

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

**ATIVIDADE DE RIZOBACTÉRIAS ANTAGONISTAS A  
*Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* EM SOLOS CULTIVADOS  
COM MILHO, SORGO E MILHETO**

**LUCILA OLIVEIRA SANTOS**

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA  
JUNHO – 2016**

**ATIVIDADE DE RIZOBACTÉRIAS ANTAGONISTAS A**  
*Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* **EM SOLOS CULTIVADOS**  
**COM MILHO, SORGO E MILHETO**

**LUCILA OLIVEIRA SANTOS**

Bióloga, Universidade do Estado da Bahia, 2014

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 obtenção do Grau de Mestre em Microbiologia Agrícola.

Orientador: Harllen Sandro Alves Silva

Coorientador: Fernando Haddad

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA**  
**JUNHO – 2016**

## FICHA CATALOGRÁFICA

S237a

Santos, Lucila Oliveira.

Atividade de rizobactérias antagonistas a *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* em solos cultivados com milho, sorgo e milho / Lucila Oliveira Santos. \_ Cruz das Almas, BA, 2016.

76f.; il.

Orientador: Prof. Dr. Harllen Sandro Alves Silva.

Co-orientador: Prof. Dr. Fernando Haddad.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. Mestrado em Microbiologia Agrícola.

1.Maracujá – Cultivo. 2.Maracujá – Doenças e Pragas – Controle Integrado. 3.Rizobactérias – Atividade antifúngica – Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.


CDD: 634.425943


Ficha elaborada pela Biblioteca Universitária de Cruz das Almas - UFRB.

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

COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE LUCILA  
OLIVEIRA SANTOS

  
Dr. Harlen Sandro Alves Silva  
Embrapa Mandioca e Fruticultura – CNPMF

  
Dr. Adriana Maria de Aguiar Accioly  
Embrapa Mandioca e Fruticultura – CNPMF

  
Dr. Thiago Alves Santos de Oliveira  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB

\*Dissertação homologada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em  
Microbiologia Agrícola em \_\_\_\_\_ conferindo o grau de  
Mestre em Microbiologia Agrícola em

\_\_\_\_\_\*

*Aos meus pais, **Tadeu** e **Fátima**, pelo amor, apoio e incentivo.*

***Dedico.***

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por estar presente em todos os momentos e por ter permitido que eu chegasse até aqui.

Aos meus pais, Tadeu e Fátima, pelo incentivo aos estudos e por todo amor e dedicação.

Ao meu namorado, Dionei, pelos momentos de descontração e apoio.

Ao meu orientador, Dr. Harllen Sandro Alves Silva, pela disponibilidade, paciência e ensinamentos transmitidos.

Às minhas amigas Delzuite, Elina, Grazielle e Brunelle pela amizade e pelos momentos de descontração.

A Luciano, analista do Laboratório de Microbiologia do Solo e Resíduos Orgânicos, pelo apoio técnico.

Às amigas do mesmo laboratório, Josélia e Daniela, pelo companheirismo e ajuda nos experimentos.

A Náfez, pela disponibilização do Laboratório de Solos e Nutrição de Plantas, para realização de parte deste trabalho.

Aos funcionários da Embrapa, especialmente ao Seu João, pela cooperação durante o desenvolvimento deste trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, por todos os ensinamentos, em especial ao professor Dr. Carlos Ledo pela ajuda nas análises estatísticas.

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, pela oportunidade e desafios proporcionados.

À CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, o meu sincero agradecimento!

*“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.*

**LISTA DE TABELAS**

**Tabela 1.** Isolados produtores de compostos difusíveis, voláteis e quitinases..... 59

**Tabela 2.** Compatibilidade entre os isolados rizobacterianos que apresentaram pelo menos dois mecanismos de ação contra Fop. .... 61



## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Valores médios do carbono da biomassa microbiana (CBM) em solos tratados com rizobactérias e cultivados com monocotiledôneas aos 47 e 63 dias de incubação..... 63
- Figura 2.** Valores médios da respiração basal do solo (RBS) em solos tratados com rizobactérias e cultivados com monocotiledôneas aos 47 e 63 dias de incubação..... 64
- Figura 3.** Valores médios do quociente metabólico ( $qCO_2$ ) em função das culturas e das combinações rizobacterianas (C1; C2; C3) aos 63 dias de incubação..... 66
- Figura 4.** Atividade da enzima fosfatase ácida em solos tratados com rizobactérias e cultivados com monocotiledôneas. .... 67

## LISTA DE ABREVIATURAS

**BaCl** - Cloreto de bário

**BDA** - Batata Dextrose Ágar

**CaCl<sub>2</sub>** - Cloreto de cálcio

**CBM** - Carbono da biomassa microbiana

**CFE** - Clorofórmio-fumigação-extração

**CFI** - Clorofórmio-fumigação-incubação

**CO<sub>2</sub>** - Dióxido de carbono

**Fop** - *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*

**HCl** - Ácido clorídrico

**IBGE** - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

**K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** - Sulfato de potássio

**kW** - Kilowatt

**MHz** - Megahertz

**NA** - Ágar Nutriente

**NaOH** - Hidróxido de sódio

**O<sub>2</sub>** - Gás oxigênio

**PNP** - *p*-nitrofenol

**qCO<sub>2</sub>** - Quociente metabólico

**RBS** - Respiração basal do solo

# SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

INTRODUÇÃO GERAL ..... 15

CAPÍTULO I ..... 17

Revisão de literatura ..... 17

1. A cultura do maracujazeiro e seus aspectos econômicos..... 18

2. Fusariose do maracujazeiro ..... 20

3. Manejo integrado da fusariose ..... 21

3.1. Consórcio de culturas ..... 24

3.2. Controle biológico ..... 26

3.2.1 Controle biológico com rizobactérias ..... 28

4. Atividade microbiana no solo ..... 31

REFERÊNCIAS ..... 35

CAPÍTULO II ..... 46

Atividade de rizobactérias antagonistas a *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* em solos cultivados com milho, sorgo e milheto ..... 46

RESUMO..... 46

ABSTRACT ..... 48

INTRODUÇÃO ..... 49

MATERIAL E MÉTODOS ..... 51

1. Coleta do solo da zona rizosférico ..... 51

2. Isolamento e preservação das rizobactérias de maracujazeiro ..... 51

3. Seleção *in vitro* de rizobactérias antagonistas a *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*..... 52

3.1. Detecção da produção de compostos difusíveis..... 52

3.2. Detecção da produção de compostos voláteis ..... 52

3.3. Detecção da produção de quitinases..... 53

3.4. Teste de antibiose recíproca..... 53

3.5. Crescimento em diferentes valores de pH ..... 53

4. Atividade microbiana em solo cultivado com monocotiledôneas ..... 54

4.1. Preparo das mudas de monocotiledôneas..... 54

4.2. Tratamento das mudas com rizobactérias e montagem do experimento 54

4.3. Coleta e padronização das amostras de solo .....	55
4.4. Avaliação dos atributos biológicos .....	55
4.4.1. Carbono da biomassa microbiana .....	55
4.4.2. Respiração basal do solo .....	56
4.4.3. Quociente metabólico .....	57
4.4.4. Atividade da enzima fosfatase ácida .....	57
4.4.5. Análise estatística .....	58
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	59
REFERÊNCIAS .....	70
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	75

## RESUMO

SANTOS, L. O. **Atividade de rizobactérias antagonistas a *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* em solos cultivados com milho, sorgo e milheto.** Cruz das Almas, 2016. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola). Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

Embora o Brasil ocupe a posição de maior produtor mundial de maracujá, a produtividade do fruto no país é baixa devido à ocorrência de doenças na cultura. A fusariose, provocada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* (Fop), é uma das doenças mais temidas por levar a morte da planta diminuindo o período produtivo da cultura. Atualmente, a utilização conjunta de práticas culturais e do controle biológico têm destacada importância no manejo integrado de doenças de plantas. Informações sobre o efeito de monocotiledôneas sobre a atividade de rizobactérias antagonistas no solo podem ser utilizadas para otimização de um programa de manejo integrado da fusariose, permitindo que os agentes de biocontrole mantenham-se ativos na área na qual a proteção deve ser tomada. Além disto, as monocotiledôneas podem servir como uma fonte de renda extra ao produtor. Desta forma, o objetivo do trabalho foi avaliar a atividade de rizobactérias antagonistas a Fop em solos cultivados com milho, sorgo e milheto, em casa de vegetação. Neste sentido, rizobactérias foram isoladas do solo da rizosfera de maracujazeiros e submetidas a testes para detecção da produção de compostos difusíveis, compostos voláteis e quitinases. Foram avaliados 167 isolados, dos quais 21 foram positivos para a produção de compostos difusíveis, dois para compostos voláteis, 32 para produção de quitinases e oito apresentaram pelo menos dois mecanismos de ação. Um ensaio de antibiose recíproca e crescimento em diferentes níveis de pH foi realizado com estes oito isolados verificando-se a incompatibilidade do isolado 76 com os demais; incompatibilidade do isolado 77 com o isolado 89 e crescimento de todos os isolados em ampla faixa de pH. A atividade microbiana foi avaliada em solos cultivados com milho, sorgo e milheto, além do pousio, em casa de vegetação, por meio do quociente metabólico ( $qCO_2$ ), obtido pela razão entre a respiração basal do solo (RBS) e o carbono da biomassa microbiana (CBM), e da atividade da enzima fosfatase ácida. Para isto, três combinações de rizobactérias, com base no teste de antibiose recíproca, foram aplicadas em vasos com as culturas de monocotiledôneas e, após 47 e 63 dias da aplicação, amostras de solo foram coletadas e encaminhadas ao laboratório para análises. Determinou-se o CBM e a RBS pelos métodos do clorofórmio-fumigação-extração e clorofórmio-fumigação-incubação adaptados, respectivamente. A atividade da enzima fosfatase ácida, foi analisada somente aos 63 dias, pela medição da concentração de *p*-nitrofenol liberado resultante da hidrólise enzimática de *p*-nitrofenil fosfato. Houve diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) quanto aos tratamentos testados apenas na segunda época de amostragem, aos 63 dias. Pela análise de variância, a interação entre espécies e combinações de rizobactérias foi significativa ( $p < 0,05$ ) somente para o atributo  $qCO_2$ , cujos valores tendem a ser superiores sob a cultura do milheto na combinação 3 (isolados R77 + R95 + R104 + R120) ( $0,03 \text{ mg C-CO}_2 \text{ Kg}^{-1} \text{ CBM h}^{-1}$ ). A atividade da enzima fosfatase ácida apresentou valores superiores para a cultura do milheto ( $66,87 \text{ } \mu\text{g de } p\text{-nitrofenol cm}^3 \text{ solo h}^{-1}$ ) confirmando uma maior atividade rizobacteriana sob esta cultura.

**Palavras-chave:** fusariose, manejo integrado, maracujá.

## ABSTRACT

SANTOS, L. O. **Activity of rhizobacterial antagonists to *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* in soils cultivated with maize, sorghum and millet.** Cruz das Almas, 2016. Dissertation (Master in Agricultural Microbiology). Federal University of Bahia Reconcavo.

Although Brazil ranks as the world's largest producer of passion fruit, fruit productivity in the country is low due the occurrence of disease in the crop. The fusarium wilt, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* (Fop), is one of the most feared diseases lead to death of the plant reducing the productive period of culture. Currently, the joint use of cultural practices and biological control have outstanding importance in the integrated management of plant diseases. Information monocots effect on the activity of rhizobacteria antagonists in the soil can be used for optimization of an integrated management program of fusarium wilt, allowing biocontrol agents remain active in the area in which the protection should be taken. In addition, monocotyledons may serve as an extra source of income to the producer. Thus, the objective of this study was to evaluate the activity of rhizobacterial antagonists to Fop in soils cultivated with maize, sorghum and pearl millet, in the greenhouse. In this sense, rhizobacteria were isolated from the rhizosphere soil of passion fruit and subjected to tests for detection the production of diffusible compounds, volatile compounds and chitinases. 167 isolates were evaluated, 21 of them were positive for the production of diffusible compounds, two for volatile compounds, 32 to produce chitinases and eight had at least two mechanisms of action. A test mutual antibiosis and growth at different pH levels was carried out with these eight isolates verifying the incompatibility isolated 76 with others; incompatible isolated 77 with isolated 89 and growth of all isolates in wide pH range. Microbial activity was evaluated in soils cultivated with maize, sorghum and millet, in addition to fallow, in the greenhouse, through the metabolic quotient ( $qCO_2$ ), obtained by the ratio between the basal soil respiration (BSR) and microbial biomass carbon (MBC), and the enzyme acid phosphatase activity. For this, three combinations of rhizobacteria, based on mutual antibiosis test, were applied to pots with crops of monocots and after 47 and 63 days of application, soil samples were collected and sent to the laboratory for analysis. The CBM and RBS were determined by methods of chloroform fumigation-extraction and chloroform-fumigation-incubation adapted, respectively. The activity of acid phosphatase was analyzed only after 63 days by measuring the concentration of liberated  $p$ -nitrophenol resulting from the enzymatic hydrolysis of  $p$ -nitrophenyl phosphate. There were significant differences ( $p < 0.05$ ) in the treatments tested only the second time of sampling, to 63 days. By analysis of variance, the interaction between species and rhizobacteria combinations was significant ( $p < 0.05$ ) only for the  $qCO_2$  attribute, whose values tend to be higher under millet cultivation in combination 3 (isolates R77 + R95 + R104 + R120) ( $0.03 \text{ mg C-CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ CBM h}^{-1}$ ). The enzyme acid phosphatase activity showed higher values for the pearl millet crop ( $66.87 \text{ } \mu\text{g of } p\text{-nitrophenol cm}^3 \text{ soil h}^{-1}$ ) confirming greater rizobacteriana activity in this culture.

**Keywords:** fusarium wilt, integrated management, passion fruit.

## INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil enquadra-se como maior produtor mundial e consumidor de maracujá, com a região Nordeste contribuindo com a maior fatia desta produção, correspondente a 70,89 %, enquanto a região Sudeste contribui com 16,31 %. O estado com a maior produção é a Bahia, respondendo por 46,30 % do total nacional (IBGE, 2014).

A cultura do maracujazeiro, apontada como alternativa para agricultura familiar, se destaca devido à elevada cotação do suco no mercado internacional e da fruta fresca no mercado interno, o que levou à rápida expansão dos pomares nos últimos anos (MELETTI et al., 2002). O aumento da área plantada trouxe, entretanto, o agravamento de um grande número de doenças que acometem o maracujazeiro, reduzindo o tempo de exploração econômica da cultura e inviabilizando o cultivo em certas regiões (FISCHER et al., 2005).

Entre as principais doenças que atingem a cultura do maracujazeiro na região Nordeste está a fusariose, causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* (Fop). Este fungo coloniza os vasos xilemáticos impedindo o translocamento de água e nutrientes o que causa a murcha e consequente morte da planta. Os sintomas internos podem ser visualizados por meio de um corte no caule onde é observado o escurecimento dos tecidos do xilema. A importância da fusariose reside no fato da doença levar a morte inevitável das plantas infectadas, não havendo controle curativo (VIANA et al., 2003).

O manejo da fusariose é dificultado pela capacidade do patógeno sobreviver no solo sob a forma de estruturas de resistência, sendo o controle preventivo o mais indicado (RONCATTO et al., 2004). Embora se considere o uso de variedades resistentes como um dos métodos de controle mais efetivos e baratos, não existem cultivares disponíveis atualmente para o maracujá-amarelo que apresentem resistência (SILVA, 2011). O uso de porta-enxertos resistentes esbarra na questão da baixa disponibilidade de sementes, irregularidade na germinação destas e altos custos do processo (MELETTI et al., 2005). Neste contexto, o controle biológico aparece como uma estratégia adicional a ser utilizada como parte do manejo integrado da fusariose (BETTIOL; MORANDI, 2009).

As rizobactérias são consideradas agentes de biocontrole ideais, visto que a rizosfera fornece a linha de frente de defesa contra o ataque de patógenos nas raízes (DESHWALL et al., 2003). Diversos trabalhos mostram a capacidade destas bactérias para inibir *Fusarium oxysporum* (FAHEEM et al., 2015; HARIPRASAD et al., 2011). O cultivo consorciado, por sua vez, é uma prática capaz de promover o manejo de doenças pelo aumento da atividade e a abundância de organismos benéficos, pois permite a diversificação de micro-*habitats* no solo (GLIESSMAN, 2008). Sendo assim, são de grande importância estudos que visem investigar a influência dos cultivos sobre a atividade de antagonistas no solo, posto que a associação entre controle cultural e biológico pode representar uma alternativa promissora para o manejo da fusariose do maracujazeiro.

Uma vez que diferentes plantas liberam diferentes exsudatos (BADRI; VIVANCO, 2009), podendo estes estimular ou inibir o crescimento microbiano na rizosfera (HAO et al., 2010), o objetivo do trabalho foi avaliar a influência de três espécies de monocotiledônes, milho, sorgo e milheto, sobre a atividade de rizobactérias antagonistas a *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*. Para cumprir com este objetivo foi realizada uma seleção de rizobactérias antagonistas ao patógeno e, posteriormente, foi averiguada a atividade microbiana em solo cultivado com as três culturas, em casa de vegetação.



# **CAPÍTULO I**

---

## **Revisão de Literatura**

## 1. A cultura do maracujazeiro e seus aspectos econômicos

O maracujazeiro é uma fruteira originária da América Tropical pertencente à família Passifloraceae e ao gênero *Passiflora* (CERVI, 1997; VIANA, 2003). A família Passifloraceae ou família dos maracujás é composta por cerca de 20 gêneros e 600 espécies distribuídas entre os trópicos. No Brasil, ocorrem quatro gêneros nativos: *Ancistrothyrus*, *Dilkea*, *Mitostemma* e *Passiflora* (SOUZA; LORENZI, 2012). O gênero *Passiflora* é considerado o mais importante com cerca de 520 espécies no mundo (CERVI, 2005). A maioria das espécies de *Passiflora* é endêmica das Américas, com um pequeno número ocorrendo na região tropical da Ásia, ilhas da Polinésia e Austrália (BRIZICKY, 1961; KILLIP, 1938). Na flora brasileira ocorrem cerca de 142 espécies do gênero, 83 delas endêmicas, distribuídas em quase todas regiões do país (BERNACCI et al., 2015).

A importância econômica do gênero *Passiflora* se deve, principalmente, à qualidade dos frutos produzidos por algumas espécies, que são utilizados para alimentação na forma *in natura* ou por meio dos seus derivados: sucos, geléias, doces, sorvetes, licores, entre outros. A indústria farmacêutica também explora o maracujá, como fonte de passiflorina, calmofilase e maracugina, substâncias com propriedades calmantes (LIMA; FANCELLI, 2003). O óleo extraído de suas sementes é um dos ingredientes mais procurados para a fabricação de cosméticos naturais (SEBRAE, 2008). Em países do hemisfério norte algumas espécies são utilizadas para ornamentação, na construção de cercas vivas, e híbridos são produzidos a fim de gerar flores maiores para o cultivo em vasos (PEIXOTO, 2005). As espécies mais estudadas e comercializadas são o maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* fv. *flavicarpa*) e o maracujá-roxo (*Passiflora edulis*) (CANÇADO JÚNIOR et al., 2000).

A cultura do maracujazeiro constitui uma boa alternativa para o produtor rural, proporcionando o mais rápido retorno de capital investido dentre as fruteiras, uma vez que a maioria delas despense alguns anos para iniciar a produção (MELETTI et al., 2010). Nas pequenas propriedades brasileiras, onde é predominantemente cultivado, o maracujazeiro vem promovendo a geração de empregos e, o seu prolongado período de safra, variável entre as regiões do país, pode contribuir para a melhoria do padrão de vida dos pequenos proprietários, características que conferem à cultura um relevante papel social (LIMA et al., 2011).

A produção do maracujá em escala comercial teve início na Austrália e no Havaí com o uso de espécies nativas brasileiras (CUNHA, 2013). No Brasil, só adquiriu relevância com as primeiras exportações do suco, a partir de 1970 (CANÇADO JÚNIOR et al., 2000). Atualmente, o país ocupa o primeiro lugar como produtor mundial de maracujá seguido do Equador (ITI TROPICALS, 2014). Dos pomares cultivados em terras brasileiras, mais de 95 % correspondem a pomares de maracujá-amarelo devido à qualidade superior da espécie em relação à produtividade, vigor e rendimento em suco (MELETTI; BRÜCKNER, 2001).

A área destinada à colheita do maracujá no Brasil em 2014 correspondeu a 57.183 hectares, área maior do que a destinada para colheita de frutas como tangerina, limão, maçã, mamão, goiaba, melão e abacate. A quantidade produzida de frutas no mesmo período foi de 823.284 toneladas e o valor da produção nacional foi equivalente a cerca de 267 milhões de dólares. A região Nordeste é responsável por 70,89 % da produção nacional de maracujá e o principal estado produtor é a Bahia com o Ceará ocupando a segunda posição (IBGE, 2014).

Embora seja o maior produtor, o Brasil não se enquadra como maior exportador do maracujá. As exportações são incipientes e se restringem à fruta fresca e, sobretudo, ao suco concentrado. Devido ao mercado interno consumir quase a totalidade da produção, as exportações da fruta fresca abrangem somente 1,5 % do total das exportações de maracujá do Brasil. A maior parcela da exportação é representada pelos sucos concentrados, que atingem as melhores cotações e ganhos em divisas. Estes são atualmente comercializados de forma mais intensa com Holanda, Porto Rico, Estados Unidos, Alemanha e Japão, os quais importam 76 % do suco concentrado produzido no país (MELETTI, 2011).

A produtividade média do maracujá no Brasil, correspondente a 14 t/ha, também é considerada baixa. Estudos com sementes melhoradas geneticamente demonstram o potencial dos maracujazeiros para produzirem 50 t/ha/ano de frutos quando em associação às tecnologias indicadas para cultura (BORGES et al., 2005). Entre os fatores que contribuem para a baixa produtividade está a pouca experiência dos agricultores com o maracujazeiro; a falta de variedades melhoradas e sementes selecionadas; falta de informações para o manejo do solo, água e planta; incidência de insetos-praga, assim como a ocorrência de

doenças, na parte aérea e no sistema radicular (LIMA et al., 2011).

## 2. Fusariose do maracujazeiro

O maracujazeiro é suscetível a uma série de doenças que provocam a redução da vida útil das plantações e consequentes prejuízos na produção. A intensificação das doenças a partir do primeiro ano de cultivo levou os produtores a reduzirem o tempo de exploração da cultura. Vários fatores contribuem para o surgimento e agravamento de doenças, entre eles condições climáticas favoráveis, cuidados fitossanitários insuficientes e o cultivo prolongado sobre uma mesma área. Quando os problemas fitossanitários atingem proporções maiores, a tendência dos produtores é o abandono da cultura que será então explorada por outros produtores em áreas relativamente próximas, mas livres de contaminação (REITER; HEIDEN, 1998).

Os fungos representam um grande problema para a cultura do maracujazeiro visto que são capazes de afetar todas as partes da planta - raízes, caule, folhas, flores e frutos - desde a fase de sementeira até a fase adulta. Estes microrganismos podem atingir a parte aérea do maracujazeiro induzindo a doenças como antracnose, septoriose, verrugose e mancha alternária; entretanto, os problemas fitossanitários mais sérios estão envolvidos com os fungos habitantes de solo, que causam doenças como o tombamento de mudas e as murchas provocadas pelos fungos *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*, *Fusarium solani* e espécies do gênero *Phytophthora* (SANTOS FILHO; SANTOS, 2003).

A fusariose é uma das principais doenças do maracujazeiro promovendo a murcha irreversível das plantas e consequente morte em qualquer fase do seu desenvolvimento. A ocorrência dessa doença tem levado a perda de plantios inteiros em estados produtores do Nordeste e Sudeste do país e reduzido o ciclo produtivo do maracujá de cinco para até um ano (DIAS, 2000). Os agentes causais da fusariose são o *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*, específico de passifloráceas, e o *Fusarium solani*, que atinge vários outros gêneros de plantas como fumo, batatinha, feijão, pimentão e beterraba (SANTOS FILHO; SANTOS, 2003).

O gênero *Fusarium* é composto por fungos necrotróficos, habitantes do solo e fitopatogênicos, com muitas espécies provocando sérias doenças em plantas por todo o mundo. *Fusarium oxysporum* leva a murcha vascular em muitas

culturas, incluindo a do maracujá, enquanto outras espécies, como *Fusarium solani*, causam podridão de raiz, tronco e sementes que é acompanhada pela produção de micotoxinas. *F. oxysporum* possui mais de 120 *formae specialis* (f. sp.) de acordo com os hospedeiros que infectam. Algumas espécies de *Fusarium*, a exemplo o *F. solani*, apresentam tanto a forma teleomórfica quanto a forma anamórfica, enquanto em outras, como o *F. oxysporum*, a forma teleomórfica é desconhecida. Os esporos assexuais destes fungos são os microconídios, macroconídios e os clamidósporos (AGRIOS, 2004).

A doença provocada pelo *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* é uma das mais temidas pelos produtores, pois provoca a morte da planta em um curto período de tempo, em média duas semanas, em razão do bloqueio dos vasos xilemáticos (NOGUEIRA, 2007). O desenvolvimento de fungos fitopatogênicos no xilema pode impedir o transporte da água para as partes superiores da planta (AGRIOS, 2004). Assim, o primeiro sintoma observado da doença é a murcha localizada nos ramos ponteiros. Posteriormente, ocorre uma murcha generalizada, onde as folhas permanecem aderidas à planta, porém com aspecto de cartucho. Se forem realizados cortes longitudinais no tecido do xilema serão observadas estrias de tonalidade ferruginosa ocasionadas por células cromáticas que contribuem na impermeabilização e obstrução do lenho (SANTOS FILHO; LARANJEIRA, 2004).

A disseminação do patógeno ocorre a princípio em pequenos focos isolados, partindo posteriormente de uma planta à outra de forma radial, por meio do solo ou de restos culturais contaminados (LIMA et al., 1999). São condições favoráveis para a ocorrência da fusariose, uma faixa de temperaturas entre 20 a 25 °C associada a umidade relativa do ar elevada e plantio sobre solos arenosos (VIANA et al., 2003). O controle da doença é considerado muito difícil em razão da sua capacidade de sobreviver em restos culturais e permanecer no solo, na forma de estruturas de resistência, como clamidósporos. As medidas preventivas são as mais indicadas, bem como métodos para regulação das condições favoráveis à doença (SANTOS FILHO et al., 2002).

### **3. Manejo integrado da fusariose**

Diversas técnicas são propostas para minimizar danos causados por problemas fitossanitários, muitas destas, entretanto, podem levar à contaminação do meio ambiente ou provocar alterações que tornam o agroecossistema

insustentável caso não sejam conduzidas de maneira adequada. Mesmo as técnicas biocompatíveis, de forma isolada, não têm sido suficientes para que o controle adequado seja atingido, sendo necessário manejar as doenças de forma integrada (BETTIOL; MORANDI, 2009).

O manejo integrado de doenças de plantas é um manejo onde todas as técnicas disponíveis são utilizadas em um programa unificado para manter a população de patógenos abaixo do limiar de dano econômico reduzindo os possíveis efeitos prejudiciais à natureza (NAS, 1969). Diversos métodos, sejam eles culturais, mecânicos, físicos, biológicos, legislativos ou de resistência genética, podem ser integrados de maneira harmoniosa com o objetivo de prevenir e reduzir a intensidade das doenças (BETTIOL; MORANDI, 2009).

No contexto de busca pela sustentabilidade, a utilização do controle biológico e/ou cultural, apresenta grande destaque no manejo de doenças de plantas. O controle cultural das doenças radiculares consiste basicamente na manipulação das condições de pré-plantio e desenvolvimento do hospedeiro em detrimento do patógeno, objetivando benefícios como a indução da supressividade do solo, a supressão do aumento e/ou a destruição do inóculo existente, o escape das culturas ao ataque potencial do patógeno e a menor suscetibilidade da planta às doenças pela regulação do seu crescimento (PALTI, 1981).

Tarigan et al. (2013) avaliaram a dosagem ideal do agente de biocontrole *Trichoderma harzianum* e tipos de adubo para diminuir a porcentagem de plantas murchas e a intensidade da fusariose provocada por *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae*. A melhor dosagem foi com o uso de *T. harzianum* misturados em 42 g de sementes de milho cozido no vapor/kg de solo, onde houve uma redução da murcha de 93,34% em comparação com o controle. A aplicação do esterco de gado também contribuiu de forma significativa para redução das murchas. Enquanto os fungos *Trichoderma* são conhecidos produtores de enzimas líticas prejudiciais às hifas do patógeno, provavelmente o esterco de gado favoreceu o crescimento destes antagonistas, uma vez possui grande conteúdo de celulose, um polissacarídeo complexo, que pode ser utilizado como fonte nutricional.

O trabalho de Fang et al. (2012) vislumbra a possibilidade do uso de práticas culturais de maneira integrada para o controle da fusariose do morangueiro, provocada pelo *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*. As práticas avaliadas foram

rotação de culturas, modificação do pH do solo, alterações do solo com adubo (esterco de galinha) e alterações do solo com resíduos culturais (palhada de ervilha). Foi observado que, na rotação entre morango e tomate, a doença se apresentava menos severa. Havia ainda uma menor redução do peso seco da parte aérea e da raiz das plantas afetadas em comparação com a rotação realizada com pimentão ou no sistema sem rotação. As diferenças notadas seriam provavelmente devido à capacidade diferenciada das culturas em aumentar, diminuir ou manter a densidade populacional deste fungo.

O pH do solo também teve forte influência na severidade e impacto da fusariose. A doença se apresentou mais severa em solo ácido, com pH de 5,2 e 5,8, do que em solo com pH próximo ao neutro, de 6,7. Ainda ficou demonstrado no estudo que a correção do solo com adubo à base de esterco de galinha em 5,0% e com resíduos culturais em 2,5% ou 5,0% reduziram significativamente a fusariose nos morangueiros. Contudo, o efeito pode ser variável a depender dos níveis adicionados ao solo. Quando houve uma alteração maior do solo com adubo ou resíduos de culturas em uma alta taxa de 10% não houve redução significativa da murcha. Assim, os autores recomendam a adoção da calagem do solo e o uso dos resíduos orgânicos nas dadas proporções para contribuir ainda mais com o eficiente manejo da murcha do morangueiro (FANG et al., 2012).

Toledo-Souza et al. (2012) avaliaram o efeito de cultivos prévios e sistemas de preparo do solo sobre a incidência da murcha-de-fusário em feijoeiro comum causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Observaram que a incidência da fusariose foi menor nas sucessões com braquiária (*Urochloa brizantha*), milheto (*Pennisetum glaucum* cv. BN-2), braquiária consorciada com milho (Sistema Santa Fé) e capim Mombaça (*Panicum maximum* cv. Mombaça); e maior em sucessões com sorgo (*Sorghum bicolor* cv. BR 304), estilosantes (*Stylosanthes guianensis* cv. Mineirão), crotalária (*Crotalaria spectabilis*) e guandu (*Cajanus cajan*). Quanto aos sistemas de plantio, a incidência da doença se mostrou mais elevada no sistema de plantio direto do que no preparo convencional do solo independente das culturas em sucessão.

Scott et al. (2012), visando o uso da resistência genética e rotação de culturas em um programa de manejo integrado da fusariose da alface, avaliaram a suscetibilidade de cultivares à murcha provocada por *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* e a viabilidade do inóculo do patógeno no solo. A maioria dos cultivares testados

não foram resistentes à doença, que se mostrou mais severa com o aumento da densidade do inóculo no solo e da temperatura. As alfaces do tipo “Leaf” e do tipo romana, entretanto, apresentaram cultivares altamente resistentes à doença em todas condições do teste. A densidade do inóculo, obtido do solo de campo de alface naturalmente infestado, diminuiu em 86% após 12 meses. Após 34 meses esta quantidade era correspondente a apenas 0,5% da população inicial. Desta forma, manter a área livre da cultura da alface por 1 ano – com a rotação de culturas - reduz substancialmente a densidade do inóculo do patógeno e com isso a severidade da doença.

Carvalho (1989) estudando o efeito de diferentes densidades populacionais de feijão em consórcio com o maracujá-amarelo observou que a produtividade do maracujazeiro não foi influenciada pelas densidades populacionais do feijão, mas a produção de feijão aumentou à medida que aumentaram o número de fileiras de feijão entre as linhas de maracujá. Desse modo, as práticas culturais além de contribuírem para o controle de doenças tais como a fusariose, podem ainda colaborar com o aumento da produção, sendo possível o uso associado destas com controle biológico em um programa de manejo integrado sustentável e lucrativo.

### **3.1. Consórcio de culturas**

Uma prática cultural aplicada em muitas partes do mundo para o aumento da produtividade é o consórcio de culturas (CHAI et al., 2013). Esta prática, empregada sobretudo nas pequenas propriedades rurais dos países em desenvolvimento, é definida como o cultivo de duas ou mais culturas simultaneamente em uma mesma área (MUNZ et al., 2014) e constitui uma forma de aumentar a diversidade de um agroecossistema (MOUSAVI; ESKANDARI, 2011).

Nos ecossistemas naturais a diversidade é uma característica inerente. Embora existam variações no grau de diversidade dos diferentes ecossistemas, a tendência é que esta seja tão grande quanto possível, dadas as restrições ambientais. O produtor pode obter as vantagens da diversidade incluindo novas espécies aos sistemas de cultivo. A diversificação conduz a modificações positivas nas condições abióticas, como o favorecimento de uma diversidade de *micro-habitats* que atrairá uma série de organismos como antagonistas benéficos,



não reunidos caso o cultivo fosse uniforme e simplificado (GLIESSMAN, 2008).

Os sistemas consorciados são adotados por apresentarem uma série de vantagens como o incremento da rentabilidade por unidade de área cultivada; aproveitamento de áreas limitadas; diversificação da dieta; melhoria no uso dos recursos do solo; aumento da produtividade, sobretudo quando espécies se beneficiam mutuamente, e redução de danos por plantas daninhas, pestes e doenças. Entre outros benefícios está a redução do risco de perda total da produção, pois caso uma cultura falhe a renda de outras irá compensá-la, e o uso mais eficiente da mão de obra (MONTEZANO; PEIL, 2006).

O interesse em práticas sustentáveis, como o consórcio, é crescente em virtude dos problemas causados pela monocultura e uso de fertilizantes (MACHADO, 2009). A prática da monocultura aumenta a vulnerabilidade das culturas às doenças, o que leva, por consequência, a um aumento no uso de defensivos agrícolas, contribuindo para a elevação dos custos de produção, riscos à saúde humana e contaminações ambientais (MAREDDIA; PINGALI, 2001). O uso excessivo e incorreto de fertilizantes, por sua vez, causa sérios problemas ambientais como poluição de águas superficiais e subterrâneas (BAYRAMOGLU; CHAKIR, 2016), aumento gradual da acidez do solo (SCHRODER et al., 2011) e volatilização da amônia (SAVCI, 2012), além de alcançarem um custo cada vez mais alto (HUANG, 2007).

CAO et al. (2015), com o objetivo de avaliar a eficácia no controle da ferrugem da listra e oídio bem como os rendimentos no campo, testaram o consórcio de três variedades de trigo de inverno com batata, milho, girassol, pimenta, gergelim e soja debaixo de diferentes condições ecológicas em Tianshui, Província de Gansu na China, entre os anos de 2007 a 2009. Os consórcios entre trigo e milho, e trigo e girassol resultaram em uma redução significativa das doenças, bem como aumento significativo no rendimento, enquanto que, o trigo consorciado com batata e com pimenta, apresentaram somente um aumento significativo no rendimento. A partir destes resultados, a adoção de sistemas de consórcio seria proveitosa na região sul de Gansu, onde as máquinas não alcançam as plantações devido à paisagem montanhosa.

ZHU et al. (2000), conduzindo testes de larga escala em campo, investigaram o controle de brusone pelo consórcio entre variedades de arroz com diferentes resistências à doença. A severidade da doença nas variedades de

arroz suscetíveis cultivadas em combinação com variedades resistentes foi 94% menor do que quando cultivadas em monocultura. A produção foi 89% maior na condição de consórcio. Em razão da própria distância genética entre as plantas, provavelmente, o principal mecanismo que influenciou na redução da severidade foi a diminuição do inóculo de uma determinada raça patogênica. Somado a este fator, as diferentes alturas entre as variedades, onde as suscetíveis são mais altas que as não suscetíveis, provocaram uma condição de temperatura, umidade e luz que foi menos propícia à doença.

Um benefício do uso do consórcio é a melhoria dos atributos do solo bem como incremento e manutenção da matéria orgânica, sobretudo quando são utilizadas leguminosas (COELHO et al., 2013). O consórcio entre plantas de coberturas e culturas perenes, por sua vez, constitui um dos melhores recursos para diminuir a erosão do solo, uma vez que os resíduos destas culturas impedem as gotas de chuva de desagregar as partículas de solo, favorecendo assim a infiltração da água. Além disto, estas culturas também contribuem para melhoria das propriedades físico-químicas e biológicas do solo (BALOTA; AULER, 2011).

O cultivo consorciado pode ser realizado entre gramíneas e culturas comerciais a fim de prover alimentos para os animais via ensilagem (LEONEL et al., 2008). No Brasil, as culturas do sorgo (*Sorghum bicolor*), milho (*Zea mays*) e milheto (*Pennisetum glaucum*) têm sido usualmente relatadas para este fim (AMIN; MELLO, 2009). A ensilagem consiste em uma técnica para conservar as forragens por meio do corte, picagem, compactação e vedação em silos das plantas visando a fermentação anaeróbica. No semi-árido brasileiro consiste em uma prática bem consolidada de conservação para alimentar os animais em períodos de seca (SANTOS, 2008).

### **3.2 Controle biológico**

Práticas culturais, como o consórcio, podem ser empregadas para reforçar o controle biológico (LAZAROVITS et al., 2014), um fenômeno que ocorre na natureza onde o número de organismos é regulado por seus inimigos naturais, que compõem os agentes de mortalidade biótica (PARRA et al., 2002). Os microrganismos podem inibir o crescimento e reprodução de outros, até mesmo levando morte destes, por meio de uma série de mecanismos a fim de competir por alimento, espaço e nichos ecológicos, por exemplo (ROMEIRO, 2007).

O uso empírico de microrganismos no controle de doenças de plantas remonta de muitos anos. Os egípcios, 5.000 a.C., já se beneficiavam com as inundações cíclicas do Rio Nilo que, ao cobrir as margens cultiváveis, permitiam a atuação de antagonistas a *Sclerotium cepivorum*, protegendo a cultura da cebola deste fungo fitopatogênico (COOK; BAKER, 1983). Os primeiros trabalhos com a introdução intencional de antagonistas no solo ocorreram no início do século XX, a exemplo, o trabalho de Hartley que, em 1921, introduziu fungos com potencial antagonista sobre solo de viveiros de essências florestais, para o controle do tombamento.

Os microrganismos, mencionados como inimigos naturais ou antagonistas, atuam normalmente por meio de mecanismos de antibiose, predação, competição, parasitismo, indução de defesa do hospedeiro e hipovirulência (PAL; GARDENER, 2006). O controle biológico pode ser utilizado de forma intencional pelo homem: pela introdução de estirpes selecionadas de agentes de biocontrole ou por meio de práticas agrônômicas que venham a favorecer as populações naturais dos antagonistas (ALABOUVETTE et al., 2006).

Atualmente o controle biológico vem adquirindo destaque crescente em programas de manejo integrado em meio a discussões sobre produção integrada no sentido de uma agricultura sustentável (PARRA et al., 2002). A importância do controle biológico baseia-se, sobretudo, na condução da lavoura sem ou com baixo uso de defensivos químicos, evitando danos ao homem bem como contaminação do solo, da água e do ar, obedecendo assim princípios fitossanitários da agroecologia (ARAÚJO et al., 2010).

Um critério básico a ser observado na escolha de um agente de biocontrole é que este interfira de alguma forma no desenvolvimento do patógeno ou ainda reduza a doença (MELO, 1998). Algumas características são apontadas como vantajosas nestes microrganismos como a habilidade para o desenvolvimento sob condições adversas; alta eficácia contra o patógeno alvo, não comprometendo os organismos não-alvo; fácil produção e utilização; boa capacidade de competição com os micróbios indígenas e persistência no ambiente por um período de tempo aceitável, dentre outras (BOYETCHKO, 1999).

Os testes para identificação das espécies ou isolados de agentes de controle biológico devem progredir de uma condição de laboratório, para em seguida testes em câmara de germinação ou casa de vegetação e, por último, testes em

campo (MACHADO, 1999; MELO, 1998). Os agentes mais utilizados e estudados são fungos dos gêneros *Trichoderma* e bactérias dos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas* (BETTIOL; MORANDI, 2009).

Os fungos do gênero *Trichoderma* estão dentre os mais estudados por exibirem qualidades desejáveis, tais como ação micoparasítica, competição por nutrientes, produção de antibióticos, além de fácil isolamento e rápido crescimento em uma grande quantidade de substratos (CUBILLOS et al., 2011). Entre as bactérias envolvidas na supressividade de doenças, as dos gêneros *Pseudomonas* e *Bacillus*, destacam-se, por sua vez, pela abundante ocorrência no solo e por atuarem diretamente, por meio de mecanismos como antibiose e competição, podendo ainda promover o crescimento das plantas (BETTIOL; MORANDI, 2009).

### **3.2.1 Controle biológico com rizobactérias**

As rizobactérias têm sido bastante estudadas nas últimas décadas para o incremento da produção agrícola como promotoras do crescimento de plantas (CHEN et al., 1996; GAO et al., 2015) e como agentes de biocontrole de doenças (LIU et al., 1995; MARTINS et al., 2013; PAL et al., 2001). Em diversas pesquisas é possível verificar estes microrganismos suprimindo doenças causadas por patógenos de plantas em culturas economicamente importantes como tomate (ROCHA; MOURA, 2013), trigo (LUZ, 2001), eucalipto (SANTIAGO et al., 2015) e citrus (AMORIM; MELO, 2002).

As rizobactérias compreendem um grupo de microrganismos capazes de colonizar a rizosfera, ou seja, a zona de influência do sistema radicular das plantas (KENNEDY et al., 2005), bem como o rizoplane. Nestas regiões ocorre uma proliferação microbiana em decorrência da abundante disponibilidade de compostos orgânicos de fácil assimilação desprendidos pelas raízes (MELO, 2000). Deste modo, a biomassa e a atividade microbiana, se apresentam, em geral, muito mais elevadas na rizosfera e rizoplane do que no solo circundante (BRIMECOMBE et al., 2007).

Os compostos orgânicos liberados pelas raízes englobam lisados, liberados pela autólise de células e tecidos descartados, células da borda da raiz intactas e exsudatos radiculares, que são substâncias emitidas de forma passiva (difusas) ou ativa (secreções) a partir de células de raízes intactas (NEUMANN;

RÖMHELD, 2007). Muitos autores, pela dificuldade em diferenciar os exsudatos de compostos orgânicos vindos de outras fontes, como lisados, classificam exsudatos como todas as substâncias orgânicas lançadas por meio de raízes saudáveis intactas para o ambiente (BRIMECOMBE et al., 2007).

A exsudação de uma série de compostos químicos tem a capacidade de alterar as propriedades físico-químicas do solo e, desta maneira, regular a estrutura da comunidade microbiana na rizosfera. Alguns compostos atuam como chamarizes químicos para um vasto número de comunidades microbianas do solo heterogêneas, diversas e metabolicamente ativas (DAKORA; PHILLIPS, 2002), enquanto outros agem como repelentes contra microrganismos. A composição dos exsudatos depende do estado fisiológico, da microbiota e das espécies de plantas (KANG et al., 2010).

A composição da comunidade vegetal influencia de modo significativo a composição e diversidade bem como a atividade das comunidades microbianas do solo (JOHNSON et al., 2003; MARSCHNER et al., 2001;). Existem evidências de que, pela rizodeposição, as plantas selecionem ativamente as comunidades microbianas que possam lhes fornecer recursos do solo limitados (HAMILTON; FRANK, 2001). Da mesma forma, uma comunidade microbiana com uma composição específica e diversidade funcional pode selecionar uma comunidade vegetal que garanta o fornecimento de compostos de carbono favoráveis (RILLIG, 2004; WARDLE, 2005).

As rizobactérias também podem favorecer o crescimento das plantas de forma direta, fornecendo algum composto sintetizado pelas bactérias e facilitando a absorção de determinados compostos do ambiente, ou de forma indireta, por meio da prevenção e diminuição dos efeitos danosos de um ou mais fitopatógenos (GLICK, 1995). Neste sentido lançam mão de mecanismos diretos de antagonismo contra os patógenos, tais como a antibiose (KURABACHEW; WYDRA, 2013), competição por nutrientes (ELLIS et al., 2000), competição por nichos ecológicos (BOLWERK et al., 2003), produção de compostos voláteis e difusíveis inibitórios (HERNÁNDEZ-LEÓN et al., 2015), produção de enzimas (XU et al., 2004), entre outros mecanismos. Certas rizobactérias podem atuar ainda de forma indireta induzindo a resistência sistêmica em plantas (ZHANG et al., 2002).

Hariprasad et al. (2011) estudaram o potencial de rizobactérias produtoras de quitinase para o biocontrole da fusariose do tomateiro encontrando um isolado,

da espécie *Bacillus subtilis*, capaz de reduzir significativamente a severidade da murcha, em casa de vegetação. O estudo revelou que, ao utilizar uma suplementação de quitina em combinação com o isolado, o crescimento da planta é favorecido, bem como a capacidade do antagonista colonizar as raízes do tomateiro e reduzir a severidade da doença. Alterações com indutores podem favorecer a resistência às doenças pelo estímulo dos mecanismos de defesa do hospedeiro ou estímulo das populações antagonistas.

Hernández-Montiel et al. (2013) estudaram o uso combinado de rizobactérias *Pseudomonas* e fungos micorrízicos arbusculares (FMA) no biocontrole da podridão radicular causada por *F. oxysporum* em mamoeiro. A inoculação combinada, em comparação com a inoculação independente de cada microrganismo, apresentou uma maior porcentagem de proteção (85 %), um menor nível de severidade da doença (10 %) e reduziu a colonização do patógeno nas mudas de mamoeiro. O trabalho indicou a ocorrência de um efeito mutualístico que inclusive favoreceu o aumento de biomassa.

Faheem et al. (2015) avaliaram o potencial de biocontrole de rizobactérias contra *F. oxysporum* f. sp. *niveum*, causador da fusariose nas plantas de melancia. Uma cepa de *Streptomyces goshikiensis* apresentou, *in vitro*, capacidade de inibir uma ampla gama de fungos fitopatogênicos, atividade das enzimas quitinase,  $\beta$ -1,3-glucanase, catalase e urease, bem como produção de compostos difusíveis e voláteis. Em casa de vegetação, a murcha foi reduzida em 67% quando aplicado no solo do viveiro e dos vasos um fertilizante orgânico enriquecido com a cepa. O tratamento mostrou uma redução de 88,9% na população do patógeno em relação a do controle.

Silva et al. (2013) testaram actinomicetos, obtidos da rizosfera de plantas do cerrado baiano, como agentes de biocontrole para *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae*, verificando, em condições de laboratório, que todos apresentavam efeito antagônico significativo sobre o crescimento micelial do patógeno quando comparados com a testemunha, a partir do sétimo dia de avaliação. Os autores supõem que o mecanismo utilizado pelos actinomicetos foi a antibiose, por ser uma característica comum destes microrganismos a produção de antibióticos antifúngicos.

#### 4. Atividade microbiana no solo

Um problema enfrentado pelo uso do controle biológico é que muitas vezes o antagonista selecionado como agente de biocontrole apresenta excelente desempenho nos ensaios *in vitro*, razoável em casa de vegetação e limitado em campo (BASHAN, 1998). A atividade de biocontrole variável e menor sobrevida após a adição ao solo, devido a fatores bióticos e abióticos variáveis, constituem os maiores empecilhos para a aplicação prática de potenciais agentes de controle biológico (SCHNIDER-KEEL et al., 2001).

Ausências de correlações entre testes de inibição *in vitro* e desempenho de agentes de biocontrole em condições de campo têm sido relatadas em muitos trabalhos. Burr et al. (1996) não encontraram correlação entre a capacidade *in vitro* de produzir antibióticos de bactérias e leveduras contra *Venturia inaequalis* com a eficácia destes microrganismos no biocontrole da sarna de macieira, em casa-de-vegetação. Provavelmente as variações nas condições ambientais da estufa afetaram a sobrevivência e atividade biológica dos agentes de biocontrole. De igual modo, Milus e Rothrock (1996) notaram que estirpes bacterianas com maior produção de antibióticos não demonstraram eficácia em campo contra a podridão de raiz do trigo causada por *Pythium* spp.

O insucesso do biocontrole sob condições mais próximas as de campo pode ser explicado pela dificuldade natural em se controlar as variáveis e por falhas na seleção dos antagonistas. Carrer Filho (2002), selecionando agentes de biocontrole para doenças do tomateiro, encontrou microrganismos com grande potencial de biocontrole, tanto *in vitro* quanto em casa de vegetação, contra *Phytophthora infestans*, mas estes foram, entretanto, incapazes de interromper surtos da doença provocada pelo patógeno quando aplicados em condições de campo.

Uma série de fatores ambientais, como, umidade, radiações, temperatura, entre outros, e, sobretudo, a dinâmica entre estes fatores, podem comprometer a eficiência dos agentes de biocontrole, afetando sua capacidade de sobrevivência. Slesman e Leben (1976), investigando bactérias antagonistas a *Bipolaris maydis* em milho, verificaram que 96 a 99% das células de um isolado capaz de reduzir em 86 a 100% o número de lesões foliares em condições ideais de ambiente controlado, não eram capazes de sobreviver após uma hora sobre condições de baixa umidade.

Níveis inconstantes de controle das doenças podem ser explicados devido a menor adaptação dos agentes de biocontrole introduzidos no solo, cuja atividade e sobrevivência não podem ser comparáveis a da miríade de patógenos bem adaptados a ele. Diante desta situação, alguns trabalhos têm dado uma maior ênfase na manipulação do sistema de cultivo para gerenciar microrganismos benéficos residentes da rizosfera como um meio de suprimir fitopatógenos no solo. Uma das estratégias empregadas é o cultivo de espécies de plantas específicas ou a aplicação de alterações no solo, visando aumentar de forma seletiva as comunidades rizobacterianas supressoras da doença (MAZZOLA, 2007).

Diferentes espécies de plantas de cobertura influenciam os componentes microbianos de forma distinta, não somente pelo conteúdo nutricional e quantidade de resíduos que fornecem, mas pela liberação de compostos orgânicos por meio do sistema radicular. Os exsudatos radiculares são utilizados pelos microrganismos para aumento de sua diversidade, número e atividade na rizosfera, servindo como fonte energética e nutricional para estes. Assim, constituem uma das maiores fontes de substrato para a biomassa microbiana do solo (BALOTA; AULER, 2011).

Postma et al. (2008), estudando a supressividade dos solos e sua correlação com a microbiota em sistemas agrícolas orgânicos, observaram que o plantio de capim-trevo, durante o período de um ano, sobre campos aráveis estimulou a supressão de *Rhizoctonia solani*, um fungo patogênico causador de podridão da raiz e tombamento de beterraba. Com a identificação da composição microbiana dos isolados inibidores foi possível reconhecer a presença de antagonistas dos gêneros *Streptomyces*, *Lysobacter* e *Pseudomonas*. O gênero *Lysobacter*, em especial, foi visivelmente estimulado pelo crescimento do capim-trevo.

Mazzola e Gu (2000) avaliaram o impacto de cultivares de trigo na composição da comunidade microbiana e crescimento de macieiras em solos de pomares de replantação. Os resultados dos estudos demonstraram que o uso da cultivar Penewawa como pré-plantio, antes da renovação do pomar de macieira, pode reduzir a infecção da raiz por *Pythium* spp. e *Rhizoctonia* spp., melhorando o crescimento de macieiras em solos de replantio. A redução da incidência da infecção causada por estes fungos em resposta ao cultivo do solo com esta cultivar de trigo foi associada com mudanças na composição das populações de



pseudomonas fluorescentes nos solos do pomar com favorecimento de *P. putida*, um forte antagonista destes fungos.

Um meio de investigar qual espécie mais estimula a atividade biológica dos antagonistas é verificando a atividade destes em solo cultivado com algum vegetal. Esta verificação pode ser realizada a partir da análise do quociente metabólico, obtido a partir da estimativa do carbono da biomassa microbiana do solo e da respiração microbiana (SAVIOZZI et al., 2002). As atividades enzimáticas do solo, tais como as das enzimas fosfatases, desidrogenases e arilsulfatases, podem ainda fornecer informações indiretas sobre a atividade microbiana, visto que organismos metabolicamente ativos produzirão uma maior quantidade de enzimas (ANDRADE; SILVEIRA, 2004).

A biomassa microbiana corresponde a parcela viva da matéria orgânica, formada por fungos, bactérias e elementos da microfauna que contribuem para diversas funções essenciais do solo como a ciclagem de nutrientes, decomposição da matéria orgânica (D' ANDRÉA et al., 2002), além de promoverem o controle biológico (ARAÚJO; MONTEIRO, 2007). Esta biomassa atua como um indicador de qualidade do solo uma vez que os microrganismos respondem rapidamente a alterações na qualidade do solo superando os indicadores químicos e físicos (D' ANDRÉA et al., 2002).

Os métodos do clorofórmio-fumigação-incubação (CFI) e clorofórmio-fumigação-extração (CFE) são os mais empregados para determinar a biomassa microbiana do solo e baseiam-se na esterilização de uma parcela das amostras de solo pela fumigação por clorofórmio. O dimensionamento da biomassa no método CFI é realizado com base no fluxo de CO<sub>2</sub> emitido de amostras do solo fumigadas e não fumigadas após 10 dias de incubação. Nas amostras não fumigadas este fluxo corresponde à respiração basal do solo e nas amostras fumigadas, à decomposição da biomassa morta pelos microrganismos que restaram. Na técnica CFE, o dimensionamento é realizado pela extração e estimativa do carbono orgânico de amostras não fumigadas e fumigadas (REIS JUNIOR; MENDES, 2007). Afim de eliminar os microrganismos, a fumigação pode ser ainda substituída pela radiação de micro-ondas (FERREIRA et al., 1999).

Embora represente um importante parâmetro para medir a qualidade do solo, a biomassa microbiana não pode informar sobre atividade biológica dos

microrganismos antagonistas, posto que podem existir grandes quantidades destes no solo na forma inativa. São, portanto, necessários indicadores que mensurem a atividade microbiana ou a condição metabólica das comunidades que ali residem (MENDES; REIS JUNIOR, 2004). Um parâmetro antigo utilizado para medir a atividade dos microrganismos é a respiração. Neste processo, microrganismos do solo ditos aeróbicos oxidam a matéria orgânica utilizando o oxigênio como aceptor final de elétrons, gerando  $\text{CO}_2$ . Estima-se a respiração tanto pelo consumo de  $\text{O}_2$  como pela liberação de  $\text{CO}_2$  (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002), porém a medição do  $\text{CO}_2$  evoluído é mais sensível uma vez que na atmosfera este gás encontra-se bem menos concentrado que o oxigênio (ARAÚJO et al., 2003). O método do CFI também pode ser utilizado para determinar a taxa de respiração microbiana (REIS JÚNIOR; MENDES, 2007).

A taxa respiratória é bastante variável conforme as modificações na umidade, temperatura e disponibilidade de nutrientes no solo, sendo necessário que haja uma padronização das amostras afim de que os dados gerados sejam mais confiáveis (ARAÚJO et al., 2003). Diante disto, a combinação das duas medidas, ou seja, biomassa e respiração, tem sido empregada fornecendo um indicador mais sensível para mensuração da atividade biológica. Este indicador, denominado quociente metabólico ( $q\text{CO}_2$ ), correspondente a quantidade de  $\text{CO}_2$  emitida por unidade de biomassa (SAVIOZZI et al., 2002).

## REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 5. ed. San Diego: Elsevier Academic Press, 922 p., 2004.
- ALABOUVETTE, C.; OLIVAIN, C.; STEINBERG. Biological control of plant pathogens: the European situation. **European Journal of Plant Pathology**, v. 114, p. 329-341, 2006.
- AMIN, W. G.; MELLO, S. P. Avaliação da qualidade de silagens de girassol, milho, sorgo e milheto em diferentes espaçamentos. **Nucleus Animalium**, v. 1, n. 1, p. 129-142, 2009.
- 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 citros. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.24, n.2, p.565-568, 2002.
- ANDRADE, S. A. L.; SILVEIRA, A. P. D. Biomassa e atividade microbianas do solo sob influência de chumbo e da rizosfera da soja micorrizada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 12, p. 1191-1198, 2004.
- ARAÚJO, A. S. F.; MONTEIRO, R. T. R.; ABARKELI, R. B. Effect of glyphosate on the microbial activity of two Brazilian soils. **Chemosphere**, v. 52, p. 799-804, 2003.
- ARAÚJO, A. S. F.; MONTEIRO, R. T. R. Indicadores biológicos da qualidade do solo. **Bioscience Journal**, v. 23, p. 66-75, 2007.
- ARAÚJO, J. M. M.; CHAGAS, M. C. M.; SILVA, N. V. **Técnicas agroecológicas aplicadas à agricultura familiar**. Natal: EMPARN, v. 14, 30 p., 2010.
- BADRI, D.; VIVANCO, J. M. Regulation and function of root exudates. **Plant, Cell & Environment**, v. 32, p. 666-681, 2009.
- BALOTA, E. L.; AULER, P. A. M. Soil microbial biomass under diferente management and tillage systems of permanente intercropped cover species in an orange orchard. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, p. 1873-1983, 2011.
- BASHAN, Y. Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. **Biotechnology Advances**, v. 16, p. 729-770, 1998.
- BAYRAMOGLU, B.; CHAKIR, R. The impact of high crop prices on the use of agro-chemical inputs in France: A structural econometric analysis. **Land Use Policy**, v. 55, p. 204-211, 2016.
- BERNACCI, L. C.; CERVI, A. C.; MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A.; NUNES, T. S.; IMIG, D. C.; MEZZONATO, A. C. Passifloraceae. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Rio Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em:

<<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB182>>. Acesso em: 06 de fevereiro de 2016.

BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de Doenças de Plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 341 p., 2009.

BOLWERK, A.; LAGOPODI, A. L.; WIJFJES, A. H. M.; LAMERS, G. E. M.; CHIN-A-WOENG, T. F. C.; LUGTENBERG, B. J. J.; BLOEMBERG, G. V. Interactions in the tomato rhizosphere of two *Pseudomonas* biocontrol strains with the phytopathogenic fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. **Molecular Plant Microbe Interactions**, v. 16, n. 11, p. 983-993, 2003.

BORGES, R. S.; SCARANARI, C.; NICOLI, A. M.; COELHO, R. R. Novas variedades: validação e transferência de tecnologia. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: Embrapa Cerrados, p. 619-638, 2005.

BOYETCHKO, S. M. Biological control agentes of canola and rapeseed diseases – status and practical approaches. In: MUKERJI, K. G; CHAMOLA, B. P; UPADHYAY, R. K. **Biotechnological Approaches in Biocontrol of Plant Pathogens**. New York: Kluwer Academic/ Plenum Publishers, p. 51-71, 1999.

BRIMECOMBE, M. J.; DE LEIJ, F. A. A. M.; LYNCH, J. M. Rhizodeposition and microbial populations. In: PINTON, R.; VARANINI, Z.; NANNIPIERI, P. **The rhizosphere: biochemistry and organic substances at the soil-plant interface**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, p. 73-109, 2007.

BRIZICKY, G. K. The genera of Turneraceae and Passifloraceae in the south-eastern United States. **Journal of the Arnold Arboretum**, v.42, n. 2, p. 204-218, 1961.

BURR, T. J.; MATTESON, M. C.; SMITH, C. A.; CORRAL-GARCIA, M. R.; HUANG, T-C. Effectiveness of bacteria and yeasts from apple orchards as biological control agentes of apple scab. **Biological Control**, v. 6, p. 151-57, 1996.

CANÇADO JÚNIOR, F. L.; ESTANISLAU, M. L. L.; PAIVA, B. M. Aspectos econômicos da cultura do maracujá. In: **A Cultura do Maracujazeiro**. Informe agropecuário. Belo Horizonte: EPAMIG, v. 21, n. 206, p. 10-17, 2000.

CAO, S.; LUO, H.; JIN, M.; JIN, S.; DUAN, X.; ZHOU, Y.; CHEN, W.; LIU, T.; JIA, Q.; ZHANG, B.; HUANG, J.; WANG, X.; SHANG, X.; SUN, Z. Intercropping influenced the occurrence of stripe rust and powdery mildew in wheat. **Crop Protection**, v. 70, p. 40-46, 2015.

CARRER FILHO, R. **Actinomicetos como agentes de biocontrole de doenças e como promotores de crescimento de tomateiro**. 2002. 72 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2002.

CARVALHO, E. F. Cultura associada de feijão com maracujá – efeitos de densidades populacionais do feijoeiro. **Ciência Agrônômica**, v. 20, n. 1/2, p. 185-190, 1989.

CERVI, A. C. Espécies de *Passiflora* L. (Passifloraceae) publicadas e descritas nos últimos 55 anos (1950 - 2005) na América do Sul e principais publicações brasileiras. **Estudos de Biologia**, v. 27, n. 61, p. 19-24, 2005.

CERVI, A. C. **Passifloraceae do Brasil: Estudo do gênero *Passiflora* L., subgênero *Passiflora***. Paraná: Fontqueria, v. 45, 92 p., 1997.

CHAI, Q.; QIN, A. Z.; GAN, Y. T.; YU, A. Z. Higher yield and lower carbon emission by intercropping maize with rape, pea, and wheat in arid irrigation areas. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 34, p. 535-543, 2013.

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

COELHO, M. S.; MENDONÇA, E. S.; LIMA, P. C.; GUIMARÃES, G. P.; CARDOSO, I. M. Qualidade da matéria orgânica de solos sob cultivo de café consorciado com adubos verdes. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 37, p. 1576-1586, 2013.

COOK, R. J.; BAKER, K. F. **The nature and practice of biological control of plant pathogens**. Minnesota: APS Press, American Phytopathological Society, 539 p., 1983.

CUBILLOS HINOJOSA, J. G.; PAEZ REDONDO, A.; MEJIA DORIA, L. Evaluación de la capacidade biocontroladora de *Trichoderma harzianum* Rifai contra *Fusarium solani* (mart.) sacc. asociado al complejo “secadera” em maracuyá, bajo condiciones de invernadero. **Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín**, v. 64, n. 1, p. 5821-5830, 2011.

CUNHA, M. **Produtividade e características de frutos de pomares de maracujá implantados com sementes originais e reaproveitadas do híbrido BRS Gigante Amarelo**. 2013. 46 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

DAKORA, F. D. PHILLIPS, D. A. Root exudates as mediators of mineral acquisition in low-nutrient environments. **Plant and Soil**, v. 245, p. 35-47, 2002.

D' ANDRÉA, A. F.; SILVA, M. L. N.; CURI, N.; SIQUEIRA, J. O.; CARNEIRO, M. A. C. Atributos biológicos indicadores da qualidade do solo em sistemas de manejo na região do cerrado no sul do estado de Goiás. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 26, p. 913-923, 2002.

DESHWAL, V. K.; DUBEY, R. C.; MAHESHWARI, D. K. Isolation of plant growth-promoting strains of *Bradyrhizobium* (*Arachis*) sp. with biocontrol potential against *Macrophomina phaseolina* causing charcoal rot of peanut. **Current Science**, v. 84, p. 443-448, 2003.

DIAS, M. S. C. Principais doenças fúngicas e bacterianas do maracujazeiro. In: **A Cultura do Maracujazeiro**. Informe agropecuário. Belo Horizonte: EPAMIG, v. 21, n. 206, p. 34-38, 2000.

ELLIS, R. J.; TIMMS WILSON, T. M.; BAILEY, M. J. Identification of conserved traits in fluorescent *pseudomonas* with antifungal activity. **Environmental Microbiology**, v. 2, p. 274-284, 2000.

FAHEEM, M.; RAZA, W.; ZHONG, W.; NAN, Z.; SHEN, Q.; XU, Y. Evaluation of the biocontrol potential of *Streptomyces goshikiensis* YCXU against *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. **Biological Control**, v. 81, p. 101-110, 2015.

FANG, X.; YOU, M. P., BARBETTI, M. J. Reduced severity and impact of Fusarium wilt on strawberry by manipulation of soil pH, soil organic amendments and crop rotation. **European Journal of Plant Pathology**, 3. ed. v. 134, p. 619-629, 2012.

FERREIRA, A. S.; CAMARGO, F. A. O.; VIDOR, C. Utilização de micro-ondas na avaliação da biomassa microbiana do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 23, p. 991-996, 1999.

FISCHER, I. H.; KIMATI, H.; REZENDE, J. A. M. Doenças do maracujazeiro (*Passiflora* spp.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, p. 467-474, 2005.

GAO, M.; ZHOU, J.; WANG, E.; CHEN, Q.; XU, J.; SUN, J. Multiphasic characterization of a plant growth promoting bacterial strain, Burkholderia sp. 7016 and its effect on tomato growth in the field. **Journal of Integrative Agriculture**, Beijing - CN, v. 14, n. 9, p. 1855-1863, 2015.

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

GLIESSMAN, S. R. **Agroecologia: processos ecológicos em agricultura sustentável**. 4. ed. Porto Alegre: Editora UFRGS, 656 p., 2008.

HAMILTON, E. W.; FRANK, D. A. Can plants stimulate soil microbes and their own nutrient supply? Evidence from a grazing tolerant grass. **Ecology**, v. 82, p. 2397-2402, 2001.

HAO, W. Y.; REN, L. X.; RAN, W.; SHEN, Q. R. Allelopathic effects of root exudates from watermelon and rice plants on *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum*. **Plant and Soil**, v. 336, p. 485-497, 2010.

HARIPRASAD, P.; DIVAKARA, S. T.; NIRANJANA, S. R. Isolation and characterization of chitinolytic rhizobacteria for the management of Fusarium wilt in tomato. **Crop Protection**, v. 30, n.12, p. 1606-1612, 2011.

HARTLEY, C. Damping-off in forest nurseries. **Bulletin of the U.S. Department of Agriculture**, v. 934, 99 p., 1921.

HERNÁNDEZ-LEÓN, R.; ROJAS-SOLIS, D.; CONTRERAS-PEREZ, M.; OROZCO-MOSQUEDA, M. D.; MACIAS-RODRIGUEZ, L. I.; REYES-DE LA CRUZ, H.; VALENCIA-CANTERO, E.; SANTOYO, G. Characterization of the antifungal and plant growth-promoting effects of diffusible and volatile organic compounds produced by *Pseudomonas fluorescens* strains. **Biological Control**, v. 81, p. 83-92, 2015.

HERNÁNDEZ-MONTIEL, L. G.; RUEDA-PUENTE, E. O.; CORDOBA-MATSON, M. V.; HOLGUÍN-PEÑA, J. R.; ZULUETA-RODRÍGUEZ, R. Mutualistic interaction of rhizobacteria with arbuscular mycorrhizal fungi and its antagonistic effect on *Fusarium oxysporum* in *Carica papaya* seedlings. **Crop Protection**, v. 47, p. 61-66, 2013.

HUANG, W. **Impact of Rising Natural Gas Prices on U.S. Ammonia Supply**, 2007. Disponível: <[www.ers.usda.gov](http://www.ers.usda.gov)>. Acesso em: 7 de fevereiro de 2016.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Produção agrícola municipal**, 2014. Disponível em: <[http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/66/pam\\_2014\\_v41\\_br.pdf](http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/66/pam_2014_v41_br.pdf)>. Acesso em: 20 de abril de 2016.

ITI TROPICALS. **Passion Fruit Producing Countries**, 2016. Disponível em: <[www.passionfruitjuice.com](http://www.passionfruitjuice.com)>. Acesso em: 07 de maio de 2014.

JENKINSON, D. S.; LADD, J. M. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. In: PAUL, E. A.; LADD, J. M. **Soil biochemistry**. New York: Marcel Dekker, v. 5, p. 415-471, 1981.

JOHNSON, D.; BOOTH, R. E.; WHITELEY, A. S.; BAILEY, M. J.; READ, D. J.; GRIME, J. P.; LEAKE, J. R. Plant community composition affects the biomass, activity and diversity of microorganisms in limestone grassland soil. **European Journal of Soil Science**, v. 54, p. 671-677, 2003.

KANG, B. G.; KIM, W. T.; YUN, H. S.; CHANG, S. C. Use of plant growth-promoting rhizobacteria to control stress responses of plant roots. **Plant Biotechnology**, v. 4, n. 3, p. 179-183, 2010.

KENNEDY, A. C. Rhizosphere. In: SYLVIA, D. M.; FUHRMANN, J.J.; HARTEL, P. G.; ZUBERER, D. A. **Principles and applications of soil microbiology**. 2. ed. New Jersey: Prentice Hall, p. 389-407, 2005.

KILLIP, E. P. The american species of Passifloraceae. **Botanical Series** (Field Museum of Natural History), v. 49, 613 p., 1938.

KURABACHEW, H.; WYDRA, K. Characterization of plant growth promoting rhizobacteria and their potential as bioprotectant against tomato bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*. **Biological Control**, v. 67, p. 75-83, 2013.

LAZAROVITS, G.; TURNBULL, A.; JOHNSTON-MONJE, D. Plant health management: biological control of plant pathogens. In: ALFEN, N. V. **Encyclopedia of Agriculture and Food Systems**. 4. ed. San Diego: Elsevier, p. 388-399, 2014.

LEONEL, F. P.; PEREIRA, J. C.; COSTA, M. G.; JÚNIOR, P. M.; LARA, L. A.; RIBEIRO, M. D.; SILVA, C. J. Consórcio capim-braquiária e milho: produtividade das culturas e características qualitativas das silagens feitas com plantas em diferentes idades. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 11, p. 2031-2040, 2008.

LIMA, A. A.; BORGES, A. L.; FANCELLI, M.; CARDOSO, C. E. L. Maracujá: sistema de produção convencional. In: PIRES, M. M.; JOSÉ, A. R. S.; CONCEIÇÃO, A. O. da. **Maracujá: avanços tecnológicos e sustentabilidade**. Ilhéus: Editus, p. 203-237, 2011.

LIMA, A. A.; FANCELLI, M. **Maracujá: uso medicinal**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2 p., 2003.

LIMA, A. A.; SANTOS FILHO, H.P.; SANTOS, C.C.F. **Fusariose em maracujá amarelo**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2 p., 1999.

LIU, L.; KLOEPPER, J. W.; TUZUN, S. Induction of systemic resistance in cucumber against *Fusarium* wilt by plant growth-promoting rhizobacteria. **Phytopathology**, v. 85, p. 695-698, 1995.

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

MACHADO, J. C. **Manejo sanitário de sementes no controle de doenças**. Lavras: UFLA/FAEPE, 82 p., 1999.

MACHADO, S. Does intercropping have a role in modern agriculture? **Journal of Soil and Water Conservation**, v. 64, p. 55-57, 2009.

MAREDA, M.; PINGALI, P. Environmental Impacts of Productivity-enhancing Crop Research: a Critical Review. **Consultative Group on International Agricultural Research Science**, 31 p., 2001.

MARSCHNER, P.; YANG, C. H.; LIEBEREI, R.; CROWLEY, D. E. Soil and plant specific effects on bacterial community composition in the rhizosphere. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 33, n. 11, p. 1437-1445, 2001.

MARTINS, S. J.; MEDEIROS, F. H.; SOUZA, R. M.; RESENDE, M. L. V.; JUNIOR, P. M. R. Biological control of bacterial wilt of common bean by plant growth-promoting rhizobacteria. **Biological Control**, v. 66, n.1, p. 65-71, 2013.



MAZZOLA, M. Manipulation of rhizosphere bacterial communities to induce suppressive soils. **Journal of Nematology**, v. 39, n. 3, p. 213-220, 2007.

MAZZOLA, M.; GU, Y. H. Impact of wheat cultivation on microbial communities from replant soils and apple growth in green-house trials. **Phytopathology**, v. 90, n. 2, p. 114-119, 2000.

MELETTI, L. M. M. Avanços na cultura do maracujá no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, n.1, p. 83-91, 2011.

MELETTI, L. M. M.; BRÜCKNER, C. H. Melhoramento Genético. In: BRÜCKNER, C.H.; PICANÇO, M.C. **Maracujá: tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 472 p., 2001.

MELETTI, L. M. M.; FURLANI, P. R.; ÁLVARES, V.; SOARES-SCOTT, M. D.; BERNACCI, L. C.; AZEVEDO FILHO, J. A. Novas tecnologias melhoram a produção de mudas de maracujá. **O Agrônomo**, v. 54, n. 1, p. 30-33, 2002.

MELETTI, L. M. M.; OLIVEIRA, J. C.; RUGGIERO, C. **Maracujá**. Jaboticabal: FUNEP, 55 p., 2010.

MELETTI, L. M. M.; SOARES-SCOTT, M. D.; BERNACCI, L. C.; PASSOS, I. R. S. Melhoramento genético do maracujá: passado e futuro. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. 1. ed. Planaltina: Embrapa Cerrados, p. 55-78, 2005.

MELO, I. S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELLO, I.S.; AZEVEDO, J.L. **Controle biológico**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, v. 1, 264 p., 1998.

MELO, I. S. Isolamento de agentes de biocontrole da rizosfera. In: MELLO, I. S. AZEVEDO, J. L. **Controle biológico**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, v. 3, p. 15-40, 2000.

MENDES, I. C.; REIS JUNIOR, F. B. **Uso de parâmetros microbiológicos como indicadores para avaliar a qualidade do solo e a sustentabilidade dos agroecossistemas**. Brasília: Embrapa Cerrados, 34 p., 2004.

MILUS, E. A.; ROTHROCK, C. S. Efficacy of bacterial seed treatments for controlling Phythium root rot of winter wheat. **Plant Disease**, v. 81, p. 180-84, 1996.

MONTEZANO, E. M.; PEIL, R. M. N. Sistemas de consórcio na produção de hortaliças. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 12, n. 2, p. 129-132, 2006.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: Editora UFLA, 626 p., 2002.

MOUSAVI, S. R.; ESKANDARI, H. A general overview on intercropping and its advantages in sustainable agriculture. **Journal of Applied Environmental and Biological Sciences**, v. 1, n. 11, p. 482-486, 2011.

MUNZ, S.; FEIKE, T.; CHEN, Q.; CLAUPEIN, W.; GRAEFF-HÖNNINGER, S. Understanding interactions between cropping pattern, maize cultivar and the local environment in strip-intercropping systems. **Agricultural and Forest Meteorology**, v.195-196, p. 152-164, 2014.

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE - NAS. **Insect-Pest Management and Control**. Washington: National Academy of Science, v. 3, 1969.

NEUMANN, G.; RÖMHELD, V. The release of root exudates as affected by the plant physiological status. In: PINTON, R.; VARANINI, Z.; NANNIPIERI, P. **The rhizosphere: biochemistry and organic substances at the soil-plant interface**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, p. 23-72, 2007.

NOGUEIRA, E. M. C. **Doenças e controle nas culturas do maracujá, nêspera e caqui**, 2007. Disponível em: <<http://www.biologico.sp.gov.br/rifib/IIIRifib/50-59.pdf>>. Acesso em: 01 de junho de 2016.

PAL, K. K.; GARDENER, B. M. Biological Control of Plant Pathogens. **The Plant Health Instructor**, v. 2, p. 1117-1142, 2006.

PAL, K. K.; TILAK, K. V.; SAXENA, A. K.; DEY, R.; SINGH, C. S. Suppression of maize root diseases caused by *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium moniliforme* and *Fusarium graminearum* by plant growth promoting rhizobacteria. **Microbiological Research**, v. 156, n. 3, p. 209-223, 2001.

PALTI, J. **Cultural practices and infectious crop diseases**. Berlin: Springer-Verlag, 243 p., 1981.

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. Controle biológico: terminologia. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. **Controle Biológico no Brasil: Parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, p. 1-16, 2002.

PEIXOTO, M. Problemas e perspectivas do maracujá ornamental. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: Germoplasma e Melhoramento Genético**. Planaltina: Embrapa Cerrados, p. 457-463, 2005.

POSTMA, J.; SCHILDER, M. T.; BLOEM, J.; LEEUWEN-HAAGSMA, W. K. V. Soil suppressiveness and functional diversity of the soil microflora in organic farming systems. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 40, n. 2, p. 2394–2406, 2008.

REIS JUNIOR, F. B.; MENDES, I. C. **Biomassa microbiana do solo**. Brasília: Embrapa Cerrados, 40 p., 2007.

REITER, J. M. W.; HEIDEN, F. C. **Maracujá**. Florianópolis: Instituto de Planejamento e Economia Agrícola de Santa Catarina, 69 p., 1998.

RILLIG, M. C. Arbuscular mycorrhizae and terrestrial ecosystem processes. **Ecology Letters**, v. 7, p. 740-754, 2004.

ROCHA, D. J. A.; MOURA, A. B. Controle biológico da murcha do tomateiro causada por *Ralstonia solanacearum* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* por rizobactérias. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, n. 5, p. 423-430, 2013.

ROMEIRO, R. S. **Controle biológico de enfermidades de plantas: fundamentos**. Viçosa: Editora UFV, 269 p., 2007.

RONCATTO, G.; OLIVEIRA, J. C.; RUGGIERO, C.; NOGUEIRA FILHO, G. C.; CENTURION, M. A. P. C.; FERREIRA, F. R. Comportamento de maracujazeiros (*Passiflora* spp.) quanto à morte prematura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, p. 552-554, 2004.

RUGGIERO, C.; JOSÉ, A. R. S.; VOLPE, C. A.; OLIVEIRA, J. C.; DURIGAN, J. F.; BAUMGARTNER, J. G.; SILVA, J. R.; NAKAMURA, K.; FERREIRA, M. E.; KAVATI, R.; PEREIRA, V. P. **Maracujá para exportação: aspectos técnicos da produção**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 64 p., 1996.

SANTIAGO, T. R.; GRABOWSKI, C.; ROSSATO, M.; ROMEIRO, R. S.; MIZUBUTI, E. S. G. Biological control of eucalyptus bacterial wilt with rhizobacteria. **Biological Control**, v. 80, p. 14-22, 2015.

SANTOS FILHO, H. P.; LARANJEIRA, F. F. Doenças causadas por fungos. In: LIMA, A. de A.; CUNHA, M.A.P.da. **Maracujá: produção e qualidade na passicultura**. Cruz das Almas-BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, p. 240-280, 2004.

SANTOS FILHO, H. P.; SANTOS, C. C. F.; CORDEIRO, Z. J. M. Doenças causadas por fungos e bactérias e seu controle. In: LIMA, A. A. **Maracujá - produção: aspectos técnicos**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura; Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 104 p., 2002.

SANTOS FILHO, H. P.; SANTOS, C. C. F. Doenças causadas por fungos. In: SANTOS FILHO, H. P., JUNQUEIRA, N. T. V. **Maracujá Fitossanidade**. Brasília-DF: Embrapa Informação Tecnológica, p. 12-21, 2003.

SANTOS, J.A. **Sistema agroecológico de produção e conservação de forragens na agricultura familiar – a experiência do sertão do pajeú - Pernambuco**. 2008. 45 f. Trabalho de conclusão de curso (Especialização) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

SAVCI, S. An agricultural pollutant: chemical fertilizer. **International Journal of Environmental Science and Development**, v. 3, p.77-80, 2012.

SAVIOZZI, A.; BUFALINO, P.; LEVI-MINZI, R.; RIFFALDI, R. Biochemical activities in a degraded soil restored by two amendments: a laboratory study. **Biology & Fertility of Soils**, v. 35, p. 96-101, 2002.

SCHRODER, J. L.; ZHANG, H.; GIRMA, K.; RAUN, W. R.; PENN, C. J.; PAYTON, M. E. Soil acidification from long-term use of nitrogen fertilizers on winter wheat. **Soil Science Society of America Journal**, v. 75, p. 957-964, 2011.

SCOTT, J. C.; GORDON, T.; KIRKPATRICK, S. C.; KOIKE, S. T.; MATHERON, M. E.; OCHOA, O. E.; TRUCO, M. J.; MICHELMORE, R. W. Crop rotation and genetic resistance reduce risk of damage from Fusarium wilt in lettuce. **California Agriculture**, vol. 66, n. 1, p. 20-24, 2012.

SEBRAE - Serviço Brasileiro de Apoio às Micros e Pequenas Empresas. **Cosméticos: a base de produtos naturais**, 2008. Disponível em: <[www.sebrae.com.br/](http://www.sebrae.com.br/)>. Acesso em: 6 de junho de 2014.

SILVA, A. S. **Avaliação de germoplasma de maracujazeiro para resistência à fusariose e caracterização molecular do agente patogênico**. 2011. 81 f. Dissertação (Mestrado em Recursos genéticos vegetais) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2011.

SILVA, J. S.; COIMBRA, J. L.; TAVARES, D. G.; AFONSO, G. O. Inibição in vitro do crescimento micelial do fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* utilizando isolados de actinomicetos obtidos da rizosfera de plantas nativas do cerrado baiano. **Natureza online**, v. 11, n. 1, p. 15-19, 2013.

SLEESMAN, J. P.; LEBEN, C. Microbial antagonists of *Bipolaris maydis*. **Phytopathology**, v. 66, p. 1214-1218, 1976.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APGII**. 3. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 768 p., 2012.

TARIGAN, R.; MARPAUNG, A. E.; OCTRIANA, L.; RISKI. The effectiveness of *Trichoderma harzianum* as biocontrol agent and manure in controlling *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* on sour passion seedlings (*Passiflora edulis* f. *edulis* Sims). **Journal of Agricultural and Biological Science**, v. 8, n. 3, p. 245-250, 2013.

TOLEDO-SOUZA, E. D.; SILVEIRA, P. M.; CAFÉ-FILHO, A. C.; LOBO JÚNIOR, M. Fusarium wilt incidence and common bean yield according to the preceding crop and the soil tillage system. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 8, p. 1031-1037, 2012.

VIANA, F. M. P.; FREIRE, F. C. O.; CARDOSO, J. E.; VIDAL, J. C. **Principais doenças do maracujazeiro na Região Nordeste e seu controle**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 11 p., 2003.

WARDLE, D. A. How plant communities influence decomposer communities. In: BARDGETT, R.D.; USHER, M.B.; HOPKINS, D.W. **Biological diversity and function in soils**. Cambridge: Cambridge University Press, p. 119-138, 2005.

XU, X.; ZHANG, L.; ZHU, Y.; TANG, W. Improving biocontrol effect of *Pseudomonas fluorescens* P5 on plant diseases through genetic modification with chitinase gene. **Journal of Agricultural Biotechnology**, v. 12, n. 4, p. 460-463, 2004.

ZHANG, S.; MOYNE, A.; REDDY, M. S.; KLOEPPER, J. W. The role of salicylic acid in induced systemic resistance elicited by plant growth-promoting rhizobacteria against blue mold of tobacco. **Biological Control**, v. 25, p. 288-296, 2002.

ZHU, Y.; CHEN, H.; FAN, J.; WANG, Y.; LI, Y.; CHEN, J.; FAN, J.; YANG, S.; HU, L.; LEUNG, H.; MEW, T. W.; TENG, P. S.; WANG, Z.; MUNDT, C. Genetic diversity and disease control in rice. **Nature**, v. 406, p. 718-722, 2000.

## CAPÍTULO II

---

Atividade de rizobactérias antagonistas a *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* em solos cultivados com milho, sorgo e milheto

## RESUMO

SANTOS, L. O. **Atividade de rizobactérias antagonistas a *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* em solos cultivados com milho, sorgo e milheto.** Cruz das Almas, 2016. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola). Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

Uma das principais doenças que acometem o maracujazeiro na região Nordeste do Brasil é a fusariose, provocada pelo *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* (Fop). Esta doença leva a morte irremediável das plantas ocasionando grande perda econômica. As rizobactérias vêm demonstrando o seu potencial como agentes de biocontrole *in vitro*, porém são necessários métodos que garantam a atividade destes microrganismos em campo, uma vez que nem sempre o controle é obtido sob estas condições. O efeito dos exsudatos radiculares na atividade microbiana é um mecanismo bem relatado e varia conforme a espécie da planta, diante disto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade de rizobactérias antagonistas a Fop em solos cultivados com milho, sorgo e milheto, em casa de vegetação. Para isto, rizobactérias foram isoladas do solo rizosférico de maracujazeiros e testadas quanto ao potencial de inibição de Fop pela produção de compostos voláteis, difusíveis e quitinases *in vitro*. Entre as rizobactérias testadas, 26,95% demonstraram atividade antagonista apresentando pelo menos um dos mecanismos de ação testados. Dos antagonistas positivos, dois produziram compostos voláteis, 21 produziram compostos difusíveis, 32 produziram quitinases e oito produziram pelo menos duas destas substâncias. Com os isolados que apresentaram pelo menos dois mecanismos de ação contra Fop foi realizado um teste de antibiose recíproca e um teste de crescimento em ampla faixa de pH. Verificou-se pelo teste de antibiose recíproca a incompatibilidade entre o isolado 76 e os demais, exceto o isolado 77, e deste com o isolado 89. Com o teste de pH foi constatado que todos isolados cresceram em uma ampla faixa de pH, variando de 5,0 a 7,0, ao terceiro dia de incubação. As seguintes combinações de rizobactérias: 1) R76 + R77; 2) R77 + R97 + R116 e 3) R77 + R95 + R104 + R120, foram aplicadas em solos cultivados com milho, sorgo e milheto, além do pousio, em casa de vegetação, para determinação do carbono da biomassa microbiana (CBM), respiração basal do solo (RBS) e quociente metabólico ( $qCO_2$ ), após 47 e 63 dias da aplicação das rizobactérias, e para determinação da atividade da enzima fosfatase ácida após 63 dias da aplicação das mesmas. Houve diferença significativa entre as espécies cultivadas, pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ), no que diz respeito aos teores de CBM, RBS,  $qCO_2$  e atividade de fosfatase ácida apenas na segunda época de amostragem, aos 63 dias. A interação entre espécies cultivadas e combinações de rizobactérias, conforme análise de variância, foi significativa ( $p < 0,05$ ) apenas para o atributo  $qCO_2$ , cujos valores tendem a ser superiores sob a cultura do milheto na combinação 3. A maior atividade da fosfatase ácida também foi obtida com a cultura do milheto. O quociente metabólico e a atividade da fosfatase ácida foram os parâmetros biológicos utilizados para determinar a cultura do milheto como a que proporcionou maior atividade dos antagonistas no solo.

**Palavras-chave:** atividade microbiana, milheto, controle biológico.

## ABSTRACT

SANTOS, L. O. **Activity of rhizobacterial antagonists to *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* in soils cultivated with maize, sorghum and millet.** Cruz das Almas, 2016. Dissertation (Master of Agricultural Microbiology). Federal University of Bahia Reconcavo.

One of the main diseases affecting the passionflower in northeastern Brazil is fusarium wilt, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* (Fop). This disease leads to irreversible death of the plants causing great economic loss. The rhizobacteria have demonstrated their potential as *in vitro* biocontrol agents, but methods are needed to ensure the activity of these microorganisms in the field, since not always control is obtained under these conditions. The effect of root exudates on soil microbial activity is a well reported mechanism and varies according to the species of the plant, on this, the objective of this study was to evaluate the activity of rhizobacterial antagonists to Fop in soils cultivated with maize, sorghum and pearl millet, in the greenhouse. For this, rhizobacteria were isolated from the rhizosphere of passion fruit and tested for potential inhibition of Fop by production of volatile compounds, diffusible and chitinase *in vitro*. Among the tested rhizobacteria, 26.95% demonstrated antagonist activity presented at least one of the tested mechanisms of action. Of the antagonists tested, two produced volatiles compounds, 21 produced diffusible compounds, 32 produced chitinases and eight produced at least two of these substances. With isolates that have at least two mechanisms of action against Fop was performed a reciprocal antibiosis growth test and a test in a wide pH range. It was verified by mutual antibiosis test the incompatibility between isolated 76 and the others, except the isolated 77, and of this with isolated 89. In the pH test revealed that all isolates grew in a wide pH range, ranging from 5.0 to 7.0 on the third day of incubation. The following combinations of rhizobacteria: 1) R76 + R77; 2) R77 + R97 + R116 and 3) R77 + R95 + R104 + R120 were applied to soils cultivated with maize, sorghum and millet, plus the fallow, in the greenhouse, to determine the microbial biomass carbon (MBC), basal soil respiration (BSR) and metabolic quotient ( $qCO_2$ ), after 47 and 63 days from the application of rhizobacteria, and determination of the enzyme acid phosphatase activity after 63 days of the application of the same. There was a significant difference between the cultivated species by Tukey test ( $p < 0.05$ ), with regard to MBC levels, RBS,  $qCO_2$  and acid phosphatase activity only in second time of sampling, to 63 days. The interaction between the cultivated species and combinations rhizobacteria, as variance analysis, was significant ( $p < 0.05$ ) only for  $qCO_2$  attribute, whose values tend to be higher under millet cultivation in combination 3. The higher acid phosphatase activity was also obtained with the millet crop. The metabolic quotient and acid phosphatase activity were the biological parameters used to determine the millet culture such as that provided greater activity of the antagonists in the soil.

**Keywords:** microbial activity, millet, biological control.



## INTRODUÇÃO

A cultura do maracujazeiro destaca-se no setor agrícola brasileiro em virtude das suas características nutricionais e fármaco-terapêuticas, alta produtividade e receptividade do suco no mercado interno, além de boa perspectiva de exportação para mercados estrangeiros como o norte-americano, canadense e japonês (LIMA, 2002). Embora a cultura desempenhe um importante papel social no país, sendo cultivada sobretudo em pequenas propriedades e contribuindo para fixação da mão de obra rural, esta vem apresentando um caráter intinerante em razão das diversas doenças ocorrentes nas regiões produtoras (MELETTI et al., 2011).

Na região Nordeste do Brasil, a fusariose é uma das principais doenças que acomete o maracujazeiro, levando a enormes perdas por provocar a morte das plantas e reduzir o período de produção da cultura nas áreas infectadas. Não existe controle curativo para a doença, sendo os defensivos ineficientes, uma vez que o sistema radicular do maracujazeiro já se encontra bastante danificado quando os primeiros sintomas da doença são visíveis. Portanto, as estratégias de controle da doença estão baseadas em medidas preventivas, como na escolha de áreas sem histórico de fusariose para a realização dos cultivos, aquisição de mudas e sementes sadias e o desenvolvimento de linhagens resistentes do maracujá-amarelo (VIANA, 2003).

A introdução periódica de agentes de biocontrole tem sido empregada de forma comercial em vários sistemas de cultivo em diversos países, estimando-se que 25% da área mundial sob esta forma de controle esteja localizada na América Latina (VAN LENTEREN; BUENO, 2003). Quando aliado a outros métodos de controle, o controle biológico se mostra como um instrumento útil em programas de manejo integrado de doenças, possibilitando a redução dos custos de produção e apresentando um menor impacto ao meio ambiente (SILVA et al., 2004). Bons resultados no controle da fusariose têm sido observados com o uso de rizobactérias devido à produção de compostos difusíveis, voláteis ou quitinases por estes microrganismos (FAHEEM et al., 2015; HARIPRASAD et al., 2011).

A detecção da produção de compostos antimicrobianos e enzimas comumente constitui uma etapa necessária para seleção de um agente de

biocontrole (FAHEEM et al., 2015). Embora testes *in vitro* sejam importantes, uma série de fatores, bióticos e abióticos, inerentes ao sistema solo, podem levar a baixa sobrevivência dos agentes quando dispostos no meio ambiente (SCHNIDER-KEEL et al., 2001). O conhecimento das condições que afetam o seu desempenho em campo bem como a adoção de práticas que favoreçam a sua permanência e atividade no solo são, portanto, de extrema importância na otimização de um programa de biocontrole (LUMSDEN; LOCKE, 1989).

As práticas agrícolas, como o cultivo consorciado, podem favorecer a atividade de agentes de biocontrole pela formação de um nicho ótimo para estes microrganismos e desfavorável para os fitopatógenos (PEREIRA; PINHEIRO, 2012). Este efeito é ocasionado em virtude da exsudação de compostos pelas plantas que atraem os microrganismos pela modificação no ambiente químico ou por proverem nutrientes necessários ao seu crescimento (MONTEIRO et al., 2012). Culturas de monocotiledôneas utilizadas na alimentação animal, podem estimular a atividade de antagonistas introduzidos constituindo ainda uma fonte de renda extra ao produtor. Deste modo, vislumbrando uma futura integração de métodos de controle (cultural e biológico) para reduzir as perdas provocadas pela fusariose o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade de rizobactérias antagonistas a *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* em solos cultivados com milho, sorgo e milheto, em casa de vegetação.

## MATERIAL E MÉTODOS

### 1. Coleta do solo da zona rizosférico

A coleta do solo rizosférico de maracujazeiros (*Passiflora edulis* fv. flavicarpa) foi realizada nos municípios de Dom Basílio (13°45'36''S; 41°46'15''W), Livramento de Nossa Senhora (13°38'34''S; 41°50'27''W) e Rio de Contas (13°34'44''S; 41°48'39''W), localizados no estado da Bahia, em áreas com histórico de fusariose. Foram escolhidos três locais de coleta por município, onde foram coletadas quatro amostras por área compondo uma amostra composta. Para a coleta das amostras foi aberta uma pequena trincheira, com auxílio de uma pá, rente às raízes de maracujazeiros com bom aspecto fitossanitário. As amostras foram conservadas em sacos plásticos e transportadas para o Laboratório de Microbiologia do Solo e Resíduos Orgânicos, da Embrapa Mandioca e Fruticultura.

### 2. Isolamento e preservação das rizobactérias de maracujazeiro

Para o isolamento das rizobactérias, de cada amostra coletada foram pesados 10 g de solo e transferidos para erlenmeyers contendo 90 mL de solução salina esterilizada (NaCl 0,85 %), adicionando-se duas gotas de Tween 80. As amostras foram mantidas sob agitação contínua por 30 minutos em temperatura ambiente. Posteriormente, com as suspensões de solo obtidas procedeu-se à diluição seriada no fator 10, até a diluição  $10^{-6}$ . Foram adicionadas alíquotas de 100  $\mu$ l das três últimas diluições seriadas em placas de Petri, em triplicata, contendo meio Ágar Nutriente (NA), e espalhadas com auxílio de uma alça de Drigalsky. Em seguida, as placas foram incubadas a 28 °C por 48 h. Colônias individualizadas foram coletadas e transferidas para tubos de ensaio contendo meio NA. A preservação das rizobactérias foi realizada adicionando-se aos tubos, após 24 h de crescimento das rizobactérias, 2 mL de meio NBY (SCHAAD, 1998) contendo glicerina (15 %) e agitando em seguida. A suspensão foi então transferida para tubos criogênicos que foram armazenados a - 80 °C.

### **3. Seleção *in vitro* de rizobactérias antagonistas a *Fusarium oxysporum* f. *sp. passiflorae***

Um total de 167 isolados rizobacterianos foram testados *in vitro* para detecção da produção de compostos difusíveis e voláteis inibidores do crescimento de Fop, e quitinases. O isolado fitopatogênico utilizado nos testes foi o isolado mitospórico 05 de Fop cedido pelo Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas - BA.

As rizobactérias que obtiveram resultado positivo em pelo menos dois testes, ou seja, oito isolados, posteriormente foram selecionadas e submetidas a ensaios de antibiose recíproca e de crescimento em diferentes valores de pH.

#### **3.1. Detecção da produção de compostos difusíveis**

Para o teste de compostos difusíveis, discos de micélio do patógeno de 1,0 cm de diâmetro foram transferidos para placas de Petri contendo meio Batata Dextrose Ágar (BDA) e incubados à temperatura ambiente. Após 48 horas, isolados distintos de rizobactérias foram semeados em posições equidistantes do centro da placa e incubados a 28 °C por sete dias. O controle consistiu de placas sem os antagonistas. A presença de um halo de inibição do crescimento micelial fúngico, procedendo-se três repetições de cada isolado para confirmação do antagonismo, foi critério de seleção da rizobactéria (OLIVEIRA, 2009).

#### **3.2. Detecção da produção de compostos voláteis**

A produção de compostos voláteis pelos antagonistas foi verificada pelo método baseado em Bharat et al. (1980), que consiste em utilizar placas sobrepostas, espalhando-se 100 µL de cada suspensão bacteriana sobre o meio NA em placa de Petri, de forma a produzir uma camada de células na superfície do meio. Após o crescimento das bactérias a 28 °C, um disco do micélio do patógeno com 7 mm de diâmetro foi depositado sobre o meio no fundo de outra placa contendo meio BDA. As tampas foram removidas e as duas placas unidas e seladas com filme de PVC. O ensaio foi realizado em duplicata e placas contendo apenas o Fop compuseram o controle. As placas foram incubadas a 25 °C, até que o micélio do fungo na placa controle atingisse o crescimento máximo. Foram considerados apenas os isolados rizobacterianos que reduziram a área de crescimento micelial do patógeno nas duas placas.

### **3.3. Detecção da produção de quitinases**

Para detecção da produção de quitinase, foi empregada a metodologia adaptada de Renwick et al. (1991), onde os antagonistas são multiplicados em meio de Sais Minerais Ágar (TUIITE, 1969), suplementado com quitina coloidal, como única fonte de carbono. Para isto, isolados rizobacterianos foram depositados em pontos distintos da superfície do meio de cada placa e estas foram incubadas a 28 °C durante 10 dias, sendo utilizadas três repetições para cada tratamento. Após o período de incubação, foi analisada a produção de quitinase constatada pela observação de um halo transparente embaixo da colônia contrastando com o restante do meio com aspecto leitoso.

### **3.4. Teste de antibiose recíproca**

Para o ensaio de antibiose recíproca o teste utilizado foi o da dupla camada, adaptado de Romeiro (2007), onde os isolados foram repicados em placas de Petri com meio NA, em sete pontos equidistantes, e incubadas por 24 horas a 28 °C. Após o crescimento rizobacteriano, 1 mL de clorofórmio foi adicionado na superfície interna da tampa de cada placa com as mesmas invertidas. Aguardou-se 20 min para que as colônias do antagonista fossem mortas. Em seguida, as placas foram entreabertas em ambiente asséptico durante 30 minutos para que os resíduos de clorofórmio fossem eliminados. A cada placa, foi adicionado 5,0 mL de meio NA semi-sólido com 0,1 mL de suspensão aquosa de células do isolado, homogeneizando em seguida. Estas placas foram incubadas a 28 °C e examinadas após 1, 2 e 5 dias para verificação da presença de halos de inibição.

### **3.5. Crescimento em diferentes valores de pH**

A avaliação do crescimento dos isolados rizobacterianos em diferentes níveis de pH foi realizada em placas de Petri contendo meio NA com valores de pH ajustados em 5,0; 5,5; 6,0 e 6,5. Como testemunha os isolados foram cultivados no mesmo meio com pH ajustado para 7,0. Para ajuste dos valores de pH abaixo de 7,0 utilizou-se HCl (1,0%). As placas foram incubadas em câmara de crescimento a 28 °C durante 7 dias, sendo observado diariamente o crescimento das rizobactérias. Foram consideradas crescidas bactérias que dobraram o diâmetro de sua colônia.

#### **4. Atividade microbiana em solo cultivado com monocotiledôneas**

A atividade de sete rizobactérias, que apresentaram o melhor desempenho nos ensaios anteriores, foi verificada, em combinação de isolados, sob solos cultivados com as monocotiledôneas: milho, milheto e sorgo e em solos sem cultivo (pousio). O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Embrapa Mandioca e Fruticultura, localizada no município de Cruz das Almas – BA.

##### **4.1. Preparo das mudas de monocotiledôneas**

Para a produção das mudas foram utilizadas sementes de milho (*Zea mays*), sorgo (*Sorghum bicolor*) e milheto (*Pennisetum glaucum*) adquiridas em horto. As culturas de monocotiledôneas foram semeadas em bandejas com solo esterilizado pelo período de trinta dias em casa de vegetação e regadas, todos os dias, com água destilada e autoclavada.

##### **4.2. Tratamento das mudas com rizobactérias e montagem do experimento**

As suspensões rizobacterianas para o tratamento das mudas foram realizadas a partir da repicagem das rizobactérias selecionadas para placas de Petri contendo meio NA, as quais foram mantidas em câmara de crescimento a 25 °C por 24h. Após este período, em cada placa, foi acrescentada água destilada e a camada de células bacterianas foi removida com auxílio da alça de Drigalsky, para formação das suspensões que foram ajustadas a uma concentração de  $10^8$  ufc mL<sup>-1</sup> no espectrofotômetro 540 nm.

Trinta dias após o semeio, no momento do transplântio para os vasos definitivos, foram aplicados, em cada vaso, 100 mL da suspensão dos antagonistas, em combinação. Após o transplântio, as mudas foram regadas em dias alternados com água destilada e autoclavada (200 mL por vaso).

Para a escolha das combinações ou mix de rizobactérias a serem testados foram estabelecidos os seguintes pré-requisitos: a) todos isolados dentro de cada combinação deveriam apresentar pelo menos dois mecanismos de antagonismo; b) toda combinação deveria possuir pelo menos um isolado apresentando os três mecanismos; c) os isolados dentro de cada combinação não poderiam inibir qualquer um deles e d) todos deveriam crescer em ampla faixa de pH (5,0 - 7,0) até o terceiro dia de incubação. Assim foram testadas as seguintes combinações: 1) R76 + R77; 2) R77 + R97 + R116; 3) R77 + R95 + R104 + R120.

O experimento foi instalado no delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 3, três culturas (milheto, milho, sorgo) mais o controle (sem cultivo) e três combinações de rizobactérias, com 6 repetições, totalizando 72 parcelas experimentais. Vasos contendo apenas solo e que receberam a suspensão de rizobactérias compuseram o controle. Cada parcela experimental foi composta por um vaso com uma planta.

#### **4.3. Coleta e padronização das amostras de solo**

Foram coletadas amostras na profundidade de 0 - 10 cm próximo às raízes em duas épocas distintas, aos 47 e aos 63 dias após a aplicação das rizobactérias, e avaliados os seguintes atributos biológicos do solo: carbono da biomassa microbiana do solo (CBM), respiração basal do solo (RBS), quociente metabólico ( $qCO_2$ ) e atividade da enzima fosfatase ácida. Esta última analisada somente na segunda época de amostragem (aos 63 dias). Antes das análises as amostras foram peneiradas, umedecidas e pré-incubadas a 25 °C na BOD por dois dias.

#### **4.4. Avaliação dos atributos biológicos**

As análises dos atributos biológicos foram realizadas no Laboratório de Microbiologia do Solo e Resíduos Orgânicos da Embrapa Mandioca e Fruticultura, localizada em Cruz das Almas – Bahia.

Para todas as análises os resultados foram representados com base no peso do solo seco. Para isto, foi determinada a umidade de cada amostra de solo e descontada nos cálculos. Esta foi determinada em porcentagem pela diferença entre o peso de 10 g de solo de cada amostra, antes e após a secagem na estufa a temperatura de 100 °C por 24 horas.

##### **4.4.1. Carbono da biomassa microbiana**

O carbono da biomassa microbiana (CBM) foi avaliado pelo método de irradiação-extração descrito por Ferreira (1999). De cada amostra foram retiradas duas subamostras de 20 g de solo, sendo uma delas irradiada. Em seguida, adicionou-se a cada subamostra 50 ml da solução extratora ( $K_2SO_4$  0,5 mol L<sup>-1</sup>), com pH ajustado para 6,5, e procedeu-se a extração em agitador com movimento circular horizontal a 220 rpm por 60 minutos, permitindo a decantação por mais

120 minutos. A quantificação do carbono foi efetuada por meio da oxidação deste pelo permanganato de potássio, utilizando-se o método colorimétrico (BARTLETT; ROSS, 1988). Para isto, foi retirada uma alíquota de 5,0 ml do sobrenadante e transferida para frascos, onde foram adicionados 2,5 mL da solução de trabalho e 2,5 mL de ácido sulfúrico concentrado, nesta ordem. As leituras de absorbância das amostras e da curva padrão foram realizadas em espectrofotômetro utilizando o comprimento de ondas de 490 nm. O cálculo do carbono da biomassa microbiana se deu pela diferença da concentração de carbono ( $\text{mg C kg}^{-1}$  de solo) nas amostras irradiadas e não irradiadas, e o resultado foi dividido pelo fator de correção proposto por Sparling e West (1988) equivalente a 0,33. Utilizou-se a fórmula:

$$\text{CBM (mg C kg}^{-1}\text{ solo)} = \frac{I - \text{NI}}{K_c}$$

em que I é quantidade de C ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) recuperada no extrato da amostra irradiada; NI é a quantidade de C recuperada no extrato da amostra não irradiada e  $K_c$  é o fator de correção.

#### 4.4.2. Respiração basal do solo

A respiração basal do solo (RBS) foi determinada com base nos procedimentos propostos por Jenkinson e Powlson (1976). Amostras de solo de 100 g foram depositadas em frascos hermeticamente fechados com capacidade para 1L contendo um tubo falcon com 30 mL de NaOH a  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ , para captação do  $\text{CO}_2$  oriundo da respiração microbiana do solo. Após um período de 10 dias de incubação em BOD a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ , retirou-se 10 ml da solução e acrescentou-se 2 ml de BaCl ( $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ ) para precipitação do carbono. O excesso de NaOH foi titulado com HCl a  $0,25 \text{ mol L}^{-1}$  após a adição do indicador (fenolftaleína a 1%) (ANDERSON; INGRAM, 1993). A umidade das amostras incubadas foi mantida tal como a do campo e os resultados foram calculados por meio da fórmula:

$$\text{RBS (mg C-CO}_2\text{ kg}^{-1}\text{ solo h}^{-1}\text{)} = \frac{\left( \frac{(\text{Vb} - \text{Va}) \cdot \text{M} \cdot 6 \cdot (\text{V1/V2}) \cdot 1000}{\text{Ps}} \right)}{\text{T}}$$



em que  $V_b$  é o volume de HCl gasto na titulação do branco;  $V_a$  é o volume de HCl gasto na titulação da amostra;  $M$  é a concentração do HCl (Molar);  $V_1$  é o volume total de NaOH;  $V_2$  é o volume de NaOH usado na titulação;  $P_s$  é o peso do solo seco e  $T$  é o tempo de incubação em horas.

#### 4.4.3. Quociente metabólico

O quociente metabólico ( $qCO_2$ ) foi calculado pela razão entre a respiração basal e o carbono da biomassa microbiana (ANDERSON; DOMSCH, 1993), sendo expresso em  $mg\ C-CO_2\ kg^{-1}\ CBM\ h^{-1}$ , conforme a fórmula:

$$qCO_2\ (mg\ C-CO_2\ kg^{-1}\ CBM\ h^{-1}) = \frac{RBS\ (mg\ C-CO_2\ kg^{-1}\ solo\ h^{-1})}{CBM\ (mg\ C\ kg^{-1}\ solo)}$$

#### 4.4.4. Atividade da enzima fosfatase ácida

A determinação da atividade da enzima fosfatase ácida foi baseada do método de Tabatabai e Bremner (1969) empregando-se a adaptação proposta por Verchot e Borelli (2005), ao não utilizar tolueno para inibir a atividade microbiana no processo de análise. Com auxílio de um dosador de amostra de solo foi cachimbado o equivalente a  $2,5\ cm^3$  de solo em tubo falcon e adicionado 1 mL da solução de  $p$ -nitrofenil fosfato e 14 mL de tampão acetato pH 6,5, procedendo-se a incubação por 1 hora em BOD a  $37\ ^\circ C$ . Após este período, adicionou-se 3 mL  $CaCl_2$  ( $0,5\ mol\ L^{-1}$ ), com a objetivo de interromper a atividade enzimática, e 12 mL de NaOH ( $0,5\ mol\ L^{-1}$ ) para extrair o  $p$ -nitrofenol liberado, realizando, em seguida, a filtragem em papel filtro. A prova em branco foi produzida seguindo os passos anteriores, porém acrescentando a solução de  $p$ -nitrofenil fosfato após a incubação. A atividade da fosfatase foi obtida pela quantificação espectrométrica a  $400\ nm$  do  $p$ -nitrofenol liberado na mistura filtrada. O cálculo para obtenção do  $p$ -nitrofenol por  $cm^3$  referiu-se a curva de calibração e foi realizado por meio da fórmula:

$$p\text{-nitrofenol}\ (\mu g\ cm^3\ solo\ h^{-1}) = \frac{((C \times D) + ((C \times D) \times U))}{T}$$

em que C é a concentração de *p*-nitrofenol medido ajustado com a curva ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  de filtrado); D é a diluição (Extractor/ volume do solo em  $\text{cm}^3$ ); U é a umidade do solo em porcentagem e T é o tempo em hora (1h).

#### **4.4.5. Análise estatística**

Para cada uma das avaliações, os dados foram submetidos ao teste F da análise de variância. As médias das culturas e das combinações foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2014).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um total de 167 isolados foram obtidos, dos quais 45 isolados apresentaram pelo menos um mecanismo de ação contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* (Fop) *in vitro*, demonstrando potencial para serem utilizados como antagonistas no controle biológico da fusariose do maracujazeiro. A produção de compostos difusíveis foi constatada em 21 isolados (Tabela 1). A liberação destas substâncias é uma característica vantajosa em um agente de controle biológico, pois estes compostos podem difundir-se rapidamente na natureza, dispensando o contato direto entre o antagonista e o patógeno (GOUDJAL et al., 2014). Estudos de seleção massal são relevantes uma vez que resultados positivos *in vitro* podem ser refletidos no biocontrole da doença (FAHEEM et al., 2015).

**Tabela 1.** Isolados produtores de compostos difusíveis, voláteis e quitinases.

Isolados	Compostos difusíveis	Compostos voláteis	Quitinases	Isolados	Compostos Difusíveis	Compostos voláteis	Quitinases
R2	-	-	+	R86	+	-	-
R3	-	-	+	R89	+	-	+
R4	-	-	+	R90	-	-	+
R6	-	-	+	R94	+	-	-
R8	-	-	+	R95	+	-	+
R11	-	-	+	R96	+	-	-
R12	-	-	+	R97	+	-	+
R13	-	-	+	R98	-	-	+
R14	-	-	+	R102	+	-	-
R19	-	-	+	R103	+	-	-
R20	-	-	+	R104	+	-	+
R23	-	-	+	R116	+	-	+
R30	-	-	+	R117	+	-	-
R38	-	-	+	R119	+	-	-
R41	-	-	+	R120	+	-	+
R56	-	-	+	R127	+	-	-
R64	-	-	+	R134	+	-	-
R75	+	-	-	R148	-	-	+
R76	+	+	+	R149	-	-	+
R77	+	+	+	R150	-	-	+
R78	+	-	-	R151	+	-	-
R80	-	-	+	R152	+	-	-
R82	-	-	+				

\*(-) sem produção; (+) produção.

A produção da enzima quitinase foi verificada em 32 isolados (Tabela 1). A quitina é polissacarídeo componente estrutural da parede celular da maioria dos fungos. Microrganismos produtores de quitinases são capazes de degradar a quitina ocasionando a lise das células fúngicas e, portanto, configuram-se como potenciais candidatos para o biocontrole de fitopatógenos (FAHEEM et al., 2015). Rizobactérias quitinolíticas têm sido apontadas suprimindo *F. oxysporum* tanto *in vitro* quanto em casa de vegetação (HARIPRASAD et al., 2011).

Dois isolados foram capazes de inibir o crescimento micelial de Fop pela produção de compostos voláteis (Tabela 1). A produção de compostos voláteis é importante pelo fato de tais compostos alcançarem o patógeno alvo tanto em curtas quanto em longas distâncias levando a sua inibição (YUAN et al., 2012). Rizobactérias produtoras de compostos voláteis foram relatadas inibindo o crescimento micelial de *Fusarium fujikuroi*, pela liberação de álcoois, alcanos, hidrocarbonetos aromáticos, sulfuretos, cetonas, ésteres e alcenos (BOUKAEW et al., 2013).

O teste de antibiose recíproca foi realizado com os isolados de nº 76, 77, 89, 95, 97, 104, 116 e 120, por apresentarem pelo menos dois mecanismos de ação antagonista, e determinou a compatibilidade entre estas rizobactérias. Observou-se que o isolado R76 inibiu o crescimento de todos os demais isolados, exceto o isolado R77, que por sua vez inibiu somente o isolado R89 (Tabela 2). As demais rizobactérias não foram sensíveis entre si, possibilitando a formação de combinados de isolados sem qualquer restrição. O interesse no uso de combinações de agentes de biocontrole deve-se a possibilidade de benefícios como: maior número de mecanismos supressores de patógenos, melhor colonização da planta, maior adaptação às mudanças ambientais que possam ocorrer durante o período de crescimento e proteção contra uma vasta gama de agentes patogênicos (RAUPACH; KLOEPPER, 1998).

Empregar diferentes microrganismos e mecanismos de ação pode resultar em uma atividade de biocontrole superior a alcançada pelo uso individual deles. É o que demonstrou o trabalho de Raupach e Kloepper (1998), onde três isolados rizobacterianos foram testados isoladamente e em combinações para o controle de doenças do pepino, sendo observada uma maior supressão das doenças com a utilização de combinações de rizobactérias. Provavelmente este efeito é alcançado pela conciliação de diferentes mecanismos de ação acionados por

cada uma das rizobactérias. Sung e Chung (1997) também observaram efeito sinérgico com maior controle de *Rhizoctonia solani* ao combinar isolados produtores de quitinase com isolados produtores de antibióticos.

**Tabela 2.** Compatibilidade entre os isolados rizobacterianos que apresentaram pelo menos dois mecanismos de ação contra Fop.

Isolados inibidos	Isolados inibidores							
	R76	R77	R89	R95	R97	R104	R116	R120
R76		-	-	-	-	-	-	-
R77	-		-	-	-	-	-	-
R89	+	+		-	-	-	-	-
R95	+	-	-		-	-	-	-
R97	+	-	-	-		-	-	-
R104	+	-	-	-	-		-	-
R116	+	-	-	-	-	-		-
R120	+	-	-	-	-	-	-	

\*(-) ausência de inibição do isolado; (+) inibição do isolado.

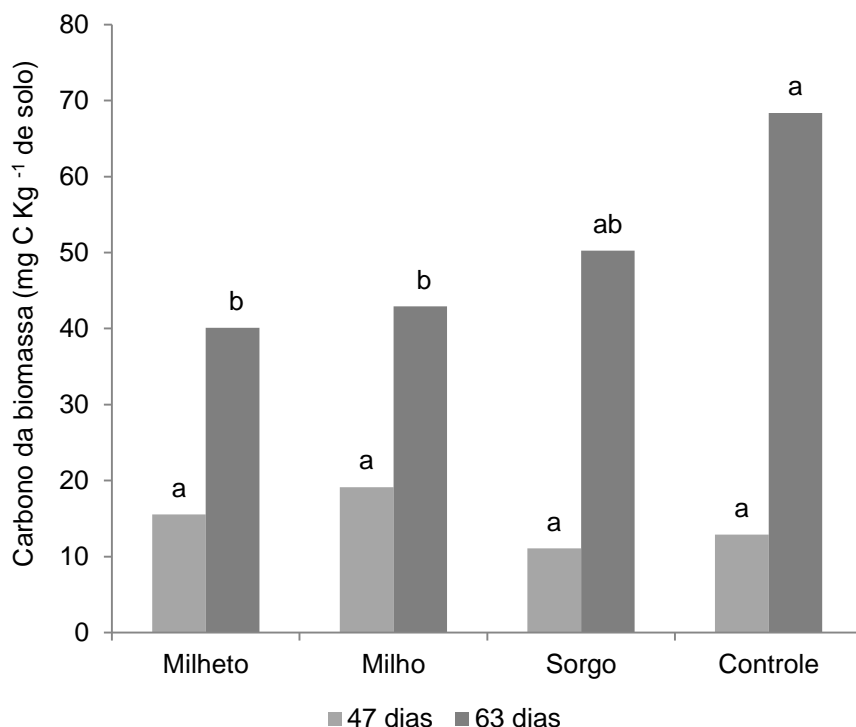
As populações de antagonistas e patógenos oscilam no tempo e no espaço conforme o crescimento radicular das plantas entre outras perturbações, podendo ocorrer variações entre os períodos e as fases destas oscilações. Deste modo, um bom antagonista *in vitro* pode tomar uma posição diferente em comparação com o patógeno alvo comprometendo a eficiência do biocontrole, que só ocorrerá caso as populações máximas do agente de biocontrole e dos patógenos coincidam. Diferenças em sucessão e na posição ao longo da raiz pode explicar a maior sucesso de biocontrole com o uso de combinações de agentes de biocontrole do que quando estes são utilizados de forma isolada (VAN BRUGGEN et al., 2006).

Uma característica desejável em um agente de biocontrole é que este apresente capacidade para crescer sob uma vasta gama de condições ambientais. Uma maior flexibilidade em termos de adaptação ambiental confere a um agente de biocontrole maior chance de ser empregado no desenvolvimento de um produto biológico, dado que a aplicação será mais ampla do que a de agentes que necessitem de condições ambientais específicas, assim como o mercado-alvo (LONGA et al., 2008). No Brasil, em vista a maioria dos solos serem de natureza ácida (LEPSCH, 2011), testes de pH compõe uma etapa importante na

seleção de um agente de biocontrole de patógenos de solo. Neste estudo, todos os oito isolados rizobacterianos foram capazes de crescer na faixa de pH testada, variando de 5,0 a 7,0, ao terceiro dia de incubação. Para um controle ótimo da murcha do tomateiro, o agente de biocontrole *Penicillium oxalicum* também foi testado em diferentes condições de pH, apresentando habilidade para crescer em uma ampla faixa de pH (5-8) (LARENA et al., 2014).

Em relação ao ensaio em casa de vegetação, na primeira época de amostragem não foram verificadas diferenças significativas entre as espécies cultivadas e as diferentes combinações de rizobactérias avaliadas neste trabalho nos valores obtidos para CBM, RBS e  $qCO_2$ , bem como para a interação estudada entre culturas e combinações. Entretanto, na segunda época de amostragem, houve diferença significativa entre as espécies cultivadas no que diz respeito ao teor de CBM, RBS,  $qCO_2$  e atividade de fosfatase ácida. Pela análise de variância verificou-se que a interação entre espécies cultivadas e combinações de rizobactérias foi significativa ( $p < 0,05$ ) apenas para o atributo  $qCO_2$ .

Os maiores valores de carbono da biomassa microbiana do solo (CBM), dentre as espécies cultivadas, foram verificados no solo em pousio e no solo cultivado com sorgo (Figura 1). A biomassa microbiana do solo é definida como a parte viva da matéria orgânica do solo, excluindo as raízes e incluindo os seres vivos com tamanho menor que  $5 \times 10^3 \mu m^3$ , ou seja, fungos, actinomicetos, protozoários, algas e bactérias. Esta biomassa é responsável por diversos processos tais como decomposição dos resíduos orgânicos, ciclagem de nutrientes, solubilização de nutrientes, estruturação do solo, controle biológico de patógenos, entre outros. Trata-se de um importante componente utilizado em trabalhos que visam averiguar a qualidade e produtividade do solo, uma vez que responde às modificações no ambiente mais rapidamente que qualquer outro parâmetro agrônômico (KASCHUK et al., 2009).



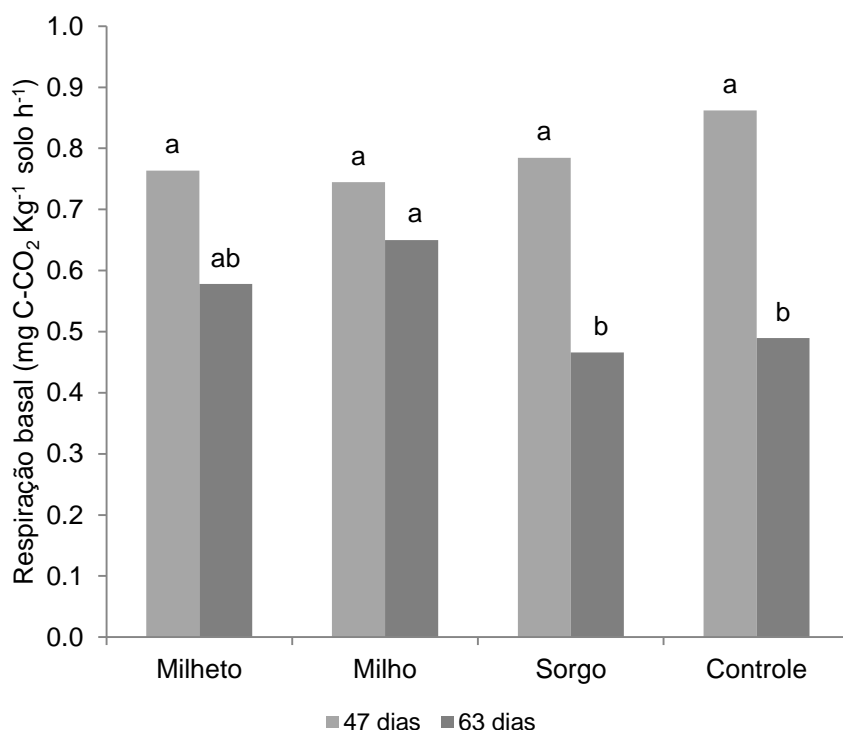
**Figura 1.** Valores médios do carbono da biomassa microbiana (CBM) em solos tratados com rizobactérias e cultivados com monocotiledôneas aos 47 e 63 dias de incubação.

As principais fontes de carbono para microrganismos do solo são os exsudatos radiculares, resíduos da biomassa aérea e radicular das plantas e constituintes solúveis da planta depositados com a água da chuva (SILVA; MENDONÇA, 2007). Sendo assim, valores superiores de CBM estão relacionados a um grande aporte de material orgânico por meio de depósitos de plantas, implicando em um maior acúmulo de carbono pela biomassa microbiana, e também a uma melhoria nas condições de desenvolvimento da microbiota (SANTOS et al., 2004). Elevados valores de CBM no solo sob pousio podem estar, entretanto, relacionados a ausência de competição por nutrientes, visto que os microrganismos e plantas podem competir, por exemplo, por nitrogênio inorgânico mesmo em solos relativamente férteis. Os solos carentes de fertilização nitrogenada e com baixa umidade são ainda mais propícios para favorecer esta competição por comporem condições ideais para limitação do nitrogênio (KAYE; HART, 1997).

A disponibilidade de água no solo também é uma condição que afeta a biomassa microbiana no solo, já que populações não adaptadas ao déficit hídrico tendem a declinar (HUESO et al., 2012). Embora as culturas tenham sido regadas

em dias alternados, altas temperaturas foram observadas na casa de vegetação e o solo sob pousio, por não possuir uma planta para absorver a água, apresentou-se visivelmente mais úmido do que os solos cultivados. A cultura do sorgo, por sua vez, além da liberação de exsudatos, pode ter favorecido o aumento da biomassa por apresentar uma menor exigência hídrica em comparação com as demais culturas testadas (JUNIOR, 2013).

Em relação a respiração basal do solo (RBS), as culturas do milho e do milheto propiciaram os maiores valores desse atributo (Figura 2). A respiração basal do solo corresponde ao somatório de todas as funções metabólicas nas quais  $\text{CO}_2$  é gerado, sendo a maior parte deste gás liberado por bactérias e fungos na degradação da matéria orgânica (SILVA et al., 2007). Trata-se de um dos parâmetros mais antigos para quantificação da atividade microbiana e reflete a capacidade de sustentação da vida microbiana no solo. Bem como ocorre em outros processos metabólicos, a respiração depende da atividade fisiológica da célula microbiana que é influenciada pela disponibilidade de nutrientes, umidade, dentre outros fatores (MOURA et al., 2015).



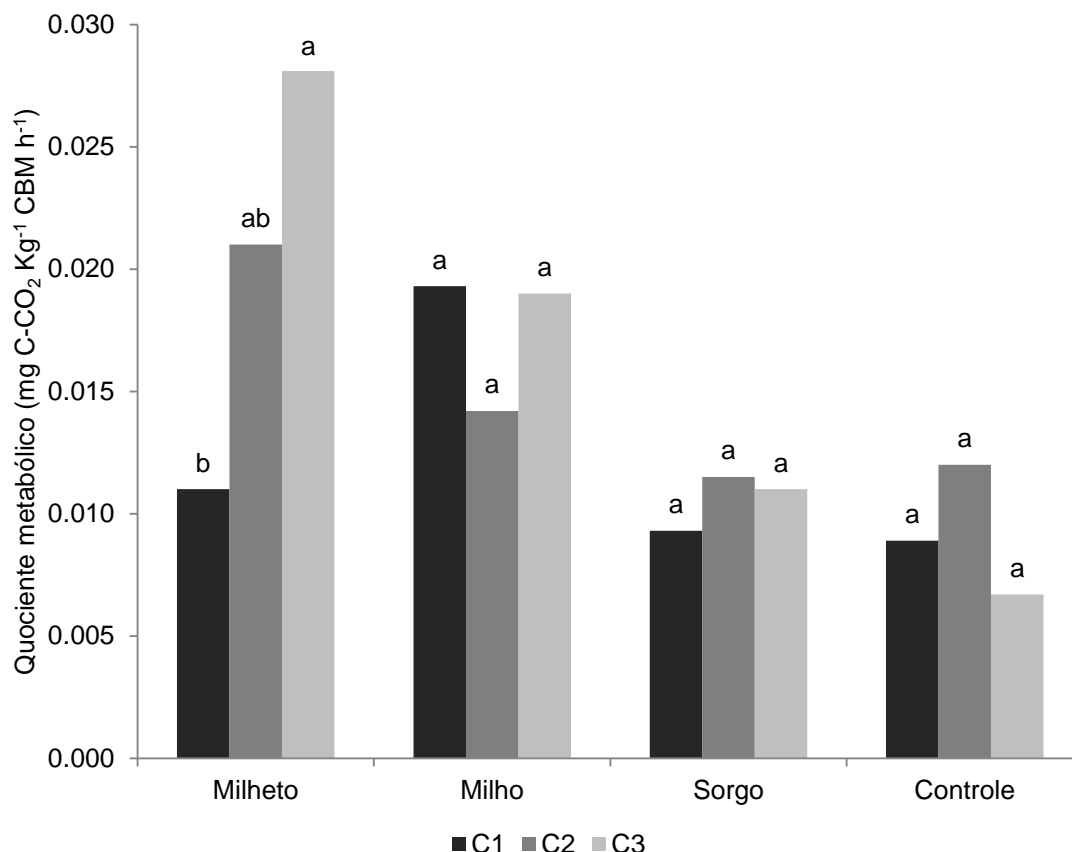
**Figura 2.** Valores médios da respiração basal do solo (RBS) em solos tratados com rizobactérias e cultivados com monocotiledôneas aos 47 e 63 dias de incubação.



O aumento da RBS sob as culturas do milho e do milheto provavelmente deve-se a melhores condições de desenvolvimento da microbiota o que pode estar associado à disponibilização por estas culturas de uma exsudação maior ou de melhor qualidade. Entretanto, apenas dados de carbono da biomassa não são suficientes para mensurar o estado metabólico atual e potencial das comunidades microbianas, uma vez que existem no solo elevadas quantidades de biomassa inativa (FALEIRO et al., 2011). O quociente metabólico ou respiratório ( $qCO_2$ ) expressa a relação entre medidas de respiração basal do solo e biomassa microbiana, fornecendo a quantidade de  $CO_2$  liberada por unidade de biomassa. Este índice evidencia a eficiência microbiana na utilização do carbono disponível para biossíntese, constituindo um sensível indicador para estimativa da atividade biológica e a qualidade do substrato (SAVIOZZI et al., 2002).

Os maiores valores de quociente metabólico ( $qCO_2$ ) foram obtidos no solo cultivado com milheto utilizando as combinações 2 e 3 de rizobactérias, porém houve uma tendência para a obtenção de valores superiores com o uso da combinação 3 (R77 + R95 + R104 + R120) (Figura 3). Altos valores de quociente metabólico estão associados a maior atividade microbiana com uma maior liberação de  $CO_2$  por unidade de carbono da biomassa, provavelmente em razão da presença de um substrato de fácil assimilação para o desenvolvimento e atividade microbiana, com menor resistência ao ataque microbiano (SANTOS et al., 2004). Um pico de  $qCO_2$  também pode ser encontrado em solos com comunidades microbianas em início de desenvolvimento, contendo maior número de microrganismos ativos que inativos, ou sob condições de estresse metabólico (ANDERSON; DOMSCH, 1993).

Conforme Santos (2014) cada isolado possui suas características próprias e comportamentos metabólicos distintos de modo que uma comunidade microbiana formada por um maior número de isolados será mais diversa metabolicamente possibilitando, provavelmente, um melhor aproveitamento dos exsudatos, o que favorecerá a atividade microbiana. A composição dos exsudatos também exerce forte influência sobre a comunidade microbiana, visto que os exsudatos de fácil degradação beneficiam um maior número de antagonistas por evitar a perda de componentes da microbiota (LANDI et al., 2006).

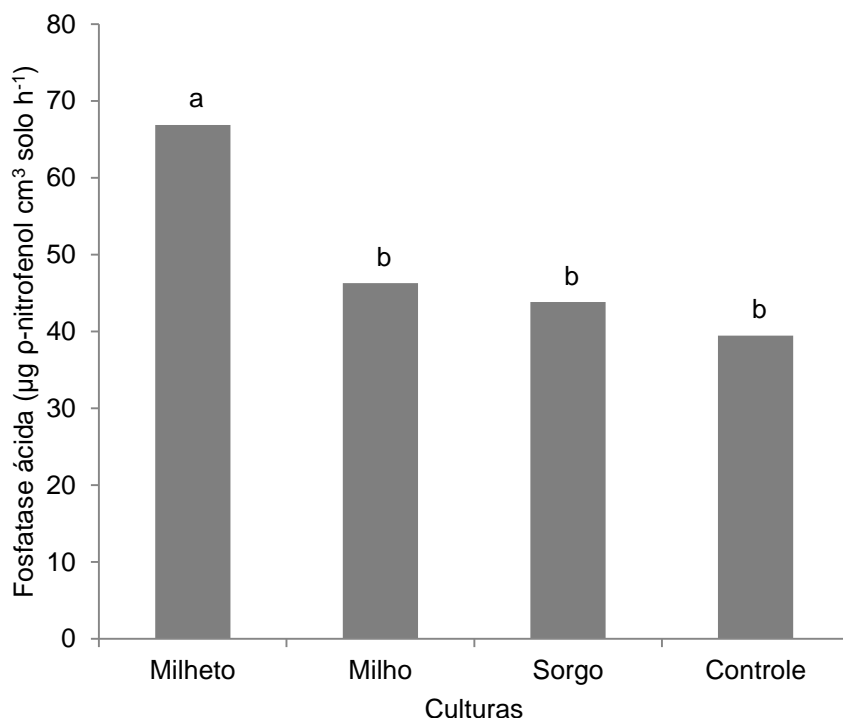


**Figura 3.** Valores médios do quociente metabólico ( $qCO_2$ ) em função das culturas e das combinações rizobacterianas (C1; C2; C3) aos 63 dias de incubação.

As enzimas presentes no solo podem funcionar como indicadores biológicos, pois estão diretamente relacionadas a atividade biológica (TABATABAI, 1994), são fáceis de determinar e respondem rápido a modificações no manejo (DICK, 1994). Deste modo, a determinação da atividade enzimática no solo é uma forma de mensurar a atividade microbiana, pois aponta para modificações ocorridas na microbiota do solo sem, necessariamente, associá-las a um grupo específico de organismos (ANDRADE; SILVEIRA, 2004).

No presente estudo, maiores valores da enzima fosfatase ácida foram encontrados sob a cultura do milho do que sob as demais culturas testadas (Figura 4). Estas enzimas encontradas no solo são responsáveis por disponibilizar o fósforo adsorvido em argilas e complexos orgânicos em formas acessíveis às plantas, sendo de suma importância em solos tropicais (PLASSARD; DELL, 2010). Visto que as rizobactérias atuam na ciclagem geoquímica de nutrientes do solo tornando-os disponíveis para plantas e comunidades microbianas estas

contribuem de forma significativa para o aumento das fosfatases no solo (VEGA, 2007).



**Figura 4.** Atividade da enzima fosfatase ácida em solos tratados com rizobactérias e cultivados com monocotiledôneas.

A vegetação também exerce grande influência sobre a atividade das enzimas fosfatases, pois as plantas além de serem capazes de produzir estas enzimas, podem favorecer a atividade microbiológica do solo, por exemplo, pela deposição de resíduos aumentando a matéria orgânica. A matéria orgânica exerce ainda uma função protetiva sobre a enzima prevenindo esta da decomposição (HARRISON, 1983). A literatura menciona ainda que o aumento na atividade das fosfatases pode se dar pela exsudação de determinados metabólitos ou maior enraizamento da cultura que venham a favorecer de algum modo o crescimento de comunidades microbianas produtoras dessas enzimas (NAHAS, 2002).

Dotaniya et al. (2014) avaliaram o efeito de diversas culturas sobre a atividade da fosfatase ácida em diferentes períodos de crescimento, a saber 30, 50, 75, 90 dias após a semeadura e na colheita de culturas. Entre as culturas testadas, o arroz apresentou a maior atividade média da fosfatase ácida (0,173

mg PNF/gh), seguido do painço vermelho (0,165 mg PNP/gh), milho (0,154 mg PNP/ gh), sorgo (0,140 mg PNP/gh), milho (0,140 mg PNP/gh) e soja (0,107 mg PNP/gh). A atividade da fosfatase ácida variou em todas as culturas conforme os diferentes períodos de crescimento destas. Para o milho, a atividade máxima da enzima foi observada em 90 dias após a semeadura desta cultura (0,201 mg PNP / gh). Tais resultados corroboram com os obtidos no presente estudo com a cultura do milho sobressaindo-se com a maior atividade média da fosfatase ácida em relação ao milho e sorgo. A época em que foram observados os maiores valores da enzima (90 dias) também se assemelha a observada no presente estudo (93 dias), uma vez que as plantas de milho foram transplantadas para os vasos após um mês da semeadura. Isto indica uma clara associação entre a época e os resultados obtidos. Assim como atribuído pelos autores, estes valores estão relacionados a uma maior produção de exsudatos estimuladores da atividade microbiana e alterações bioquímicas no sistema da planta neste período.

As rizobactérias são conhecidas por atuarem no controle de fungos e bactérias por meio de mecanismos como competição por nutrientes, exclusão de nicho, produção de metabólitos antimicrobianos, entre outros (BLOEMBERG; LUGTENBERG, 2001). Entretanto, quando introduzidas no solo, nem sempre conseguem manter populações estáveis e metabolicamente ativas durante o período mínimo necessário para que exerçam seus efeitos benéficos. Isto ocorre devido à exposição a inúmeros fatores de estresse, bióticos e abióticos, como predação, competição, mudanças de osmolaridade, temperatura e disponibilidade de água e nutrientes. Desta forma, dentro de algumas semanas, as populações antagonistas podem ser reduzidas de forma considerável, e, muitas vezes, a atividade de biocontrole tende a ser variável (SCHNIDER-KEEL et al., 2001).

Alguns programas têm objetivado favorecer os microrganismos benéficos do solo e da rizosfera a fim de proporcionar um aumento no rendimento das culturas e redução na incidência de doenças. A atividade microbiana pode ser estimulada pelos exsudatos radiculares liberados pelas plantas que constituem uma fonte de carbono prontamente disponível aos microrganismos. A influência desta atividade na fitossanidade, entretanto, depende do efeito biológico líquido das interações entre as populações de organismos presentes na rizosfera, a planta e o ambiente solo. Um maior conhecimento dos fatores que influenciam o

processo de exsudação e a influência desta nas populações microbianas da rizosfera tem tornado possível a manipulação destes processos em favor de organismos que beneficiam a planta, proporcionando atividade de controle biológico, entre outros benefícios (BRIMECOMBE et al., 2007).

Os resultados deste trabalho deram subsídio para a seleção do milheto como a espécie vegetal que mais estimulou a atividade microbiana na combinação de rizobactérias de nº3 (R77 + R95 + R104 + R120), após 63 dias da aplicação destas. Estes isolados poderão ser testados conjuntamente com o milheto para redução da incidência da fusariose do maracujazeiro, num próximo ensaio em casa de vegetação. O milheto (*Pennisetum glaucum*) é uma cultura bem adaptada a condições de altas temperaturas, baixa precipitação pluvial e baixa fertilidade, devido a fatores como curtos períodos de desenvolvimento e relevante flexibilidade de desenvolvimento, potencializando o uso da umidade acessível no solo (DURÃES et al., 2003). Espera-se que os resultados do estudo contribuam para valorização do trabalho dos agricultores familiares dada a importância da cultura do maracujá para estas populações garantindo-lhes, ainda, uma fonte de renda extra pelo plantio do milheto.

## REFERÊNCIAS

ANDERSON, J. M.; INGRAM, J. S. I. **Tropical soil biology and fertility: a handbook of methods**. 2. ed. Wallingford: CAB International, 221 p., 1993.

ANDERSON, J. P. E.; DOMSCH, K. H. The metabolic quotient of CO<sub>2</sub> ( $qCO_2$ ) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental condition, such as pH, on the microbial of forest soil. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 25, n. 3, p. 393-395, 1993.

ANDRADE, S. A. L.; SILVEIRA, A. P. D. Biomassa e atividade microbianas do solo sob influência de chumbo e da rizosfera da soja micorrizada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 12, p. 1191-1198, 2004.

BARTLETT, R. J.; ROSS, S. D. Colorimetric determination of oxidizable carbon in acid soil solutions. **Soil Science Society of America Journal**, v. 52, p. 1191-1192, 1988.

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.

BLOEMBERG, G. V.; LUGTENBERG, B. J. J. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. **Current Opinion in Plant Biology**, v.4, p. 343-350, 2001.

BOUKAEW, S.; PLUBRUKAM, A.; PRASERTSAN, P. Effect of volatile substances from *Streptomyces philanthi* RM-1-138 on growth of *Rhizoctonia solani* on rice leaf. **BioControl**, v. 58, p. 471-482, 2013.

BRIMECOMBE, M. J.; DE LEIJ, F. A. A. M.; LYNCH, J. M. Rhizodeposition and microbial populations. In: PINTON, R.; VARANINI, Z.; NANNIPIERI, P. **The rhizosphere: biochemistry and organic substances at the soil-plant interface**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, p. 73-109, 2007.

DICK, R. P. Soil enzymes activities as indicators of soil quality. In: DORAN, J. W.; COLEMAN, D. C.; BEZDICEK, D. F.; STEWART, B. A. **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison: Soil Science Society of America, 1994.

DOTANIYA, M. L.; KUSHWAH, S. K.; RAJENDIRAN, S.; COUMAR, M. V.; KUNDU, S.; SUBBA RAO, A. Rhizosphere effect of kharif crops on phosphatases and dehydrogenase activities in a typical haplustert. **National Academy Science Letters**, v. 37, n. 2, p. 103-106, 2014.

DURÃES, F. O. M.; MAGALHÃES, P. C.; SANTOS, F. G. **Fisiologia da planta de milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 16 p., 2003.

FAHEEM, M.; RAZA, W.; ZHONG, W.; NAN, Z.; SHEN, Q.; XU, Y. Evaluation of the biocontrol potential of *Streptomyces goshikiensis* YCXU against *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. **Biological Control**, v. 81, p. 101-110, 2015.

FALEIRO, F. G.; ANDRADE, S. R. M.; REIS JUNIOR, F. B. **Biotecnologia: estado da arte e aplicações na agropecuária**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 730 p., 2011.

FERREIRA, A. S.; CAMARGO, F. A. O.; VIDOR, C. Utilização de micro-ondas na avaliação da biomassa microbiana do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 23, p. 991-996, 1999.

FERREIRA, D, F. Sisvar: a guide for its bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 2, p. 109-112, 2014.

GOUDJAL, Y.; TOUMATIA, O.; YEKKOUR, A.; SABAOU, N.; MATHIEU, F.; ZITOUNI, A. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping-off and promotion of tomato plant growth by endophytic actinomycetes isolated from native plants of Algerian Sahara. **Microbiological Research**, v. 169, p. 59-65, 2014.

HARIPRASAD, P.; DIVAKARA, S. T.; NIRANJANA, S. R. Isolation and characterization of chitinolytic rhizobacteria for the management of Fusarium wilt in tomato. **Crop Protection**, v. 30, n. 12, p. 1606-1612, 2011.

HARRISON, A.F. Relations between intensity of phosphatase activity and physico-chemical properties in woodland soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 15, p. 93-99, 1983.

HUESO, S.; GARCÍA, C.; HERNÁNDEZ, T. Severe drought conditions modify the microbial community structure, size and activity in amended and unamended soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 50, p. 167-173, 2012.

JENKINSON, D. S.; POWLSON, D. S. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil-I. Fumigation with chloroform. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 8, p. 167-177, 1976.

JUNIOR, E. U. R.; MACHADO, R. A. F.; OLIBONE, D.; CASTOLDI, G.; RAMOS, B. M. Crescimento de plantas de cobertura sob déficit hídrico. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 1, p. 47-56, 2013.

KASCHUK, G.; ALBERTON, O.; HUNGRIA, M. Three decades of soil microbial biomass studies in Brazilian ecosystems: lessons learned about soil quality and indications for improving sustainability. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 42, n. 1, p. 1-13, 2009.

KAYE, J. P.; HART, S. C. Competition for nitrogen between plants and soil microorganisms. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 12, n. 4, p. 139-143, 1997.

LANDI, L.; VALORI, F.; ASCHER, J.; RENELLA, G.; FALCHINI, L.; NANNIPIERI, P. Root exudate effects on the bacterial communities, CO<sub>2</sub> evolution, nitrogen transformations and ATP content of rhizosphere and bulk soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 38, p. 509-516, 2006.

LARENA, I.; VÁZQUEZ, G.; DE CAL, A.; MELGAREJO, P.; MAGAN, N. Ecophysiological requirements on growth and survival of the biocontrol agente *Penicillium oxalicum* 212 in diferente sterile soils. **Applied Soil Ecology**, v. 78, p. 18-27, 2014.

LEPSCH, I. F. **19 Lições de pedologia**. São Paulo: Oficina de textos, 456 p., 2011.

LIMA, A. A. Maracujá produção: introdução. In: LIMA, A. A. **Maracujá produção: aspectos técnicos**. Brasília: Embrapa, p. 9, 2002.

LONGA, C. M. O.; PERTOT, I.; TOSI, S. Ecophysiological requirements and survival of a *Trichoderma atroviride* isolate with biocontrol potential. **Journal of Basic Microbiology**, v. 48, p. 269-277, 2008.

LUMSDEN, R. D; LOCKE, J. C. Biological control of damping-off caused by *Phytophthora ultimum* and *Rhizoctonia solani* in soilless mix. **Phytopathology**, v. 79, p. 361-366, 1989.

MELETTI, L. M. M. Avanços na cultura do maracujá no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, p. 83-91, 2011.

MONTEIRO, F. P.; PACHECO, L. P.; LORENZETTI, E. R.; ARMESTO, C.; SOUZA, P. E.; ABREU, M. S. Exsudatos radiculares de plantas de cobertura no desenvolvimento de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 1, p. 87-93, 2012.

MOURA, J. A.; GONZAGA, M. I. S.; ANJOS, J. L.; RODRIGUES, A. C. P.; LEÃO, T. D. S.; SANTOS, L. C. O. Respiração basal e relação de estratificação em solo cultivado com citros e tratado com resíduos orgânicos nos estados de Sergipe. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 2, p. 731-746, 2015.

NAHAS, E. Microrganismos do solo produtores de fosfatases em diferentes sistemas agrícolas. **Bragantia**, v. 61, n. 3, p. 267-275, 2002.

OLIVEIRA, Z.M. **Rizobactérias promotoras de crescimento vegetal isoladas de cana-de-açúcar sob fertilização orgânica e/ou convencional**. 2009. 164 f. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas, São Paulo, 2009.

PEREIRA, R. B.; PINHEIRO, J. B. **Manejo integrado de doenças em hortaliças em cultivo orgânico**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 12 p., 2012.

PLASSARD, C.; DELL, B. Phosphorus nutrition of mycorrhizal trees. **Tree Physiology**, v. 30, p. 1129-1139, 2010.

RAUPACH, G. S.; KLOEPPER, J. W. Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria enhance biological control of multiple cucumber pathogens. **Phytopathology**, v.88, p. 1158-1164, 1998.



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

SANTOS, D. G. **Cultivo de bactérias da rizosfera da cana-de-açúcar e a interferência dos exsudatos da planta em seu desenvolvimento**. 2014. 86 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.

SANTOS, V. B.; CASTILHOS, D. D.; CASTILHOS, R. M. V.; PAULETTO, E. A.; GOMES, A. S.; SILVA, D. G. Biomassa, atividade microbiana e teores de carbono e nitrogênio totais de um Planossolo sob diferentes sistemas de manejo. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 10, p. 333-338, 2004.

SAVIOZZI, A.; BUFALINO, P.; LEVI-MINZI, R.; RIFFALD, R. Biochemical activities in a degraded soil restored by two amendments: a laboratory study. **Biology & Fertility of Soils**, v. 35, p. 96-101, 2002

SCHAAD, N. W. **Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria**. 2. ed. St. Paul: American Phytopathological Society, 164 p., 1998.

SCHNIDER-KEEL, U.; LEJBOLLE, K. B.; BAEHLER, E.; HAAS, D.; KEEL, C. The sigma factor AlgU (AlgT) controls exopolysaccharide production and tolerance towards desiccation and osmotic stress in the biocontrol agent *Pseudomonas fluorescens* CHA0. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, n. 12, p. 5683-5693, 2001.

SILVA, E. E.; AZEVEDO, P. H. S.; DE-POLI, H. **Determinação da respiração basal (RBS) e quociente metabólico do solo (qCO<sub>2</sub>)**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 4 p., 2007.

SILVA, H. S. A.; ROMEIRO, R. S.; CARRER FILHO, R.; PEREIRA, J. L. A.; MIZUBUTI, E. S. G.; MOUNTEER, A. Induction of systemic resistance by *Bacillus cereus* against tomato foliar diseases under field conditions. **Journal of Phytopathology**, v. 152, n. 6, p. 371-375, 2004.

SILVA, I. R.; MENDONÇA, E. S. Matéria orgânica do solo. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V., V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. **Fertilidade do solo**. 1 ed. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo: Viçosa, p. 275-374, 2007.

SOUZA, E. D.; CARNEIRO, M. A. C.; PAULINO, H. B.; SILVA, C. A.; BUZETTI, S. Frações do carbono orgânico, biomassa e atividade microbiana em um Latossolo Vermelho sob cerrado submetido a diferentes sistemas de manejo usos solo. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 28, p. 323-329, 2006.

SPARLING, G. P.; WEST, A. W. A direct extraction method to estimate soil microbial C: Calibration in situ using microbial respiration and  $^{14}\text{C}$  labeled cells. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 20, p. 337-343, 1988.

SUNG, K. C.; CHUNG, Y. R. Enhanced suppression of rice sheath blight using combination of bacteria which produce chitinases or antibiotics. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA, 4, 1997, Sapporo. **Proceedings...**Sapporo: Nakanishi Printing, 1997, p. 370-372.

TABATABAI, M. A.; J. M. B REMNER. Use of *p*-nitrophenylphosphate for assay of soil phosphatase activity. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 1, p. 301-307, 1969.

TABATABAI, M. A. Soil enzymes. In: WEAVER, R. W.; SCOTT, A.; BOTTOMELEY, P. J. **Methods of soil analysis: microbiological and biochemical properties**. 1. ed. Madison: Soil Science Society of America, 1994.

TUITE, J. **Plant pathological methods: fungi and bacteria**. Minneapolis: Burgess Publishing Company, 239 p., 1969.

VIANA, F. M. P.; FREIRE, F. C. O.; CARDOSO, J. E.; VIDAL, J. C. **Principais doenças do maracujazeiro na Região Nordeste e seu controle**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 11 p., 2003.

VAN BRUGGEN, A. H. C.; SEMENOV, A. M.; VAN DIEPENINGEN, A. D.; DE VOS, O. J.; BLOK, W. J. Relation between soil health, wave-like fluctuations in microbial populations, and soil-borne plant disease management. **European Journal of Plant Pathology**, v. 115, p. 105-122, 2006.

VAN LENTEREN, J. C.; BUENO, V. H. B. P. Augmentative biological control of arthropods in Latin America. **Biocontrol**, v. 48, p. 123-139, 2003.

VEGA, N. W. O. A review on beneficial effects of rhizosphere bacteria on soil nutrient availability and plant nutrient uptake. **Revista Facultad Nacional de Agronomía**, v. 60, p. 3621-3643, 2007.

VERCHOT, L. V.; BORELLI, T. Application of para-nitrophenol (pNP) enzyme assays in degraded tropical soils. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 37, p. 625-633, 2005.

YUAN, W.; RAZA, W.; SHEN, Q.; HUANG, Q. Antifungal activity of *Bacillus amyloliquefaciens* NJN-6 volatile compounds against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 78, p. 5942-5944, 2012.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que os exsudatos radiculares de fato influenciam os atributos biológicos do solo, entretanto, uma melhoria nas condições de desenvolvimento da comunidade microbiana, com níveis adequados de umidade e nutrientes, também interfere positivamente na determinação destes valores.

Valores significativos do quociente metabólico no solo sob milho, na combinação número 3 de rizobactérias (R77 + R95 + R104 + R120), indicam uma maior atividade destes microrganismos sob esta cultura, indicando uma fácil assimilação dos exsudatos liberados pelo milho. A maior atividade da enzima fosfatase ácida aos 63 dias reforça uma maior atividade microbiana sob a cultura do milho podendo este fator estar relacionado com alterações próprias do estágio fenológico da planta.

Espera-se que a maior atividade observada das rizobactérias antagonistas seja refletida em uma otimização no biocontrole da fusariose do maracujazeiro em um programa onde o milho é utilizado em consórcio com o maracujá. É, portanto, imprescindível, a realização de testes *in vivo* que avaliem esta condição.