p. 1343- 348, 2000.

BENIZRI, E.; BAUDOIN, E.; GUCKERT, A. Root colonization by inoculated plant growth-promoting rhizobacteria. **Biocontrol Science and Technology**, v.11, n.5, p. 557-574, 2001.

BERG, G.; KURZE, S.; BUCHNER, A.; WELLINGTON, E. M.; SMALLA, K. Successful strategy for the selection of new strawberry-associated rhizobacteria antagonist to *Verticillium* wilt. **Canadian Journal of Microbiology**, v.46, p.1-10, 2000.

BERNARDES, F. de S. **Rizobactérias na indução de resistência em cultivos hidropônicos**. Campinas, 2006. 58 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Instituto Agronômico de Campinas.

BETTIOL, W.; GHINI, R. Controle biológico . In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L (Eds). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres, p.717-727, 1995.

BETTIOL, W. Capítulo 1- Componentes do controle biológico de doenças de plantas. In: BETTIOL, W. **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna: Embrapa-CNPDA, 1991, p.01-05.

BHARAT, R.; SINGH, V.N.; SINGH, D.B. *Trichoderma viride* as a mycoparasite of *Aspergillus* spp.. **Plant and Soil**, v.57, p.131-135, 1980.

BHATTACHARJEE, R. B. et al. Use of nitrogen-fixing bacteria as biofertiliser for non legumes: prospects and challenges. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 80, p. 199-209, 2008.

BORGES A. L. & SOUZA L. S. Exigências edafoclimáticas. **O cultivo da bananeira**. (Eds. A. L. Borges & L. S. Souza). Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. 279p.

CAMERON, H.R. Pseudomonas content of cherry trees. **Phytopathology**, v.60, p.1343-1346, 1970.

CARDOSO, K. G. V. **Rizobactérias promotoras do crescimento de mudas micropropagadas de bananeira e agentes de biocontrole do mal-do-Panamá (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*)**. Cruz das Almas, 2010. 59 p Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola). Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

CARDOSO, E. J. B. N. Relações ecológicas entre micro-organismos. In: GALLI, F. (ed) **Manual de Fitopatologia**. São Paulo, SP, v.1. 1978. 373 p.

CHEN, Y.; MEI, R.; LIU, L.; KLOPPER, J.W. **The use of yield increasing bacteria (YIB) as plant growth-promoting rhizobacteria in Chinese agriculture**. In: UTKHEDE, R.S. e GUPTA, V.K. (Ed.). Management of soil born diseases. Ludhiana: Kalyani Publishers, 1996. p.165-184.

CHUANKUN, XU.; MINGHE, M.; LEMING, Z.; KEQIN, Z. Soil volatile fungistasis and volatile fungistatic compounds. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 36, p. 1997-2004, 2004.

CIRULLI, M.; ALEXANDER, L. J. A comparison of pathogenic isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and different sources of resistance in tomato. **Phytopathology**, v. 56, p.1301-1304, 1966.

COELHO, E.F. **Curso de bananicultura irrigada**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 13 p. 2009.

COHEN-KUPIEC, R.; CHET, I. The molecular biology of chitin digestion. **Current Opinion Biotechnology**, Israel, v. 9, p. 270-277. 1998.

COOK, R.J.; BAKER, K.F. The nature and practice of biological control of plant pathogens. The **American Phytopathological Society**. St. Paul, 1993, 539p.

CORDEIRO, Z.J.M., MATOS, A.P., KIMATI, H. Doenças da bananeira (*Musa* spp.) In: KIMATI, H., AMORIN, L., REZENDE, J.A.M., BERGAMIN FILHO, A., CAMARGO, L.E.A. (Eds.). **Manual de Fitopatologia. Doenças das plantas cultivadas**. 4 ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 2005. v. 2., p. 99-117.

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P.; FILHO, P. E. M. **Doenças e métodos de controle**. In: BORGES, A. L.; SOUZA, L. S. (Eds.). O cultivo da bananeira. Embrapa Mandioca e Fruticultura, 279 p, 2004.

CORDEIRO, Z. J. M. (Org). **Banana produção: aspectos técnicos**. Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 143 p. 2000.

CORDEIRO, Z.J.M. e DANTAS, J.L.L. **Rating bananas reaction to Fusarium wilt in Brazil**. Proceedings, International Symposium on recent developments in banana cultivation technology, Taiwan, p. 85-88, 1993.

DANTAS, J.S.; SOUZA, A.P.; FARIAS, M.F.; NOGURIRA, V.F.B. Interações entre grupos de microrganismos com a rizosfera. **Pesquisa Aplicada e Agrotecnologia**, v. 2, n. 2, p. 157-162, 2009.

DÉFAGO, G., BERLING, C.H., BURGER, U., HAAS, D., KAHR, G., KEEL, C., VOISARD, C., WIRTHNER, P.H., WUTHRICH, B. Suppression of black root rot of tobacco by a *Pseudomonas* strain: Potential applications and mechanisms. In: **Biological control of soilborne plant pathogen** (ed.) HORNBY D., Wallingford: CAB International, 1990. p.93-108.

DOBBELAERE, S. et al. Plant Growth-Promoting Effects of Diazotrophs in the Rhizosphere. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 22, n. 2, p. 107-149, 2003.

DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. H. Compendium of soil fungi. New York: **Academic Press**, 1980. 859p.

DONATO, S. L. R. et al. Comportamento de variedades e híbridos de bananeira (*Musa* spp.), em dois ciclos de produção no sudoeste da Bahia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 1, p. 139-144, 2006.

DONG, Z.; CANNY, M.J.; M.E.; ROBOREDO, M.R.; CABADILLA, C.F.; ORTEGA, E. & RODÉS, R. A nitrogen-fixing endophyte of sugarcane stems. **Plant Physiology**, v.105, p. 1139-1147, 1994.

FAO. Food and Agriculture Organization of United Nations. Disponível em: <http://faostat.fao.org>. Acesso em: 28 de janeiro de 2012.

FERNANDES, C. F.; COSTA, J. N. M.; HOLANDA FILHO, Z. F.; SOUZA, F. F.. Doenças da Bananicultura: Mal-do-Panamá. Embrapa Rondônia, **Circular Técnica 86, 1º edição**.p. 1-3, 2006.

FOURIE, G.;STEENKAMP, E. T.;GORDON,T.R.; VILJOEN,A. Evolutionary relationships among the *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* vegetative compatibility groups . **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, n. 14, p. 4770-4781, 2009.

FREITAS, S. S. Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas. In: Silveira, A. P. D. & Freitas S. S. (Eds.). **Microbiota do Solo e Qualidade Ambiental**. Instituto Agrônomo, Campinas-SP, p. 1-20, 2007.

GARMENDIA, I.; GOECOICHEA, N.; AGUIRREOLEA, J. Effectiveness of three *Glomus* species in protecting pepper (*Capsicum annuum* L.) against verticillium wilt. **Biological Control**, v.31, p.296-305, 2004.

GOMES, E. W. F.; WILLADINO, L.; MARTINS, L. S. S.; SILVA, S. O.; CAMARA, T. R. MEUNIER, I. M. J. Diploides (AA) de bananeira submetidos ao estresse salino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.6, p.525-531, jun. 2004.

GOODAY, G.H., ZHU, W. Y., DONNELL, R.W. What are the roles of chitinases in the growing fungus. **FEMS Microbiology Letters**, v. 100, p. 387-392, 1992.

GOODAY, G. The ecology of chitin degradation. **Microbiology Ecologic**. v. 10, p. 387-431. 1990.

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

GUETSKY, D. R.; SHTIENBERG, Y. E.; DINOOR, A. Combining Biocontrol Agents to Reduce the Variability of Biological Control. **Biological Control**. v. 91, n. 7, p. 621-627, 2001.

HALLMANN, J., QUADT-HALLMANN, A., MAHAFFEE, W.F., KLOEPPER, J.W. Bacterial endophytes in agricultural crops. **Canadian Journal of Microbiology**, v.43, p.895-914, 1997.

HARDOIM, P. R. et al Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. **Trends in Microbiology**, v.16, n.10, p. 463-471, 2008.

HARTHMANN, O.E.L.; MÓGOR, A.F.; FILHO, J. A.W.; LUZ, W.C. Rizobactérias no crescimento e na produtividade da cebola. **Ciência Rural**, v. 40, n.2, p. 462-465. 2010.

HOFFLAND, E.; BIK, L. Pseudomonas - induced resistance against Fusarium wilt In: International Congress of Plant Pathology, Montreal, Canada, International Society of Plant Pathology, p.216 (abstr), 1993.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 25 de maio de 2012.

IDRIS, H. A.; LABUSCHAGNE, N.; KORSTEN, L. Screening rhizobacteria for biological control of Fusarium root and crown rot of sorghum in Ethiopia. **Biological Control**, v.40, p.97–106, 2007.

JONES, D. R. History of banana breeding. In: Diseases of banana, abaca and enset. **CAB International**, Wallingford, UK. 2000.

JUNQUEIRA, N.T. V; GASPAROTTO, L. Controle biológico de fungos estomáticos causadores de doenças foliares em seringueira. In: BETTIOL, W., (Ed.). **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariuna, CNPDA/EMBRAPA, p.307- 331, 1991.

KAI, M.; EFFMERT, U.; BERG, G.; PIECHULLA, B. Volatiles of bacterial antagonists inhibit mycelial growth of the plant pathogen *Rhizoctonia solani*. **Archives of Microbiology**, v.187, p.351–360, 2007.

KAVINO, M.; HARISH, S.; KUMAR, N.; SARAVANAKUMAR, D.; DAMODARAN, T.; SOORIAANATHASUNDARAM, K.; SAMIYAPPAN, R. Rhizosphere and endophytic bacteria for induction of systemic resistance of banana plantlets against bunchy top virus. **Soil Biology & Biochemistry**, v.39, p.1087-1098, 2007.

KUPPER, K. C. Mal-do-Panamá. **ANAIS XIII Reunião Itinerante de Fitossanidade do Instituto Biológico**. p.28-31, 2005. Disponível em: <<http://www.biológico.sp.gov.br>>. Acesso em: 10 de agosto de 2012.

KUPPER, K.C.; GIMENES-FERNANDES, N.; GOES, A. de. Controle biológico de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da queda prematura dos frutos cítricos. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, p.251-257, 2003.

LADEIRA, M. C.G. **Biocontrole de *Quambalaria eucalypti* por meio de rizobactérias**. Magister Science. Universidade Federal de Viçosa- Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Viçosa-MG. 2004.

LEEMAN, M.; VAN PELT, J. A.; HENDRICKX, M. J.; SCHEFFER, R. J.; BAKKER, P. A. H. M.; SCHIPPERS, B. Biocontrol of fusarium wilt of radish in commercial greenhouse trial by seed treatment with *Pseudomonas fluorescens* WCS374, **Phytopathology**, v.85, p.1301-1305, 1995.

LIAN, J.; WANG, Z.; CAO, L.; TAN, H.; INDERBITZIN, P.; JIANG, Z., ZHOU, S. Artificial inoculation of banana tissue culture plantlets with indigenous endophytes originally derived from native banana plants. **Biological Control**, v. 51, p. 427-434, 2009.

LIAN, J.; WANG, Z.; ZHOU, S. Response of endophytic bacterial communities in banana tissue culture plantlets to *Fusarium wilt* pathogen infection. **Journal of General and Applied Microbiology**. v. 54, 83-92, 2008.

LICHTENBERG, L. A.; MIRANDA, M.; MALBURG, J. L.; SACKNIES, R. G.; PEIXOTO, A. N. **Situação da bananicultura na região Sul do Brasil**. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE BANANICULTURA, 4., Campo Grande. Anais... Jaboticabal: Funep, p. 66-96. 1998.

LIN, L.; QIAO, Y.S.; JU, Z.Y.; MA, C.W.; LIU, Y.H.; ZHOU, Y. J.; DONG, H.S. Isolation and characterization of endophytic *Bacillus subtilis* jaas ad1 antagonist of eggplant *Verticillium wilt*. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**. v.73. 1489-1493p. 2009.

LODEWYCKX, C.; et al. Endophytic bacteria and their potential applications. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 21, p. 583-606, 2002.

LUGTENBERG, B.; KAMILOVA, F. Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria. **Annual Review of Microbiology**. v.63, p.541-556, 2009.

LUZ, W.C. Evaluation of plant growth-promoting and bioprotecting rhizobacteria on wheat crop. **Fitopatologia Brasileira**, v.26, p.597-600, 2001.

LUZ, W. C. Rizobacterias promotoras de crescimento de plantas e bioprotecao. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v.4, p.1-49. 1996.

MACAGNAN, D.; ROMEIRO, R.S.; POMELLA, A.W.V. Inibição da germinação de basidiósporo de *Crinipellis pernicioso* por compostos voláteis produzidos por cinco

actinomicetos residentes de filoplano de cacauero. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 35, n. 2, p. 140-142, 2009.

MAFIA, R.G.; ALFENAS, A. C.; MAFFIA, L. A.; FERREIRA, E.M.; SIQUEIRA, L. Compatibilidade e efeitos das misturas de isolados de rizobactérias na indução de enraizamento e clones de eucaliptos. **Revista Árvore**. v,31, n.4,p. 635-643, 2007.

MAGET-DANA, R.; THIMON, L.; PEYPOUX, F.; PTAK, M. Surfactin/Iturin A interactions may explain the synergistic effect of surfactin on the biological properties of iturin A. **Biochimie**, v.74, p.1047–1051, 1992.

MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B.; ASSIS, S. M. P.; GOMES, A. M. A.; NASCIMENTO, A. R. P.; DONATO, V. M. T. S. Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, v. 1, p. 89-111, 2004.

MELO, I. S. Rizobactérias Promotoras de crescimento de plantas: descrição e potencial de uso na agricultura. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (Eds.). Ecologia microbiana. Jaguariúna: EMBRAPA – CNPMA, p.87-110, 1998.

MOORE-LANDECKER, J. Fundamentals of the Fungi. 4th Ed. New Jersey. Prentice- Hall. 1996.

MUSSON, G. Ecology and effects of endophytic bacteria in plants. Auburn: Auburn University, Ala. (Masters thesis). 1994.

NELSON, C.S.; PLOETZ, C.R.; KEPLER, K.A. *usa species* (banana and plantain) Musaceae (banana family). **Species Profiles for Pacific Island Agroforestry**. 2006. Disponível em: www.traditionaltree.org. Acesso em: abril de 2012.

NOGUEIRA, E. M. C. Principais doenças da bananeira. **ANAIS VI Reunião Itinerante de Fitossanidade do Instituto Biológico**. p.9-20, 2002. Disponível em: www.biológico.sp.gov.br. Acesso em: abril de 2012.

NOMURA, E.S.; FUZITANI, E. J. Propagação da bananeira. **ANAIS XIII Reunião Itinerante de Fitossanidade do Instituto Biológico**. p.59-65, 2005. Disponível em: www.biologico.sp.gov.br. Acesso em: abril de 2012.

NOTÍCIAS DA BAHIA. Adab libera exportação de banana produzida na Bahia para a Argentina. IN: Bananicultura: Pesquisas voltadas para a agricultura familiar. MARTINS, A.N.; FURLANETO, F.P. **Revista Tecnologia e Inovação Agropecuária**, p. 77-86, 2008.

PAIXAO, L.B.V.S. **Actinomicetos promotores de crescimento e agentes de biocontrole do nematoide cavernícola da bananeira *Radopholus similis***. 2008. 68f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BA, 2008.

PAN, M.J.; RADEMAN, S.; KUNERT, K.; HASTINGS, J.W. Ultrastructural studies on the colonization of banana tissue and *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense* raça 4 by the endophytic bacterium *Burkholderia cepacia*. **Journal of Phytopathology-Phytopathologische Zeitschrift**, v.145, p. 479-486, 1997.

PAULITZ, T.C. Biochemical and ecological aspects of competition in biological control. In: BAKER, R. R. (Ed.) **New directions in biological control: alternatives for suppressing agricultural pests and diseases**. New York: Liss, 1990. p. 713-724.

QUADT-HALLMANN, A.; BENHAMOU, N.; KLOEPPER, J. W. Bacterial endophytes in cotton: mechanisms of entering the plant. **Canadian Journal Microbiology**, v. 43, p. 577-582, 1997.

RAMAMOORTHY, V.; VIWANATHAN, R.; RAGUCHANDER, T.; PRAKASAM, V.; SAMIYAPPAN, R. Induction of systems resistance by plant growth promotion rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. **Crop Protection**, v.20, p.1-11, 2001.

RAMOS, E. M. **Indução do enraizamento de mudas micropropagadas de bananeira por bactérias endofíticas e biocontrole do mal-do-Panamá.** Cruz das Almas, 2011. 65 p Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola). Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

RAUPACH, G.S. e KLOPPER, J.W. Mixtures of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Enhance Biological Control of Multiple Cucumber Pathogens. **Phytopathology**, v.88, p.1158-1164, 1998.

REITER, B.; PFEIFER, U.; SCHWAB, H.; SESSITSCH, A. Response of endophytic bacterial communities in potato plants to infection with *Erwinia carotovora* sbsp. *Atrospica*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.68, p.2261-2268, 2002.

RENWICK, A.; CAMPBELL, R.; COE, S. Assessment of *in vitro* screening systems for potential biocontrol agents of *Gaeumannomyces graminis*. **Plant Pathology**, v. 40, p.524-532, 1991.

ROMEIRO, R. S. & GARCIA, F. A. O. Indução de resistência em plantas a patógenos por eliciadores de natureza bacteriana. In: Bettiol, W. & Morandi, M. A. B. (Eds.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas.** Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP, p. 85-99, 2009.

ROMEIRO, R.S. **Controle biológico de enfermidades de plantas: procedimentos/** Viçosa: Ed.UFV, 172p. 2007.

ROMEIRO, R. S.; BATISTA, U. G. **Preliminary results on PGPR research at the Universidade Federal de Viçosa.** 2002. Disponível em: www.ufv.br/dfp/bac/Cordoba.html. Acesso em: abril de 2012.

ROSENBLUETH, M.; MARTÍNEZ-ROMERO, E. Bacterial endophytes and their interactions with hosts. **American Phytopathological Society**, v. 19, n. 8, p. 827-837, 2006.

RYAN, R. P. et al. Bacterial endophytes: recent developments and applications. **Federation of European Microbiological Societies Microbiology Letters**. v. 278, p.1-9, 2008.

SHIOMI, H. F.; SILVA, H. S. A.; MELO, I. S.; NUNES, F. V.; BETTIOL, W. Bioprospecting endophytic bacteria for biological control of coffee leaf rust. **Scientia Agrícola**, v. 63, n. 1, p. 32-39, 2006.

SILVA, R. A.; REIS, V. M.; BALDANI, J. I.; OLIVARES, F. L. Defesa de plantas contra o ataque de fitopatógenos. **Embrapa Agrobiologia**, 49 p. 2008.

SILVA, A. C. M. **Diversidade genética, densidade populacional e potencial de promoção de crescimento de rizobactérias associadas ao cacauero**. 2007, 78f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BA, 2007.

SILVA, R. L. O.; LUZ, J. S.; SILVEIRA, E. B.; CAVALCANTE, U. M. T. Fungos endofíticos em *Annona* spp.: Isolamento, caracterização enzimática e promoção do crescimento em mudas de pinha (*Annona squamosa* L.) **Acta Botânica Brasílica**, v. 20, n. 3, p. 649-655, 2006.

SILVA, J. C. da; BETTIOL, W. Potential of non-pathogenic *Fusarium oxysporum* isolates for control of *Fusarium* wilt of tomato. **Fitopatologia Brasileira**, v.30, p.409-412, 2005.

SILVA, S. O. e; SANTOS-SEREJO, J.A.; CORDEIRO, Z.J.M. **Variedades**. In: O cultivo da bananeira. (Eds. A. L. Borges e L. S. Souza). Embrapa Mandioca e Fruticultura, 279p. 2004.

SILVA, H. S .A.; ROMEIRO, R. S.; MACAGNAN, D. ; HALFELD-VIEIRA, B. A.; PEREIRA, M. C. B.; MOUNTEER, A. Rhizobacterial induction of systemic resistance in tomato plants: non-specific protection and increase in enzyme activities. **Biological Control**, v. 29, p. 288–295, 2004a.

SILVA, H. S. A.; ROMEIRO, R. S. Isolamento e seleção massal de rizobactérias indutoras de resistência sistêmica à Mancha bacteriana-pequena do tomateiro. **Revista Ceres**, v.51, n.295, p.345-354, 2004b.

SILVA, S. de O. e; ALVES, E. J.; SHEPHERD, K.; DANTAS, J. L. L. **Cultivares**. In: ALVES, E. J. (Org.). A cultura da banana: aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais. 2. ed. rev. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPMPF, p.85-105. 1999.

SILVEIRA, E.B.; GOMES, A.M.A; MARIANO, R.L.R.; SILVA NETO, E.B. Bacterização de sementes e desenvolvimento de mudas de pepino. **Horticultura Brasileira**, v.22, n.2, p.217-221, 2004.

SILVEIRA, E. B. **Bactérias promotoras de crescimento de plantas e biocontrole de doenças**. In: Proteção de Plantas na Agricultura Sustentável (Eds. MICHEREFF, S. J.; BARROS, R.).Recife, UFRPE. 368p. 2001.

SILVEIRA, A. P. D.; FREITAS, S. S.; SILVA, L. R. C.; LOMBARDI, M. L. C. O.; CARDOSO, E. J. B. N. Interações de micorrizas arbusculares e rizobactérias promotoras do crescimento em plantas de feijão. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.19, p.205-211, 1995.

SINGH, P.P.; SHIN, Y.C.; PARK, C.S.; CHUNG, Y.R. Biological control of Fusarium wilt of cucumber by chitinolytic bacteria. **Phytopathology**, v. 89, p. 92-99, 1999.

SMITH, S. N. An overview of ecological and habitat aspects in the genus Fusarium with special emphasis on the soil-borne pathogenic forms. **Plant Pathology Bulletin**, v.16, p.97-120, 2007.

SIMMONDS, N. W. **Classification of the bananas**. Kew Bull. p.198-212. 1960.

SOARES, A.C.F.; SOUSA, C.S.; GARRIDO, M.S.; LIMA, F.S. Isolados de estreptomicetos no crescimento e nutrição de mudas de tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.40, n.4, p.447-453, 2010.

SOUZA, M. L. Utilização de microrganismos na Agricultura: Uso de agentes microbianos na agricultura brasileira. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, n. 21, p. 28-31, 2001.

STONIER, T. *Agrobacterium tumefaciens* Conn. II. Production of an antibiotic substance. **Journal of Bacteriology**, v. 79, p. 889-898, 1960.

STROBEL, G.; DAISY, B. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**. v.67: p.491-502,2003.

SUNG, K.C. & CHUNG, Y.R. Enhanced suppression of rice sheath blight using combination of bacteria which produce chitinases or antibiotics. In: Plant growth-promoting rhizobacteria – Present status and future prospects. Proceedings of International Workshop on Plant Growth Promoting Rhizobacteria. 4th. Nakanishi Printing, Sapporo, Japan, 1997.

TILAK, K. V. B. R N.; RANGANAYAKI, K. K.; PAL, R.; DE, A. K.;SAXENA, C.; NAUTIYAL,S.; SHILPI MITTAL,S.; TRIPATHI, A.K.; JOHRI, B.N. Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria. **Current science**, v. 89, p.1-10, 2005.

TRONSMO, A. & HJELJORD, L.G. Biological control with Trichoderma species.In: Boland, G.j. 7 kuykendall, L.D. (Eds). **Plant-microbe interactions and biological control**. New York. Marcel Dekker, 1998. p.111-126.

TUITE, J. **Plant Pathological Methods: Fungi and Bacteria**. Minneapolis. Burgess Publishing Company. 1969.

VAN PEER, R.; NIEMANN, G. J.; SCHIPPERS, B. Induced resistance and phytoalexin accumulation in biology control of *Fusarium* wilt of carnation by *Pseudomonas* sp.strain WCS417r. **Phytopathology**, v.81, p.728-734, 1991.

VIEIRA, L.M. Banana. **EPAGRI/CEPA**. 2009. Disponível em: www.cepa.epagri.sc.gov.br. Acesso em: maio de 2012.

WEBER, O. B.; MUNIZ, C. R.; VITOR, A. O.; FREIRE, F. C. O.; OLIVEIRA, V. M. Interaction of endophytic diazotrophic bacteria and *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* on plantlets of banana 'Maça'. **Plant and Soil**, n.1-2, v.298, p.47-56. 2007.

WELLER, D. M. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, v. 26, p. 379-407, 1988.

WHEATLEY, R.E. The consequences of volatile organic compound mediated bacterial and fungal interactions. **Antonie van Leeuwenhoek**, Dordrecht, v. 81, p. 357-364, 2002.

WILSON, D. Endophyte – the evolution of a term, and classification of its use and definition. *Oikos*, v. 73, p. 274-276, 1995.

ZDOR, R.; ANDERSON, A. J Influence of root colonizing bacteria on the defense responses of beans. **Bulletin-SROP**, v.14, n.8, p.187-190, 1992.

ZINNIEL, D. K.; LAMBRECHT, P.; HARRIS, N. B.; FENG, Z.; KUCZMARSKI, D.; HIGLEY, P.; ISHIMARU, C. A.; ARUNAKUMARI, A.; BARLETTA, R. G.; VIDAVER, A. K. Isolation and characterization of endophytic colonizing bacteria from agronomic crops and prairie plants. **Applied and Environmental Microbiology**, v.68, n. 5, p.2198-2208, 2002.

ZOU, C.S.; MO, M.H.; GU, Y.Q.; ZHOU, J.P.; ZHANG, K.Q. Possible contributions of volatile-producing bacteria to soil fungistasis. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 39, p. 2371-2379, 2007.