

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

**RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE MUDAS
MICROPROPAGADAS DE BANANEIRA E AGENTES
DE BIOCONTROLE DO MAL-DO-PANAMÁ
(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*)**

KAROLINE GREICE VIANA CARDOSO

**CRUZ DAS ALMAS - BA
DEZEMBRO – 2010**

**RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE MUDAS
MICROPROPAGADAS DE BANANEIRA E AGENTES
DE BIOCONTROLE DO MAL-DO-PANAMÁ
(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*)**

KAROLINE GREICE VIANA CARDOSO

Bióloga

Universidade Estadual de Feira de Santana, 2008

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

Orientador: Harllen Sandro Alves Silva

Co-Orientador: Aldo Vilar Trindade

CRUZ DAS ALMAS – BA

DEZEMBRO – 2010

FICHA CATALOGRÁFICA

C268 Cardoso, Karoline Greice Viana.

Rizobactérias promotoras do crescimento de mudas micropropagadas de bananeira e agentes de biocontrole do mal-do-Panamá (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*). / Karoline Greice Viana Cardoso. Cruz das Almas-Ba, 2010.

59f.; il.

Orientador: Harllen Sandro Alves Silva.
Co-orientador: Aldo Vilar Trindade

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

1.Banana. 2.Banana – Doença. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.

CDD: 634.772

Ficha catalográfica elaborada pela seção técnica da biblioteca central da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, campus Cruz das Almas-Ba.

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

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
KAROLINE GREICE VIANA CARDOSO**



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



Dr.ª. Elisa Esposito
Universidade Estadual de Feira de Santana - UEFS



Dr.ª. Élide Barbosa Correa
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB

Dissertação homologada pelo Colegiado do Curso de Mestrado em Microbiologia Agrícola em _____
Conferido o Grau de Mestre em Microbiologia Agrícola em _____

AGRADECIMENTOS

Mais um passo dado, e vou assim seguindo com o compasso da natureza...

Primeiramente, agradeço a Deus, meu guia, por me dar força e coragem;

Aos meus pais, Zão e Sarinha e aos meus irmãos, Karem e Klauber por me incentivarem e apoiarem em minha caminhada;

Aos sorrisos do meu sobrinho, Gustavo, que sempre acomodaram meu coração;

Ao meu marido, Vinícius (Paêta), meu companheiro, por todo carinho e compreensão, AMO VOCÊ!

Aos meus amigos de SEMPRE!! Muito obrigada pelo apoio!

Ao meu Tio Dr. Carlos Estevão Cardoso, pelas dicas e por ser exemplo de profissional. Quando eu “crescer” quero ser igual a você;

Ao Professor e amigo José Fernandez por sempre me incentivar;

Ao meu orientador, Professor Dr. Harllen Sandro Alves Silva, pela oportunidade e confiança depositada para desenvolvimento deste trabalho;

Ao Professor Dr. Miguel Angel Dita Rodriguez e a Professora Dr^a. Ana Cristina Fermino Soares pelas palavras de incentivo;

Aos funcionários da Embrapa, em especial a Seu João, grande profissional, grande coração, sempre disposto a ajudar.

Aos funcionários e estagiários do Laboratório de Microbiologia do Solo e Resíduos Orgânicos, Luciano, Jorge, Celma, Liliane, Kaly, Mary, Cleiton, Symara pelas conversas e sorrisos. Em especial a Jorge, Beth e Kaliane Araújo, pela ajuda nos experimentos;

A Jeferson Sá, Jurema e Carla, pelas preciosas dicas, muito obrigada;

As amigas do mestrado, Dayse Batista, Emília Gabriela, Carol Yamamoto, Neide, Jaqueline Leite, Patrícia; Emília Gabriela; Adriane, Luana, agradeço pela amizade e apoio;

Em especial, a Rafa, Adailson, Aline, Manu e Augusto, pelo carinho e pelas palavras...Nunca vou esquecer de vocês;

A Lene, técnica do Núcleo de Estudos em Microbiologia Aplicada (NEMA), pela atenção e carinho;

As funcionárias do colegiado da Pós-Graduação, Amália e Renata, por serem sempre prestativas;

A CAPES- REUNI pela concessão de bolsa de estudo;

Ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola da UFRB pela oportunidade;

A todos que fizeram parte do desenvolvimento deste trabalho.

MUITO OBRIGADA!

ÍNDICE

	Página
RESUMO	
ABSTRACT	
INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO 1	
Cultura da bananeira: Potencial de uso de rizobactérias na micropropagação <i>in vitro</i> e como agentes de biocontrole	3
1.1 A cultura da banana	6
1.2 Mal-do-Panamá	8
1.3 Micropropagação da bananeira	12
1.4 Rizosfera	13
2. Rizobactérias promotoras do crescimento de plantas.....	14
2.1 Solubilização de fosfato	16
2.2 Produção de sideróforos	17
2.3 Produção de ácido indol-acético	17
3. Rizobactérias no controle biológico de fitopatógenos	19
3.1 Rizobactérias indutoras de resistência sistêmica de plantas.....	21
CAPÍTULO 2	
Promoção do crescimento de mudas micropropagadas de bananeira e biocontrole do mal-do-Panamá por rizobactérias	24
Introdução	27
Material e Métodos.....	29
Resultados	36
Discussão.....	40
CONSIDERAÇÕES FINAIS	49
REFERÊNCIAS	50

RESUMO

Cardoso, K.G.V. Rizobactérias promotoras do crescimento de mudas micropropagadas de bananeira e agentes de biocontrole do mal-do-Panamá (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*)

A banana é fruto cultivado principalmente em países de clima tropical, estando o Brasil entre os maiores produtores mundiais. A bananeira é propagada comumente por brotos laterais de plantas adultas, o que proporciona maior possibilidade de contaminação por patógenos. A micropropagação *in vitro* constitui uma ferramenta alternativa a este modo de disseminação da cultura, por produzir mudas sadias e homogêneas. Entretanto, este processo elimina a presença de microrganismos que possam desempenhar algum mecanismo benéfico ao desenvolvimento das plantas. A utilização de rizobactérias pode induzir o enraizamento dos explantes, promover o crescimento das mudas, bem como proteger as plantas de patógenos. Os objetivos deste estudo foram: a) isolar e selecionar rizobactérias com capacidade de solubilizar fosfatos, produzir sideróforos, sintetizar ácido indol-acético, e inibir o crescimento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*; b) avaliar o potencial de promoção do crescimento dos isolados na fase de enraizamento e de aclimação em mudas de bananeira, cultivar Maçã. De um total de 200 rizobactérias, cinco isolados sintetizaram ácido indol-acético (PC04, PC45, PC107, PC37, PC05) e três isolados inibiram o crescimento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (262C, 106A e 23C). Nos estudos conduzidos em casa de vegetação a fase de aclimação demonstrou ser o melhor momento de aplicação destes isolados para a promoção de crescimento, com destaque para o isolado PC 107. Contudo, quanto ao controle biológico, a combinação dos isolados agentes de biocontrole não foi capaz reduzir a severidade do mal-do-Panamá nas mudas de bananeira cultivar Maçã. Esse trabalho confirma a potencialidade das rizobactérias no incremento da produção de mudas micropropagadas de banana.

Palavras-chaves: Banana, *Musa* sp., promoção de crescimento, controle biológico, mudas micropropagadas

ABSTRACT

Cardoso, K.G.V. Growth promoting rhizobacteria of micropropagated banana plantlets and biocontrol agents of mal-do-Panamá (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*)

Banana is an important fruit crop in tropical countries, including Brazil as one of the major producer in the world. Rhizomes (suckers), providing high risks of pathogen contamination and usually are used for the vegetative propagation of banana. The *in vitro* micropropagated plants are an alternative technique to that crop vegetative propagation, producing health and homogeneous plantlets. However, the technique removes microorganisms that could improve plant establishment. The introduction of rhizobacteria could induce rooting of plantlets, promote plantlet growth and suppress pathogen infection. The aims of the study were: a) isolate and select rhizobacteria able to solubilize phosphate, produce siderophores, indolacetic acid, and inhibit *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*; b) to evaluate the potential of rhizobacteria to growth promotion of banana plantlets in rooting and acclimatization phases. A total of 200 rhizobacteria were assayed and five were positive to indolacetic acid production (PC04, PC45, PC107, PC37, PC05); three strains were selected as potential biocontrol agents to *F.oxysporum* f. sp. *cubense* (262C, 106A and 23C). In greenhouse studies the acclimatization phase was the best time to introduce the rhizobacteria to promote growth, where strain PC107 had the highest performance. Mix of biocontrol rhizobacteria didn't reduce the Foc severity. This work confirms the potential of rhizobacteria in increasing the production of banana plantlets.

Keywords: Banana, *Musa* sp., growth promoting, biological control, micropropagated plants

INTRODUÇÃO

A banana é uma das fruteiras mais produzidas no Brasil colocando o país em quarto lugar entre os principais produtores mundiais. De acordo com dados do IBGE, a cultura da bananeira é cultivada de Norte a Sul do país, envolvendo desde a faixa litorânea até os planaltos interioranos. As Regiões Nordeste e Sudeste, juntas, respondem por 57% da produção nacional. Na Bahia a bananeira é uma importante fonte de geração de divisas, sendo o estado o segundo maior produtor nacional. A sua contribuição para o valor total da produção agrícola estadual é superior às culturas, do algodão e da laranja.

A propagação da banana por retirada e posterior plantio de brotos laterais da planta adulta, também denominados rebentos, é a forma mais utilizada para expandir os bananais. Desta forma, o risco de disseminar importantes patógenos como *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, *Micosphaerella fijense*, *Micosphaerella musicola* e *Ralstonia solanacearum* para áreas livres de infestação aumenta consideravelmente.

Para tentar reduzir ou até mesmo evitar a ocorrência de doenças, a técnica de micropropagação *in vitro* tem sido empregada por diversas biofábricas brasileiras que utilizam esta tecnologia para produção de mudas. A micropropagação *in vitro* a partir do ápice caulinar garante a produção de mudas com qualidade fitossanitária e que, no campo, têm se mostrado mais vigorosas, principalmente pela uniformidade genética e por estarem livres de doenças.

Entretanto, esta técnica não preserva a microbiota do explante, incluindo os microrganismos benéficos ao crescimento vegetal. A capacidade de microrganismos em promover a germinação de sementes e estimular o desenvolvimento de plantas de interesse comercial, vem sendo verificado, confirmando o potencial biotecnológico para fins de aumento da produtividade agrícola, biorremediação e busca de produtos comerciais.

Um grande número de estudos com microrganismos benéficos, como as rizobactérias, têm sido realizados com a intenção de melhorar o desempenho destas mudas no campo. Rizobactérias são bactérias de vida livre que colonizam a rizosfera das plantas, e que podem ser empregadas para o incremento da produção agrícola por estimularem o crescimento de plantas. Podem atuar

diretamente, pela síntese de reguladores de crescimento, mineralização da matéria orgânica e disponibilização de ferro e fósforo e indiretamente, no biocontrole de fitopatógenos.

Do ponto de vista econômico, a possibilidade de introdução de microrganismos que auxiliem o alongamento radicular em explantes, somados a capacidade de proteção das mudas contra o ataque de patógenos, são fatores altamente favoráveis à busca e seleção de rizobactérias para incorporação no processo de produção das mudas micropropagadas de bananeira.

No primeiro capítulo deste trabalho serão abordados aspectos da cultura da banana, propagação da cultura e como a aplicação de rizobactérias benéficas pode atuar na promoção do crescimento. Aspectos relacionados ao controle biológico do mal-do-Panamá bem como características do agente etiológico, sintomatologia e perspectivas do uso de microrganismos para o controle, foram também discutidos.

No segundo capítulo apresentam-se resultados da pesquisa sobre a aplicação de rizobactérias como promotoras do crescimento no processo de produção de mudas micropropagadas de bananeira. A hipótese em estudo fundamenta-se na idéia de que microrganismos residentes da rizosfera de bananeira teriam potencial de atuar como promotores do crescimento e agentes de controle de doenças. Diante deste contexto, 200 rizobactérias isoladas de plantas sadias de bananeira foram testadas para a promoção de crescimento de mudas micropropagadas e no biocontrole de *F. oxysporum* f. sp. *cubense*.

CAPÍTULO 1

**CULTURA DA BANANEIRA: POTENCIAL DE USO
DE RIZOBACTÉRIAS NA MICROPROPAGAÇÃO *IN VITRO* E
COMO AGENTES DE BIOCONTROLE**

RESUMO

Cardoso, K.G.V. Cultura da bananeira: potencial de uso de rizobactérias na micropropagação *in vitro* e como agentes de biocontrole.

Neste trabalho realizou-se um levantamento sobre as particularidades referentes à cultura da banana e sua forma de propagação por meio da micropropagação *in vitro* de mudas como alternativa aos problemas fitossanitários enfrentados pelos agricultores. Por serem cultivados de forma asséptica em meio de cultivo e em condições controladas de temperatura e umidade, explantes apresentam vantagens por estarem livres de microrganismos patogênicos que possam reduzir a produtividade da cultura; e a desvantagem da ausência da microbiota benéfica que possa atuar no crescimento das mudas e protegê-las de possíveis patógenos quando no campo. Rizobactérias promotoras do crescimento de plantas são descritas como um grupo de microrganismos promissores para a utilização no incremento de desenvolvimento vegetal. Diante da capacidade destes microrganismos em promover o crescimento de plantas, possíveis mecanismos de ação das rizobactérias foram descritos. Também foram discutidos aspectos sobre a utilização de microrganismos no incremento da produtividade de mudas da variedade Maçã, cultivar altamente susceptível ao fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. Como fator limitante à expansão da cultivar Maçã, aspectos referentes ao mal-do-Panamá, tais como etiologia, epidemiologia e alternativas de biocontrole foram abordados cuidadosamente. Em seguida, foram levantados aspectos sobre o controle biológico de doenças de plantas, utilizando microrganismos e o mecanismo de indução de resistência sistêmica, enfatizando a necessidade de realização de trabalhos nesta direção.

Palavras-chave: Banana, *Musa* sp., Mecanismos de ação, Rizobactérias

ABSTRACT

Cardoso, K.G.V. Banana plantations and their potential use of rhizobacteria *in vitro* micropropagation and as biocontrol agents

It was conducted a survey about the particulars relating to banana crop also way of propagation by tissue culture as an alternative to health plant problems faced by farmers. Grown aseptically in culture medium and under controlled temperature and humidity, these explants have the advantage of being pathogen microorganisms free that may affect crop productivity; and the disadvantage of natural and beneficial microbes absence that could act on growth seedlings and protect them from pathogens in the field. Plant growth-promoting rhizobacteria are described as promising microorganisms for increasing plant development. Mechanisms of seedling growth promoting by rhizobacteria were described. Also it was discussed about issues using microorganisms for productivity increasing of 'Maçã' cultivar, susceptible to *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense*. Aspects relating to the Panama Disease, such as etiology, epidemiology and biocontrol alternatives are discussed thoroughly. Issues were discussed about the biological control of pathogens applying microorganisms and mechanism of induced systemic resistance, emphasizing need to develop research in this direction.

Keywords: Banana, *Musa* sp., Mechanisms of action, Rhizobacteria

1.1. A cultura da banana

A bananeira (*Musa* sp.) é uma planta herbácea, caracterizada por possuir caule tipo rizoma, de onde partem as raízes primárias. Apresenta um sistema de raízes fasciculadas predominantemente superficiais e, dependendo da variedade, podem atingir horizontalmente até 5 m (SOUZA e BORGES, 2004). Seu fruto, a banana, destaca-se mundialmente tanto no que se refere à produção, comercialização e importância nutricional, sendo o quarto produto alimentar mais produzido mundialmente permanecendo atrás do arroz, trigo e milho (VIEIRA, 2009), sendo considerado um importante alimento em razão de sua composição química e conteúdo em vitaminas e minerais, principalmente o potássio.

De acordo com a classificação botânica a bananeira é uma monocotiledônea pertencente à classe Liliopsida, ordem Scitaminea, família Musaceae, sub-família Musoideae e gênero *Musa*. Este gênero apresenta grande importância por constituir o maior número de espécies, apresentar ampla distribuição geográfica e abranger espécies comestíveis (DANTAS e FILHO, 2000). A bananeira tem origem na Ásia, sendo posteriormente disseminada para várias partes do mundo, com destaque para países de clima tropical e subtropical, onde encontrou condições favoráveis para uma boa produção (NELSON et al., 2006).

Em 2008, a Índia se destacou como principal produtor mundial de banana com pouco mais de 23 milhões de toneladas produzidas, ficando o Brasil em quarto lugar com cerca de 7 milhões de toneladas de banana (Figura 1), onde a produtividade desta cultura no Brasil está em torno de 14 t ha⁻¹, muito abaixo das 35 t ha⁻¹ observadas na Índia (FAO, 2010) (Figura 2), colocando o país na quinta posição no *ranking* de produtividade. Esta baixa produtividade está associada à incidência de pragas, manejo mal conduzido, e deficiência nutricional.

A produção de banana no Brasil em outubro de 2010 atingiu 7.385.196 toneladas tendo como principais Estados produtores São Paulo, Minas Gerais e Bahia. A bananeira é muito explorada na região Nordeste, com a produção em outubro de 2010, 2.994.969 toneladas, ocupando a região o 1º lugar em relação à produção total do país (Figura 3). No mesmo período, o estado da Bahia contribuiu com 19% da produção da região nordeste, sendo importante para o

agronegócio e essencial na geração de renda para pequenos agricultores (IBGE, 2010).

Produção mundial de banana



Figura 1. Produção de banana no ano de 2008 pelos principais países produtores. Fonte: FAO, 2010.

Produtividade da banana (t/ha)

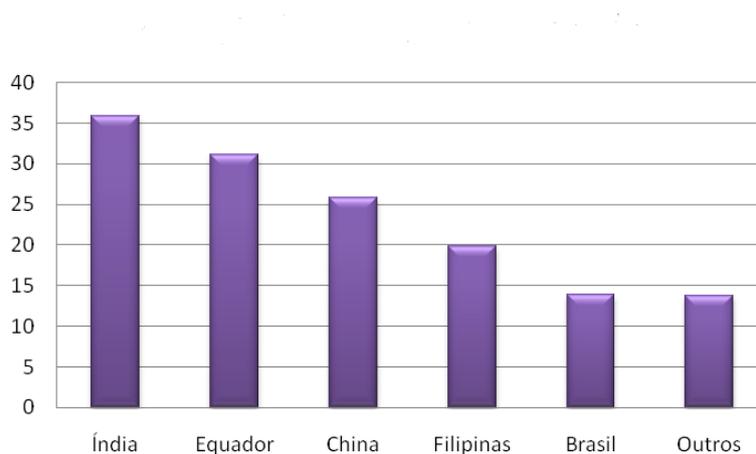


Figura 2. Produtividade mundial de banana no ano de 2008. Fonte: FAO, 2010.

Produção brasileira de banana

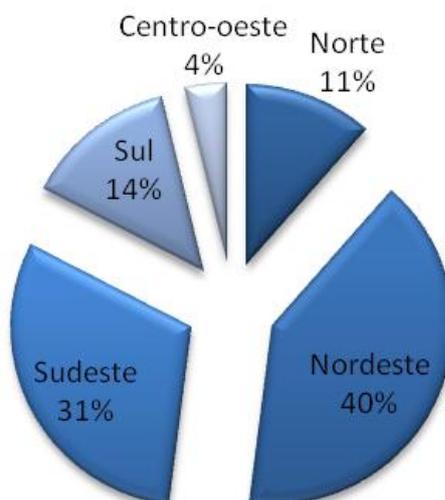


Figura 3. Produção brasileira de banana, subdividida em regiões, outubro de 2010. Fonte: IBGE- Produção Agrícola, 2010.

A Bahia inclui-se entre principais estados produtores de banana, com a produção concentrada na agricultura de base familiar, que representa 60% dos produtores rurais, na faixa dos 50 ha, garantindo emprego e renda. Esta cultura gera aproximadamente, 14 mil empregos diretos e 20 mil indiretos (Notícias da Bahia, 2008).

Em todo o Brasil são encontradas condições edáficas favoráveis para o cultivo da banana (SOUZA e BORGES, 2004) desde a faixa litorânea até os planaltos do interior, o que deixa o país entre os maiores produtores mundiais (NOMURA e FUZITANI, 2005). Em muitos estados brasileiros, depois da laranja, a banana é a fruteira mais cultivada, com expressiva quantidade produzida e área plantada (VIEIRA, 2009). Entre as variedades mais cultivadas estão: Maçã, Pacovan, Prata Anã, Terra (mercado interno) e Nanica, Nanicão e Grande Naine (exportação) (SILVA et al.,2004).

1.2. Mal-do-Panamá

As doenças fúngicas são as mais importantes na cultura da bananeira, destacando-se tanto pelo número e diversidade de espécies fitopatogênicas que afetam os bananais, como pelas perdas que são causadas, limitando a

produtividade (CORDEIRO et al., 2004). Dentre as doenças provocadas por fungos, o mal-do-Panamá é considerado uma das doenças mais destrutivas da banana, sendo fator limitante para o cultivo de variedades apreciadas pelo mercado, como a Maçã (CORDEIRO et al., 2004).

O mal-do-Panamá, doença causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Snyd e Hansen, foi constatada no Panamá em 1904. No Brasil, foi inicialmente verificada em 1930 no município de Piracicaba (São Paulo) e nos dias atuais pode ser encontrada em todas as regiões do mundo que produzem a banana (NOGUEIRA, 2002). Segundo ALVES et al., (2004) esta doença vascular provoca elevadas perdas, infectando as cultivares Maçã (altamente suscetível), Prata Comum e Prata Anã (suscetível).

Fusarium é um gênero cosmopolita, encontrado em regiões tropicais e subtropicais com ampla distribuição geográfica, englobando espécies não-patogênicos e patogênicos; dentre os patogênicos, destaca-se, o causador do mal-do-Panamá (FOURIE et al., 2009), um fungo mitospórico, cuja forma perfeita ainda não é conhecida.

Fusarium oxysporum produz os seguintes tipos de esporos assexuais: microconídio, macroconídio e clamidósporos. Microconídios e macronídios são estruturas reprodutivas produzidas pelo fungo em condições favoráveis, enquanto, os clamidósporos são estruturas de resistência produzidas por micélios ou macroconídios (AGRIOS, 2004). Tais estruturas viabilizam a sobrevivência na ausência de hospedeiro, permanecendo no solo por um longo período, até que essas possam germinar quando em contato com as raízes do hospedeiro (DAVIS, 2005; FERNANDES, et al., 2006).

O gênero *Fusarium* apresenta uma taxonomia muito complexa, dividida em, *formae speciales* e raças. São denominados *formae speciales* (f. sp.) quando diferem na sua especificidade em atacar hospedeiros distintos (OLIVEIRA e COSTA, 2003). Raças são subdivisões dentro de *formae speciales*, no tocante à suscetibilidade do hospedeiro a todos os tipos clonais diferentes do isolado patogênico (SMITH, 2007). As raças de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* que atacam a cultura da bananeira são as 1, 2 e 4, enquanto que a raça 3 ocorre apenas em *Heliconia* sp. (FERNANDES et al, 2006). Plantas susceptíveis infectadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raramente se recuperam.

O patógeno pode ser disseminado pelo contato de mudas ou plantas jovens com fragmentos de raiz ou solo contaminado, com esporos veiculados por ferramentas agrícolas, além de irrigação, drenagem e inundação (CORDEIRO et al., 2004). A proliferação da doença é favorecida por condições de alta umidade e pH, temperatura, fertilidade desequilibrada, solos arenosos, ferimentos nas raízes e cultivares suscetíveis (NOGUEIRA, 2002).

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

Entre os sintomas externos são observados amarelecimento progressivo das folhas mais velhas para as mais novas, começando pelos bordos do limbo foliar e evoluindo no sentido da nervura principal, em seguida, as folhas murcham e quebram junto ao pseudocaule dando aparência de um guarda-chuva fechado (Figura4). Verificam-se ainda descoloração vascular e rachaduras no pseudocaule (KUPPER, 2005; CORDEIRO et al., 2004). Internamente, pode-se observar coloração pardo-avermelhada provocada pela presença do patógeno nos vasos que se inicia na área periférica em direção ao centro da bainha (CORDEIRO et al., 2004). Sintomas da doença não têm sido observados nos frutos, no entanto, plantas doentes quando produzem frutos apresentam valor comercial comprometido.

Estratégias para o controle do mal-do-Panamá como o uso de genótipos resistentes têm sido realizados pelo Programa de Melhoramento Genético da bananeira da Embrapa Mandioca e Fruticultura - PMG Bananeira, que recomenda o uso de variedades resistentes a depender do mercado consumidor e destino da produção, já que a aplicação de controle químico não é eficiente (SILVA et al., 2004).

Atualmente, o uso de genótipos resistentes refere-se a uma forma efetiva de combate da doença (JONES, 2000), todavia, o melhoramento genético em bananeira é considerado complexo e demorado, devido às características da cultura. Desta forma, medidas de controle alternativas devem ser estudadas no sentido de minimizar as perdas provocadas pela doença.



Figura 4. Sintomas do mal-do-Panamá em plantas de bananeira. **(A)** Murcha e amarelecimento foliar em planta com mal-do-Panamá. **(B)** Rachadura do Pseudocaule de planta com mal-do-Panamá. **(C)** Corte horizontal mostra a linha de vasos infectados que começam e segue em direção ao ápice da bainha. **(D)** Presença do patógeno verificada pela descoloração pardo-avermelhada na área periférica, centro sem sintomas. (CORDEIRO et al.,2004)

1.3. Micropropagação da bananeira

A propagação da bananeira pode ser realizada por divisão vegetativa, e no caso de algumas espécies, por sementes, sendo a maioria dos plantios realizados com mudas retiradas de brotos laterais de plantas adultas (ALVES et al., 2004; NELSON, 2006). No entanto, este sistema convencional pode comprometer a qualidade fitossanitária das mudas, uma vez que diversas doenças podem ser disseminadas pelos rebentos, limitando assim os ganhos com a cultura (PEREIRA, et al., 2005).

Outras formas de propagação da bananeira têm sido desenvolvidas com o objetivo de melhorar a qualidade das mudas. A técnica de micropropagação tem merecido destaque, já que proporciona no período de 6 a 8 meses a produção de 150 a 300 mudas da matriz. Esta técnica envolve a produção de mudas provenientes da cultura de tecidos, ou seja, brotos desenvolvidos *in vitro* a partir de gemas (ápices ou caules laterais) formando novas gemas em condições de assepsia (SANTOS e RODRIGUEZ, 2004).

O processo tem início com a escolha do segmento da planta que será utilizado, para a produção micropropagada de banana onde, geralmente utiliza-se material de ápice caulinar, tipo chifrinho (20 cm) apresentando bom estado de sanidade. Em seguida, o material é desinfestado e passa por sucessivas reduções, mediante retirada da bainha e corte do rizoma. Após esta etapa, o explante é transplantado em meio de cultura por 20 a 30 dias (ALVES et al., 2004). Na fase de proliferação de brotos, os explantes são multiplicados em meio MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) suplementado com o hormônio citocinina benzilaminopurina (BAP), sendo realizados até cinco subcultivos para assegurar a estabilidade genética da planta (ALVES et al., 2004). De acordo com LINS et al. (2003) na etapa de enraizamento, utiliza-se o meio MS acrescido de ácido naftalenoacético (ANA). As plantas que apresentarem boa formação de raízes são encaminhadas para a aclimatação em casa de vegetação e após 90 dias disponibilizadas ao agricultor. Este procedimento tem facilitado o acesso dos agricultores a mudas tradicionais e melhoradas geneticamente, apresentando bom estado de sanidade (ALVES et al., 2004).

Mudas produzidas *in vitro* representam uma alternativa viável para minimizar a disseminação de doenças, apresentando como vantagens, a produção de mudas em espaço físico reduzido, alta qualidade fitossanitária e genética, assim como, facilidade de transporte e uniformidade no desenvolvimento das plântulas (ALVES et al., 2004; PEREIRA et al., 2005). Contudo, esta técnica além de produzir mudas livres de patógenos por serem cultivadas em condições assépticas, priva a plântula de sua microflora natural e benéfica (LINS et al., 2003). LEAL et al., (2005) utilizando o fungo micorrízico arbuscular (FMA), *Glomus clarum* avaliou a eficiência no crescimento em mudas micropropagadas de bananeira, cultivar Prata-Manteiga, verificando aumento no crescimento e no acúmulo de nutrientes pelas mudas. LINS et al., (2003) com o objetivo de avaliar a possibilidade de reduzir o tempo de cultivo *in vitro* de mudas micropropagadas de bananeira variedade Caipira, procedeu inoculação com o FMA, *Gigaspora margarita*, concluindo que o início da fase de aclimatação pode ser antecipada quando tratada com o fungo.

BORGES et al., (2007) também utilizou *Gigaspora margarita* para avaliar a densidade do mal-do-Panamá em bananeira da variedade Maçã, constatando que a inoculação prévia do FMA reduziu a infecção causada pelo patógeno. O trabalho de WEBER et al., (2000) foi pioneiro em demonstrar a contribuição de bactérias diazotróficas em mudas micropropagadas de bananeira, neste ensaio, o autor verificou que plântulas de cv. Prata Anã inoculadas com *Herbaspirillum* apresentaram maior crescimento, enquanto, que em plântulas de cv. Caipira, o mesmo efeito foi observado com inóculo de *Burkholderia*, e que a inoculação dos dois gêneros proporcionou melhor desenvolvimento de cv. Caipira.

Muitos estudos introduzindo microrganismos previamente selecionados têm sido realizados para melhorar a eficiência destas mudas, como fungos micorrízicos arbusculares (LEAL et al., 2005), rizobactérias (SOTERRO et al., 2006), bactérias diazotróficas (ALVES et al., 2004). Estes microrganismos atuam estimulando o desenvolvimento de mudas saudáveis e aptas para o plantio.

1.4. Rizosfera

Os solos abrigam uma complexa comunidade biológica formada por uma grande biodiversidade de organismos capazes de assegurar estabilidade e

produtividade de sistemas agrícolas e naturais. Dentre estes organismos encontra-se uma diversificada comunidade microbiana convivendo em equilíbrio dinâmico com o ambiente (EHRENFELD et al., 2005; BAREA et al., 2005). De acordo com DANTAS et al., (2009) uma grande variedade de interações são desenvolvidas dentro e entre comunidades microbianas que vão desde mutualísticas a antagônicas.

A rizosfera é a região do solo que circunda a raiz e que sob a influência do sistema radicular disponibiliza exsudatos radiculares, compostos que são utilizados como substrato para o crescimento, muitas vezes seletivo de microrganismos, incluindo os fitopatogênicos (COMPANT et al., 2005). Entre os compostos orgânicos liberados pelas raízes das plantas incluem-se aminoácidos, ácidos graxos, nucleotídeos, ácidos orgânicos, fenólicos, reguladores de crescimento, esteróis, açúcares e vitaminas (LUGTENBERG e KAMILOVA, 2009). Variações nos níveis desses compostos podem depender da condição fisiológica da planta e da presença de microrganismos (LUGTENBERG e KAMILOVA, 2009) além, da condição e estágio de desenvolvimento da planta, que pode alterar a diversidade e a dinâmica populacional dos microrganismos (DANTAS et al., 2009; ALBAREDA et al., 2006). Segundo BOWEN e ROVIRA (1999), a diversidade destes microrganismos na rizosfera influi na absorção de nutrientes e tolerância das adversidades do meio pelas plantas.

2. Rizobactérias promotoras do crescimento de plantas

Rizobactérias são microrganismos que crescem próximo às raízes, influenciadas pelos exsudatos radiculares (COMPANT et al., 2005; DANTAS et al., 2009). Em associação com as plantas, as rizobactérias podem ter efeito deletério, nulo ou benéfico. As rizobactérias benéficas são conhecidas como rizobactérias promotoras do crescimento de plantas ou PGPR, do termo em inglês "plant growth-promoting rhizobacteria".

Entre os microrganismos cultiváveis, de acordo com ROMEIRO (2007a) estima-se que uma pequena parcela dos microrganismos possa ter algum efeito benéfico quando associada à planta. Segundo Chen et al. (1996), não mais do que 2 % do total de microrganismos existentes, considerando microrganismos endofíticos, rizosféricos e epifíticos são benéficos.

O primeiro relato da utilização de bactérias na agricultura, ainda que empírico, tem registro desde a antiguidade (MARIANO et al., 2004). Os primeiros trabalhos científicos envolvendo a introdução de antagonistas microbianos no controle de enfermidades de plantas foram iniciados na década de 1920-1940, com destaque para os chineses, utilizando rizobactérias como ativadores de defesa e promotoras de crescimento de plantas (ROMEIRO, 2007a). No Brasil, os primeiros trabalhos foram realizados na década de 80 com o objetivo de promover o crescimento de tomateiro e cafeeiro em condições de casa de vegetação (MARIANO et al., 2004). Atualmente, diversos grupos de pesquisa no Brasil e no mundo trabalham com rizobactérias visando o controle de doenças e promoção do crescimento de plantas.

A associação entre rizobactérias e raízes de plantas, varia com a capacidade de mobilidade da bactéria, adesão a raiz e taxa de liberação dos exsudatos pelas raízes (LUGTENBERG e KAMILOVA, 2009). De acordo com a localização nas raízes as bactérias podem ser classificadas em, rizobactérias - vivem próximas ou colonizando a rizosfera e bactérias endofíticas – residentes de espaços intercelulares e/ou dentro de células (GRAY e SMITH, 2005). As rizobactérias possuem sistemas eficazes de captação de compostos orgânicos eliminados pela raiz, enquanto, as endofíticas tem acesso direto aos compostos orgânicos presentes no apoplasto (TILAK et al., 2005).

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

Rizobactérias são microrganismos capazes de atuarem na promoção de crescimento (HARTHMANN et al., 2010) e no controle biológico de doenças de plantas (LUZ, 2001). Gêneros como *Azospirillum*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* e *Serratia*, já foram descritos por serem capazes de exercer algum efeito benéfico no crescimento das plantas (TILAK et al., 2005). SOTERRO et al. (2006)

observaram a capacidade de isolados de rizobactérias em promover o crescimento de plantas de alface. O trabalho de DONZELI (2006) demonstrou que isolados de *Pseudomonas spp.* do grupo fluorescente podem ser utilizados na promoção de crescimento em mudas de alface. HARTHMANN et al. (2010) verificaram que tratamentos com rizobactérias promoveram aumento da massa fresca das plantas e na produção de bulbos de cebola, com a espécie *Bacillus megaterium*, promovendo maior produção dos bulbos.

Efeitos benéficos promovidos pelas rizobactérias envolvem mecanismos que podem atuar de forma direta, como biofertilizantes e fitoestimuladores (LUGTENBERG e KAMILOVA, 2009) aumentando a disponibilidade de nutrientes e sintetizando reguladores de crescimento, e de forma indireta (LUZ, 2001; AMORIN e MELLO, 2002; LADEIRA et al., 2004; SILVA et al., 2004a) envolvendo aspectos de biocontrole de fitopatógenos.

Entre os mecanismos de promoção de crescimento que ocorrem de forma direta verifica-se, a capacidade de solubilização de fosfatos, a fixação biológica de nitrogênio, a síntese de sideróforos, a produção de fitormônios, entre outros (OLIVEIRA et al., 2003).

2.1. Solubilização de fosfato

O fósforo constitui um elemento essencial ao desenvolvimento dos vegetais, compondo a estrutura de moléculas como ácidos nucleicos e fosfolipídios. Embora exista no solo em grandes quantidades, dependendo das características do solo este elemento não se encontra na forma de fósforo livre, para que as plantas possam absorvê-lo. Segundo ROMEIRO (2007a), a solubilização de fosfatos na rizosfera representa o modo mais comum de ação de PGPRs, já que estes microrganismos exercem papel no ciclo natural do fósforo.

Baixos níveis de fosfato solúvel no solo podem limitar o crescimento de espécies vegetais, portanto, rizobactérias capazes de solubilizar fosfato pela produção de ácidos orgânicos (glucônico, láctico, acético, isobutírico), ácidos inorgânicos (sulfídrico, nítrico e carbônico) e pela síntese de enzimas (fosfatases, fitases, fosfonatases, C-P liase) podem estimular o desenvolvimento das plantas (OLIVEIRA et al., 2003; LUTENBERG e KAMILOVA, 2009). Entre os principais

gêneros solubilizadores de fosfato podem-se citar *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Agrobacterium* e *Erwinia* (OLIVEIRA et al., 2003).

2.2. Produção de sideróforos

O ferro é um metal de grande importância na nutrição das plantas, por ser constituinte do citocromo e de outras proteínas e enzimas. Apesar de ser encontrado em abundância na natureza, este elemento não é encontrado na forma disponível para as plantas (ROMEIRO, 2007a).

Sideróforos são moléculas localizadas no lado externo da membrana celular capazes de seqüestrar o íon ferro, este se liga a receptores específicos localizados na membrana por onde são absorvidos (OLIVEIRA et al., 2003).

As rizobactérias produtoras de sideróforos atuam como promotoras de crescimento e agentes de biocontrole, respectivamente, pela capacidade de disponibilizar Fe^{+3} para as plantas em ambientes com baixos níveis desse elemento e de reduzir a proliferação de fitopatógenos no ambiente rizosférico seqüestrando a maior parte do Fe^{+3} como mecanismo antagonista (ROMEIRO, 2007a; RAMAMOORTHY et al., 2001). Com destaque para os gêneros, *Aerobacter*, *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, *Micobacterium* (BENITE e MACHADO, 2002).

2.3. Produção de ácido indol-acético

Reguladores de crescimento constituem um grupo de substâncias capazes de controlarem processos fisiológicos vegetais. Estes compostos constituem moléculas pequenas com tamanhos que variam de 28 a 346 Da, atuando com efeito (s) específico (s) no crescimento e desenvolvimento das plantas (TAIZ-ZEIGER, 2004). Os reguladores de crescimento são caracterizados em cinco principais grupos (auxinas, giberilinas, citocininas, etileno, ácido abscísico) baseados em sua estrutura química e efeitos fisiológicos. Entre as auxinas destaque-se o ácido indol-ácético (KHAKIPOUR et al., 2008).

A produção de ácido indol-ácético (AIA) interfere principalmente no crescimento e diferenciação do sistema radicular vegetal (TAIZ e ZEIGER, 2004). Esse regulador é sintetizado principalmente no meristema apical (gema) do caule

e transportado através das células do parênquima até as raízes (MARCHIORO, 2005). SOLANO et al. (2008), sugerem uma visão mutualista da interação entre planta e produção de AIA por microrganismos, já que o fornecimento de auxinas promove o crescimento de plantas e, desta forma, há mais exsudatos e mais nutrientes para a bactéria.

As rizobactérias dos gêneros, *Azotobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Rhizobium*, *Bacillus* e *Enterobacter* podem estimular a emergência das sementes e o enraizamento de vegetais pela produção de AIA (OLIVEIRA, 2009; KHAKIPOUR et al., 2008).

Os tecidos radiculares são sensíveis aos níveis de AIA, desta forma seu efeito pode variar de benéfico a deletério. Em baixas concentrações é capaz de estimular o crescimento do sistema radicular das plantas, enquanto que em altas concentrações, pode inibir o crescimento das raízes (JAGADEESH et al., 2006; LAMBRECHT et al., 2000). O nível de AIA produzido pelas bactérias sofre a influência do crescimento bacteriano, da atividade metabólica e da expressão de genes que codificam enzimas para a sua biossíntese (LAMBRECHT et al., 2000). Segundo MARCHIORO, (2005) a biossíntese de AIA por bactérias ocorre por diversas vias, entre elas: via ácido indol-3-pirúvico (IPyA), via indol-3-acetamida (IAM), via Triptamina (TAM). O AIA é comumente sintetizado na presença do aminoácido Triptofano, considerado seu principal precursor (LUGTENBERG e KAMILOVA, 2009).

O tratamento da planta com PGPRs produtoras de AIA pode promover o aumento da massa radicular, por estímulo do alongamento radicular e de raízes laterais. Estas modificações melhoram a eficiência do processo de absorção de água e nutrientes pela planta hospedeira (BAREA et al., 2005; LAZZARETTI e MELO, 2005).

TEIXEIRA et al. (2007) verificaram que dos 107 isolados selecionados da rizosfera, 10 mostraram-se capazes de induzir o enraizamento de mudas de eucalipto. KHALID et al. (2004) confirmaram o potencial de biossíntese de auxina por rizobactérias, por meio do aumento do peso seco e do alongamento da raiz em plântulas de trigo. SACHDEV et al. (2009) relatam que seis isolados de *Klebsiella* da rizosfera de trigo produtores de AIA favoreceram significativamente o alongamento radicular. SILVA (2007) verificou a produção de ácido-indol-ácetico

em 88,9 % das rizobactérias selecionadas na cultura do cacauzeiro, resultando no aumento do peso seco da raiz.

3. Rizobactérias no controle biológico de fitopatógenos

Plantas resistentes produzidas por melhoramento genético e induzidas com compostos químicos são frequentemente usadas no controle de doenças de plantas (LUGTENBERG e KAMILOVA, 2009).

Com a crescente preocupação da sociedade com o impacto que o uso constante de agrotóxicos na agricultura pode provocar tanto para a saúde da população como para o equilíbrio dos sistemas biológicos, tem-se considerado a necessidade de se reduzir o emprego de produtos químicos, buscando um sistema de produção apoiado nos princípios agroecológicos (MORANDI e BETTIOL, 2009).

O controle biológico de doenças de plantas surge como alternativa para o manejo de diversos fitopatógenos (MORANDI e BETTIOL, 2009). O controle biológico envolve a redução da densidade populacional do patógeno, a proteção biológica da superfície de plantas e o controle dentro da planta (SILVEIRA, 2001).

O interesse em utilizar microrganismos como agentes de biocontrole na agricultura têm aumentado significativamente, devido a uma maior conscientização sobre a preservação do meio ambiente, representando uma excelente alternativa para a redução do uso de insumos químicos (SOUZA, 2001). Assim, a interação de plantas com microrganismos com potencial de atuação como agentes de biocontrole pode reduzir o uso de defensivos químicos, custos de produção e impacto negativos no meio ambiente (ROMEIRO e BATISTA, 2002).

Uma variedade de microrganismos como actinobactérias (EL-TARABILY et al., 2009), bactérias endofíticas (LIU et al., 2009; ZHAO et al., 2010), fungos (ROSA et al., 2009) e bactérias rizosféricas (TROTEL-AZIZ et al., 2008) podem atuar no controle de patógenos de plantas. Interações antagônicas e parasitárias têm sido exploradas na área de controle biológico de microrganismos patogênicos (DUFFY et al., 2003). Entre estes microrganismos, as rizobactérias podem atuar no controle do crescimento, infectividade, virulência e agressividade do patógeno (SILVEIRA, 2001). Bactérias com capacidade de controlar doenças

de plantas podem atuar por antagonismo direto, ou por indução de resistência, na forma de isolados individuais ou formando combinados (WHIPPS et al., 2001).

O controle microbiano de doenças representa um processo complexo envolvendo não somente o patógeno e a planta, mas também a microbiota circundante e o substrato (solo) para o crescimento da planta; sendo que alguns solos chamados supressivos contém bactérias que protegem as plantas contra o ataque de patógenos (LUGTENBERG e KAMILOVA, 2009).

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

Diversas pesquisas têm mostrado rizobactérias suprimindo doenças causadas por patógenos de plantas em culturas economicamente importantes como, tomate (SILVA et al., 2004b), trigo (LUZ, 2001), eucalipto (LADEIRA, 2004), citrus (AMORIM e MELO, 2002), verificando a redução do crescimento e infecção do patógeno.

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

No trabalho realizado por LADEIRA, (2004) foram avaliados o potencial de 11 isolados de rizobactérias no controle da mancha foliar, com resultado positivo de todos os isolados para o teste *in vitro*, destacando-se para o teste *in vivo* o isolado FL₂. AMORIM e MELO, (2002) testaram o potencial antagônico de 33 rizobactérias contra *Phytophthora parasítica* e *Phytophthora cytophthora*, verificando que todos os isolados proporcionaram redução da podridão radicular do citrus. IDRIS et al. (2007) utilizaram rizobactérias para o controle da podridão da raiz em sorgo, incitada por *Fusarium oxysporum*, via tratamento do solo,

observando redução na incidência da doença em condições de casa de vegetação.

3.1. Rizobactérias indutoras de resistência sistêmica de plantas

As plantas possuem diversos mecanismos de defesa que podem permanecer inativos ou latentes, ativados quando expostos ao agente de indução (BARROS et al., 2010). Este processo de ativação tem início, com o reconhecimento de um indutor bioquímico que aciona o sistema de defesa conduzindo a uma cascata de eventos de transdução de sinais que irá ativar genes, resultando em uma resposta de defesa (ROMEIRO, 2007a). A resistência induzida pode ser expressa sistematicamente em toda planta ou no local específico do tratamento (VAN LONN et al., 1998).

Existem dois tipos principais de resistência: Resistência Sistêmica Adquirida ("Systemic Acquired Resistance" - SAR) e Resistência Sistêmica Induzida ("Induced Systemic Resistance" - ISR), estes eventos apresentam rotas metabólicas distintas e características fenotipicamente semelhantes (SILVA et al., 2008). Os agentes elicitores de resistência podem ser bióticos (patogênicos e não-patogênicos) ou abióticos (produtos químicos) (ROMEIRO, 2007a), com sua atividade relacionada de acordo com a capacidade de sensibilizar a planta e ativar seus mecanismos de defesa.

A resistência sistêmica adquirida (SAR) tem como agentes ativadores patógenos ou substâncias químicas. Este mecanismo se caracteriza pela manifestação ou produção de um sinal liberado do sitio de infecção, causando necrose na planta e a translocação deste sinal para outras partes da planta. Esta seqüência de reações induz a defesa que protegerá a planta contra agressões que possam ocorrer posteriormente (VAN LOON et al., 1998).

A resistência sistêmica induzida (ISR) favorece a defesa da planta contra um amplo espectro de patógenos após estimulação apropriada conduzindo a sistemicidade da proteção pela ativação de genes que se expressam pela síntese de componentes de resistência (TEIXEIRA et al., 2005). Neste processo o indutor não provoca sintomas, com a necrose no local da infecção, mas induz a planta a se proteger sistemicamente (SILVA et al., 2008).

O mecanismo de indução de resistência sistêmica de plantas mediada por rizobactérias resulta em processos fisiológicos como: aumento da produção de fitoalexinas, lignificação, estímulo da atividade enzimática da peroxidase e quitinase e maior expressão de genes relacionados à resistência (WHIPPS et al., 2001).

Além disso, critérios como, ausência de efeito tóxico do agente indutor sobre o patógeno, necessidade de um intervalo de tempo entre a aplicação do indutor e o aparecimento de proteção na planta, ausência de correlação dose-resistência, inespecificidade da proteção, ocorrência sistêmica, dependência do genótipo da planta e seu nível de resistência, são utilizados como elementos para identificar a ocorrência de ISR mediada por rizobactérias em plantas (VAN LOON et al., 1998).

Estudos mostram que isolados bacterianos podem induzir ISR contra múltiplos patógenos, podendo essa ser uma alternativa viável ao uso de agrotóxicos, fornecendo um efetivo, econômico e prático meio para a proteção de plantas, por meio da ação sinérgica de diferentes mecanismos de ação (TEIXEIRA et al., 2005; SILVA, 2004a; ROMEIRO e GARCIA, 2009). A ISR mediada por rizobactérias tem sido relatada para culturas de feijão, cravo, pepino, rabanete, tabaco, tomate contra diversos patógenos de plantas (PIETERSE et al., 2000).

TEIXEIRA et al., (2005) testaram a capacidade de isolados de rizobactérias em induzirem resistência contra a ferrugem do eucalipto (*Eucalyptus* spp.) causada por *Puccinia psidii*, apresentando os isolados FL2 e MF4, como os mais eficientes. Os resultados desta pesquisa indicam que estas rizobactérias podem otimizar a produção de mudas de eucalipto. SARAVAKUMAR et al. (2007) testaram a eficácia de *Bacillus* e *Pseudomonas* na redução da doença foliar, em plantas de *Camellia sinensis*, esse experimento revelou que a aplicação de *Pseudomonas fluorescens* Pf1 reduziu a incidência da doença por indução de resistência. O processo de IRS foi detectado pela produção aumentada de enzimas como peroxidase, polifenol oxidase, fenil alanina amônio-liase.

O tratamento de plantas de arroz com dois isolados de *Pseudomonas fluorescens* levou à indução de resistência sistêmica doença causada por *Rhizoctonia solani*, causando a redução da severidade da doença pelo aumento da atividade da peroxidase e quitinase (NANDAKUMAR et al., 2001). Em SILVA

et al. (2004a), três isolados positivos para indução de resistência, foram testados contra doenças causadas por *Alternaria solani*, *Corynespora cassicola*, *Oidium lycopersici*, *Stemphium solani* e *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. Destacando-se o isolado B101R por reduzir o número das lesões causadas por *A. solani*, *S. solani* e *O. lycopersici*, sendo confirmado o processo de indução sistêmica por ação não específica do antagonista, separação espacial e verificação do aumento da atividade das enzimas lipoxigenase e peroxidase.

CAPÍTULO 2

**PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO DE MUDAS
MICROPROPAGADAS DE BANANEIRA E BIOCONTROLE DO
MAL-DO-PANAMÁ POR RIZOBACTÉRIAS**

RESUMO

Cardoso, K.G.V. Promoção do crescimento de mudas micropropagadas de bananeira e biocontrole do mal-do-Panamá por rizobactérias

A bananicultura é uma atividade de relevância sócio-econômica para diversos países de clima tropical, como o Brasil. Todavia, a forma convencional de propagação vem prejudicando a produtividade dos bananais. A propagação *in vitro* de fruteiras, por meio da técnica de micropropagação representa uma alternativa viável a produção de mudas com boa procedência. Considerando a ausência de microbiota que possa atuar benéficamente no crescimento e proteção destas mudas, este estudo teve como objetivo verificar o uso potencial de bactérias associadas a rizosfera de bananeira. Inicialmente, procedeu-se o isolamento de rizobactérias de bananeira das variedades Prata Anã e Prata Comum. 200 rizobactérias foram isoladas, das quais foram selecionadas cinco produtoras de ácido indol-acético (PC04, PC45, PC107, PC05, PC37) e três (PC262, PA106, PC23) agentes de biocontrole do *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. No estudo destes isolados em casa de vegetação durante as fases de enraizamento e aclimação, foi possível verificar a fase de aclimação como melhor momento de aplicação de rizobactérias, com destaque para o isolado PC107 como promissor para promoção do crescimento. A combinação de isolados (PC04 + CB, PC45+CB, PC107+CB) agentes de biocontrole não proporcionou a redução da severidade do mal-do-Panamá. Isolados de rizobactérias apresentam potencial para promoção de crescimento em mudas de bananeira micropropagadas.

Palavras-chaves: Banana, *Musa* sp., Micropropagação, Controle biológico

ABSTRACT

Cardoso, K.G.V. Promoting growth of micropropagated banana plantlets and biocontrol of mal-do-Panamá by rhizobacteria

The banana cultivation is an activity of socio-economic relevance to many tropical countries, with Brazil among its main representatives. However, the conventional way for propagation has harmed productivity of plantations. The tissue culture cultivation of fruit plants through micropropagation technique presents a viable alternative to seedling development. Considering absence of microorganisms that could act on growth and protection of these plants, this study aimed to investigate the potential use of bacteria from banana rhizosphere. Firstly proceeded to isolation of rhizobacteria from banana cultivars 'Prata Anã' and 'Prata Comum'. Two hundred rhizobacteria were isolated, five (PC04, PC45, PC107, PC05, PC37) of which were selected as indolacetic acid producers and three (PC262, PA106, PC23) biocontrol agents to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. In greenhouse assays, during rooting and acclimatization, it was possible to select acclimatization one as the right phase, and the isolated PC107 has been the most efficient. The rhizobacteria mix didn't reduce Panama disease severity compared to control. Rhizobacteria have potential for promoting growth in micropropagated banana.

Keywords: Banana, *Musa* sp., Micropropagation, Biological control.

INTRODUÇÃO

A grande maioria dos plantios de bananeira utiliza mudas provenientes de brotos laterais de plantas adultas (SILVA et al., 2004), constituindo esse um eficiente mecanismo de disseminação de doenças causadas por fungos, nematóides, bactérias e vírus (CORDEIRO et al., 2004).

A micropropagação representa uma técnica alternativa ao sistema convencional de propagação da bananeira, constituindo um procedimento realizado em condições assépticas, produzindo mudas com qualidade genética e livres de doenças (ALVES et al., 2004). Contudo, o processo de micropropagação, priva o explante de sua microflora natural e benéfica ao crescimento vegetal (LINS et al., 2003), o que torna a muda mais vulnerável ao ataque de patógenos e a condições de estresse ambiental no campo.

Entre as doenças fúngicas que afetam a cultura da banana, o mal-do-Panamá causado pelo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, provoca perda considerável na produção da bananeira, devido ao seu grande potencial destrutivo e pela dificuldade de aplicação de medidas de controle (KUPPER, 2005), atingindo até 100 % de perda produtiva para a cultivar Maçã (NOGUEIRA, 2002).

A introdução de microrganismos benéficos durante o processo de produção de mudas micropropagadas pode promover o crescimento de plantas e atuar na proteção contra microrganismos patogênicos quando no campo. As PGPRs (Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas) são bactérias que habitam o sistema radicular e apresentam capacidade para atuar na promoção do crescimento de espécies vegetais, por meio de mecanismos diretos como, a solubilização de fosfatos, a produção de sideróforos, a produção de reguladores do crescimento, e indiretos como o controle biológico (OLIVEIRA et al., 2003).

O tratamento de plantas com PGPRs produtoras de ácido-indol-acético (AIA), provoca modificações no sistema radicular, como alongamento e aumento de raízes laterais que melhoram a eficiência do processo de absorção de água e nutrientes pela planta hospedeira (BAREA et al., 2005; LAZZARETTI e MELO, 2005).

As PGPRs biocontroladoras atuam no crescimento, infectividade, virulência e agressividade do patógeno, bem como nos processos de infecção,

desenvolvimento de sintomas e reprodução. A capacidade que as PGPRs possuem em suprimir a atividade de patógenos pode ocorrer naturalmente em solos supressivos por diversos mecanismos como a indução de resistência sistêmica, ficando a planta protegida sistemicamente contra diversos patógenos (LUGTENBER e KAMILOVA, 2009).

Rizobactérias possuem mecanismos de ação benéficos quando consorciados com rizobactérias, apresentam habilidades para potencializar o desenvolvimento da planta, constituindo mecanismo integrado por combinar diferentes modos de ação (RAUPACH e KLOEPPER, 1998). De forma geral, o tratamento de mudas com microrganismos capazes de promoverem o crescimento de plantas pode resultar em ganhos no desenvolvimento e produtividade das culturas (ROMEIRO, 2007a).

O presente trabalho objetivou: a) isolar rizobactérias de solo rizosférico das variedades Prata Comum e Prata Anã do banco ativo de germoplasma de banana da Embrapa Mandioca e Fruticultura; b) selecionar *in vitro* isolados com capacidade de solubilizar fosfatos, produzir sideróforos, sintetizar ácido indolacético (AIA) e capazes de inibir o crescimento do *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*; c) avaliar a resposta das mudas de bananeira microbiolizadas com as rizobactérias em diferentes fases de produção; d) verificar a severidade do mal-do-Panamá em mudas de bananeira microbiolizadas com rizobactérias antagonicas ao *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.

MATERIAL E MÉTODOS

Isolamento e preservação de rizobactérias de bananeira

Amostras de solo rizosférico foram coletadas de duas variedades de bananeira (Prata Comum e Prata Anã) apresentando bom aspecto fitossanitário e acondicionadas em sacos plásticos. As amostras de solo rizosférico foram levadas ao Laboratório de Microbiologia do Solo e Resíduos Orgânicos - Embrapa Mandioca e Fruticultura.

Em seguida, de cada amostra coletada foram pesadas 10 g de solo e transferidos para Erlenmeyer contendo 90 mL de solução salina (NaCl 0,85 %) esterilizada, adicionando-se 2 gotas de Tween 80. A amostra foi mantida sob agitação contínua por 30 minutos em temperatura ambiente. Posteriormente, procedeu-se a diluição seriada fator 10. Uma alíquota de 100 µl de cada uma das seis diluições foi transferida para placas de Petri contendo meio NA (Nutriente-Ágar) procedendo-se o espalhamento com alça de Drigalsky. A seguir 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 bacteriano, adicionaram-se 2 mL de NBY (SCHAAD, 1988) contendo glicerina (15 %) e agitados em seguida. A suspensão foi então transferida para tubos criogênicos e armazenados a -80 °C.

Seleção *in vitro* de rizobactérias com capacidade de solubilizar fosfatos, produzir sideróforos e sintetizar fitormônio (auxina).

Um total de 200 isolados foram submetidos a ensaios qualitativos para detecção *in vitro* de possíveis mecanismos de promoção de crescimento. Três repetições para cada teste foram realizados para cada isolado, conforme metodologia descrita por CATTELLAN (1999).

Produção de ácido indol-acético (AIA)

As rizobactérias foram transferidas para placas de Petri contendo meio TSA 1/10 enriquecido com 5mM de L-Triptofano ($1,021 \text{ g L}^{-1}$). Em seguida, as placas foram cobertas com membrana de nitrocelulose e incubadas a 28 °C por 24 h. Decorrido este intervalo, as membranas foram removidas e saturadas com solução de Salkowski. Os isolados que formaram halo avermelhado na membrana, no período entre 30 minutos a 2 horas foram considerados positivos para produção de AIA.

Produção de sideróforos

As bactérias foram cultivadas em frascos Erlenmeyer (50 mL) contendo 10 mL de meio líquido TS 1/10, incubadas a 28 °C por 24h sob agitação constante, sendo a suspensão de células centrifugadas a 12.000 g por 10 minutos. Transferiu-se 1 mL do sobrenadante para o tubo de ensaio, em seguida adicionou-se 1mL da solução indicadora de Cromo Azurol S (CAS). Os isolados que converteram a cor azul da solução de CAS para amarelo, dentro de 15 minutos foram consideradas produtoras de sideróforos.

Solubilização de fosfato

O bioensaio foi realizado em placas de Petri contendo meio TSA 1/10 acrescido com CaHPO_4 . Este precipitado resultou da reação de 50 mL da solução K_2HPO_4 0,57 M e de 100 mL da solução de CaCl_2 a 0,90 M adicionados a 850 mL de TSA 1/10. As soluções e o meio foram autoclavados separadamente. O pH do meio foi ajustado para 7,0. Oito isolados foram transferidos por placa e incubados a 28 °C, por sete dias. As colônias que formaram halo claro ao seu redor foram consideradas solubilizadoras de fosfatos

Teste de antagonismo

Os isolados foram testados *in vitro* quanto a capacidade de inibir o crescimento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Oliveira, 2009). Discos de

micélio (1 cm Ø) de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense*, foram transferidos para placas de Petri contendo meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar) e incubados à temperatura ambiente. Após 48 horas, três diferentes rizobactérias foram semeadas em posições equidistantes do centro da placa e incubadas a 28 °C por sete dias. Três repetições foram realizadas para cada rizobactéria testada. Como controle utilizou-se placas onde apenas o fungo crescia. A avaliação foi qualitativa, indicando ocorrência positiva ou negativa para o antagonismo, verificada pela presença de um halo de inibição para o crescimento do fungo.

Antibiose recíproca entre rizobactérias selecionadas

Os estudos relativos às rizobactérias selecionadas objetivaram a possibilidade do uso de misturas de isolados. O teste usado foi o da dupla camada, de acordo com metodologia de ROMEIRO (2007 b). Os isolados foram semeados em placas de Petri contendo meio TSA por ponto, utilizando alça de platina para depositar uma gota de cada isolado em pontos equidistantes na superfície do meio. As placas foram então incubadas a 28 °C por 24 h. Adicionou-se, com pipeta esterilizada, 1 mL de clorofórmio na tampa de cada placa por 20 minutos com as mesmas invertidas.

Em seguida, as placas foram entreabertas em ambiente asséptico durante 30 minutos para que os resíduos de clorofórmio fossem eliminados. Adicionou-se 0,1 mL de suspensão aquosa de células do isolado a 5,0 mL de meio TSA semi-sólido homogeneizando em seguida. Com as placas na posição normal, o meio semi-sólido foi vertido sobre a superfície das placas com as colônias já mortas por clorofórmio. Estas placas foram incubadas a 28 °C e examinadas após 1, 2 e 5 dias para verificar a presença de halos de inibição.

Microbiolização dos explantes

Preparo da suspensão de rizobactérias

Os isolados foram multiplicados em meio líquido TS (Tryptona-Peptona-NaCl), e incubados por 24 h a 28 °C. Posteriormente, uma alíquota de 1,0 mL foi retirada, para cada rizobactéria e semeada em placas de Petri contendo meio

TSA e com auxílio da alça de Drigalsky procedeu-se ao espalhamento. As culturas foram incubadas por 24 h a 28 °C, e decorrido este intervalo as colônias foram ressuspensas em água destilada e esterilizada. A concentração de cada suspensão foi ajustada para $OD_{540} = 0,5$, o que correspondia a 10^9 ufc mL⁻¹.

Fase de Enraizamento

As rizobactérias selecionadas foram usadas na microbiolização dos explantes. A aplicação das rizobactérias foi realizada na etapa de enraizamento, por imersão dos explantes em suspensão aquosa (50 mL) dos cinco isolados compondo cinco tratamentos: T1 (PC04), T2 (PC45), T3 (PC107), T4 (PC05), T5 (PC37) por 5 minutos.

Os explantes foram a seguir transferidos para frascos de 263 mL, contendo 60 mL de meio de cultivo, composto de meio MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) contendo 1,35 µM de ácido naftalenoacético (ANA); 10 g L⁻¹ sacarose e 4,7 g.L⁻¹ de Agar. Cinco repetições (frascos) por tratamento (isolado individual) foram utilizadas, sendo três explantes por repetição. Explantes não tratados compoem o controle. Os frascos foram mantidos em estufas tipo PAD & FAN, com controle de temperatura e umidade, tendo como fonte de luz a irradiação solar, por 20 dias.

Após este período, os explantes foram plantados em tubetes plásticos de 19 cm de altura por 5,4 cm de largura, contendo uma formulação de substrato composta de 1 parte de substrato vegetal Plantmax estaca: 1 parte de pó de fibra de coco, adicionados de 0,2 % da fórmula PG MIX e 0,2 % da fórmula OSMOCOTE e mantidos em casa de vegetação. Decorridos 30 dias as mudas foram avaliadas quanto à altura, sendo que as mudas foram medidas utilizando fita métrica da base do pseudocaule até a última intersecção foliar. Em seguida, foram separadas a parte aérea do sistema radicular, colocadas em sacos de papel e encaminhados a estufa a 72 °C por sete dias. Após este período, foi realizada a pesagem do material seco.

A média das dez repetições, para cada parâmetro de promoção de crescimento medida, foi considerada como valor 100 no tratamento controle (explantes não tratados), e feitas devidas comparações em relação aos outros tratamentos. Somados os três valores atribuídos, o tratamento controle apresenta

índice de crescimento igual a 300. Os dados foram analisados pelo programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2000), seguido da comparação entre tratamentos pelo Teste Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Fase de Aclimação

Dois ensaios foram realizados utilizando mudas em diferentes fases de produção. No primeiro ensaio os isolados bacterianos foram selecionados do ensaio realizado na fase de enraizamento, sendo priorizados os tratamentos que proporcionaram a sobrevivência dos explantes microbiolizados no prazo de 20 dias. A aplicação das rizobactérias dos tratamentos (PC04, PC45, PC107) foi realizada na etapa de aclimação por imersão da muda em suspensão aquosa (100 mL) dos isolados por 5 minutos, ajustada para 10^9 ufc mL⁻¹.

No segundo ensaio foi realizada a aplicação das bactérias do ensaio anterior em combinação com a mistura de isolados positivos para antagonismo CB (PC262, PA106, PC23) constituindo os tratamentos (PC04 + CB; PC45 + CB; 23C + CB). A inoculação com os combinados foi realizada na etapa de aclimação por imersão da muda em suspensão aquosa (100 mL) dos isolados por 5 minutos, ajustada para 10^9 ufc mL⁻¹.

Após a imersão na suspensão de rizobactérias, as mudas tratadas foram transferidas para tubetes plásticos de 19 cm de altura por 5,4 cm de largura, contendo uma formulação de substrato composta de 1 parte de substrato vegetal Plantmax estaca: 1 parte de pó de fibra de coco, adicionados de 0,2 % da fórmula PG MIX e 0,2 % da fórmula OSMOCOTE conforme, a rotina de produção das micromudas pela CAMPO – Companhia de Promoção Agrícola, empresa parceira no projeto.

Este experimento foi montado com 20 repetições por tratamento com uma muda por repetição. Mudas não tratadas comporam o controle. Decorrido 30 dias metade das mudas (10 repetições) foram inoculadas com o fungo, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.

As outras 10 repetições foram avaliadas quanto à altura, peso seco da parte aérea e do sistema radicular. Quanto à altura as mudas foram medidas utilizando fita métrica da base do pseudocaule até a última intersecção foliar. Em seguida, foram separadas a parte aérea do sistema radicular, colocadas em

sacos de papel e encaminhados para a estufa a 72 °C por sete dias. Após este período, foi realizada a pesagem do material.

A média das dez repetições, para cada parâmetro de promoção de crescimento medida, foi considerada como valor 100 no tratamento controle; sendo feitas as devidas comparações em relação aos outros tratamentos. Somados os três valores atribuídos, o tratamento controle apresenta índice de crescimento igual a 300. A comparação entre tratamentos foi realizada pelo teste Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, analisados pelo programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2000).

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

Para o preparo de inóculo, colônias de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, (raça1) do Laboratório de Fitopatologia Embrapa Mandioca e Fruticultura, foram cultivadas durante sete dias em meio de cultura BDA (Batata-dextrose-ágar). Decorrido este período, adicionou-se água destilada às placas e com um pincel fino procedeu-se a remoção dos conídios, obtendo-se uma suspensão conidial. Para a remoção de fragmentos de micélio, a suspensão foi filtrada utilizando-se duas camadas de gaze. Por meio de hemacitômetro tipo Neubauer, a concentração da suspensão conidial foi ajustada para 10^3 conídios.mL⁻¹.

Mudas tratadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

Neste ensaio, as mudas tratadas com rizobactérias (PC04 + CB, PC45 + CB, PC107 + CB) do ensaio anterior foram inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. As mudas foram retiradas do substrato de cultivo e suas raízes imersas na suspensão do inóculo contendo 10^3 conídios mL⁻¹, por 20 minutos. Em seguida, foram transplantadas para vasos com capacidade para 3,0 litros, contendo solo previamente autoclavado, com pH corrigido com a adição de CaCO₃. As mudas foram mantidas em viveiro telado por 30 dias.

Avaliação da severidade da doença

O índice de infecção (ID) foi calculado trinta dias após a inoculação do fungo, tendo como base a avaliação da severidade de lesões no rizoma, por adaptação da fórmula proposta por CIRULLI E ALEXANDER (1966), atribuindo as notas de 1 a 6, de acordo com a escala de avaliação de sintomas proposta por CORDEIRO e DANTAS, (1993) em que 1= tecido vascular completamente claro, sem descoloração vascular; 2= pontos isolados de descoloração no tecido vascular; 3= descoloração em 1/3 do tecido vascular; 4= descoloração entre 1/3 e 2/3 do tecido vascular; 5= descoloração maior que 2/3 do tecido vascular; 6= descoloração total do tecido vascular.

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

As plantas foram coletadas e as raízes foram lavadas em água corrente para retirada do solo aderido e em seguida separou-se o sistema radicular da parte aérea das plantas. Em seguida, o material foi colocado para secar em estufa até obtenção de massa constante.

RESULTADOS

Isolamento e seleção de rizobactérias de banana

Uma coleção de 200 rizobactérias foi obtida da rizosfera de duas variedades de bananeira, Prata Anã e Prata Comum, do Banco de Germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura Cruz das Almas - BA.

Para o teste de produção de ácido indol acético (AIA), cinco isolados (PC04, PC05, PC37, PC45, PC107) foram positivos, confirmado pelo surgimento de halo róseo até 2 horas de observação. Dos 200 isolados de rizobactérias testados nenhum isolado se mostrou produtor de sideróforos ou capaz de solubilizar fosfato nas condições a que foram submetidos, verificado pela ausência de mudança de coloração e de formação de halo claro ao redor das colônias, respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1: Seleção de rizobactérias de bananeira

Isolados/ Testes	PC04	PC45	PC107	PC05	PC37
AIA	+	+	+	+	+
Sideróforos	-	-	-	-	-
Fosfatase	-	-	-	-	-

Ensaio de antibiose recíproca entre rizobactérias produtoras de AIA

De acordo com o teste de antibiose recíproca verificaram-se que todas as rizobactérias positivas para a produção de AIA não inibiram o crescimento de qualquer uma delas, propiciando a possibilidade da formação de combinados de isolados sem qualquer restrição.

Ensaio de antagonismo a *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

Dos 200 isolados testados para a atividade antifúngica ao *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, três isolados (PC262, PA106, PC23) inibiram o crescimento micelial, *in vitro*.

Explantos tratados com rizobactérias produtoras de AIA

Dos cinco isolados (PC04, PC05, PC37, PC45, PC107) selecionados utilizados no tratamento dos explantes, após os 20 dias foi possível verificar que dois tratamentos (PC 05 e PC37) ocasionaram a morte de todos os explantes enquanto, nos demais tratamentos foi possível selecionar explantes vivos. Apresentando o tratamento PC04 sete explantes vivos, PC45 vinte explantes vivos, PC107 cinco explantes vivos e, no tratamento controle, onze explantes vivos que foram transplantados para tubetes (Tabela 2).

Tabela 2: Explantes na fase de enraizamento tratados com rizobactérias

Isolados/ Explantos	PC04	PC45	PC107	PC05	PC37	Controle
Vivos	7	20	5	0	0	11
Mortos	23	10	25	30	30	19

Promoção do crescimento nas fases de enraizamento e aclimação

A análise dos parâmetros de promoção de crescimento (altura, peso seco da parte aérea e do sistema radicular) para a fase de enraizamento indica que a aplicação individualizada de rizobactérias produtoras de AIA nos tratamentos PC45 e PC107 apresentaram índices de crescimento que não diferiram do tratamento controle, enquanto que o tratamento PC04 se mostrou abaixo do tratamento controle (Tabela 3).

Os parâmetros de crescimento analisados após a aplicação de rizobactérias produtoras de AIA individualizadas na fase de aclimação

mostraram, que o tratamento T3 apresentou índice de crescimento maior que os demais tratamentos. De acordo com o resultado o isolado PC107 foi capaz de promover crescimento em mudas de banana cultivar Maçã na fase de aclimação.

Tabela 3: Promoção do crescimento de mudas micropropagadas de bananeira por rizobactérias em duas fases de produção.

Fase de microbiolização	Enraizamento	Aclimação
Tratamento	IC*	IC*
Controle	300ab	300b
PC04	184b	280b
PC45	356a	273b
PC107	322ab	352a

*IC - Índices médios de crescimento seguidos da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente pelo teste Tukey ($\alpha = 5\%$).

Esses dados demonstram que a fase de aclimação representa o melhor momento de tratamento das mudas com rizobactérias nas condições que foram estabelecidas.

Biocontrole do mal-do-Panamá

Mudas tratadas com as rizobactérias produtoras de AIA combinadas com o consórcio das três rizobactérias *in vitro* antagônicas ao *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, não apresentaram redução da severidade da doença quando comparadas ao controle (Tabela 4).

Tabela 4: Avaliação do índice de doença do mal-do-Panamá em mudas tratadas com rizobactérias.

Tratamento	ID*
Controle	11b
PC04+CB	16ab
PC45+CB	16ab
PC107+CB	21a

ID*- índices médios de doença nas mudas seguidos da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente pelo teste Tukey ($\alpha = 5\%$).

Promoção de crescimento após tratamento com fungo

A aplicação conjunta de rizobactérias produtoras de ácido indol acético e isolados capazes de inibir o crescimento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense*, demonstrou que a mistura PC45+CB e PC107+CB, apesar de apresentar médias superiores aos demais tratamentos não diferem entre si. Contudo, estes tratamentos promoveram crescimento das mudas aumentando os parâmetros de peso seco da parte aérea e do sistema radicular significativamente quando comparados ao controle (Tabela 5).

Tabela 5 - Promoção de crescimento de mudas de bananeiras tratadas com misturas de rizobactérias e inoculadas com o *F. oxysporum* f. sp. *ubense* após 60 dias.

Tratamento	ID*
Controle	200b
PC04+CB	241ab
PC45+CB	254b
PC107+CB	281a

*IC- Índices médios de crescimento seguidos da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente pelo teste Tukey ($\alpha = 5\%$).

DISCUSSÃO

Na rizosfera, ambiente extremamente heterogêneo, o estabelecimento bem sucedido de bactérias associadas a raízes de plantas envolve, desde o reconhecimento da planta hospedeira por sinais moleculares até a competência rizosférica conduzindo a promoção de crescimento vegetal (REIS, 2005). As rizobactérias estão entre os grupos de bactérias de grande potencial para utilização na agricultura (ROMEIRO, 2007a). Esta associação benéfica planta-microrganismo por influenciar processos fisiológicos favorece o desenvolvimento vegetal, principalmente quando a planta esta sadia, livre de patógenos. Partindo do princípio que plantas sadias podem abrigar uma maior gama de microrganismos benéficos, a coleta de material rizosférico de banana realizada em plantas sadias proporcionou o isolamento de rizobactérias com características para a promoção de crescimento.

MIA et al. (2010) confirmou a presença de bactérias rizosféricas promissoras obtendo de bananeira rizobactérias fixadoras do nitrogênio, que quando dispensadas nas mudas proporcionaram o aumento do crescimento da planta, melhoria na absorção de nutrientes, na produtividade e na qualidade dos frutos. Em seus experimentos ALBURQUERQUE et al. (2003) verificaram que 70 dias após a bacterização o isolado individual RAB9 mudas de banana apresentaram crescimento significativo da massa seca, posteriormente, foram testadas misturas que elevaram significativamente a área foliar e a massa seca da parte aérea. RODRIGUEZ-ROMERO et al. (2008), demonstraram que isolados de *Pseudomonas* promoveram o crescimento e a nutrição bem como reduziu os danos causados por nematóides na raiz quando mudas micropropagadas de banana foram tratadas com estas rizobactérias.

Neste trabalho, testes *in vitro* foram conduzidos para selecionar rizobactérias que pudessem atuar na promoção de crescimento de mudas micropropagadas de bananeira. O teste utilizado para a detecção de rizobactérias produtoras de ácido indol-acético (AIA) em meio enriquecido com L-Triptofano, confirmou a participação deste aminoácido na rota metabólica para produção de AIA, descrito por LUGTENBERG e KAMILOVA, (2009) como principal precursor desse regulador de crescimento. Este resultado corrobora com a literatura,

sugerindo que muitas bactérias quando isoladas da rizosfera são capazes de produzir este composto, já que exudatos radiculares são fonte natural de triptofano (KHALID et al., 2004).

O método utilizado apesar de qualitativo (positivo/negativo) se mostrou satisfatório, pois, foi possível verificar com fidelidade rizobactérias que reagiram produzindo coloração rósea e outras que não, concomitantemente, diferentes tonalidades da cor rósea foram observadas, provavelmente devido às diferentes quantidades de AIA produzidos pelos isolados bacterianos, o que para confirmação necessitaria da realização de testes quantitativos.

Os isolados testados cresceram em meio sólido, não sendo agitado, o que segundo EL-KHAWAS e ADACHI (1999) reduz a quantidade de AIA que pode ser produzido pela rizobactéria, ao contrário de quando crescida em cultura agitada. A quantidade de AIA excretado pela bactéria, de acordo com PEDRAZA et al. (2004) varia a depender da espécie microbiana e dessa diferente condição de cultivo.

Com a intenção de formar consórcios de bactérias que pudessem atuar com diferentes mecanismos de ação, testes qualitativos foram conduzidos para detectar rizobactérias capazes de solubilizar fosfato, produzir sideróforos e atuar de forma antagonica ao *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.

Entre as 200 rizobactérias testadas, nenhuma foi capaz de solubilizar fosfatos e produzir sideróforos, pelos métodos testados, apesar da solubilização de fosfato de acordo com ROMEIRO, (2007a) ser o mecanismo mais comum de ação entre as PGPRs. Contudo, diversas pesquisas confirmam a presença na região rizosférica de bactérias benéficas com tais mecanismos (OLIVEIRA et al. 2003).

Quanto à solubilização de fosfato deve-se lembrar ainda, que somente a fonte Ca-P foi utilizada neste experimento, devendo ser consideradas as diferentes fontes de nutrientes disponíveis, pois, determinados microrganismos são hábeis por solubilizar apenas em Ca-P, enquanto outros ainda solubilizam Al-P e Fe-P (FILHO e VIDOR, 2000).

O teste preliminar *in vitro* realizado para selecionar rizobactérias antagonicas a *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, demonstrou que a maioria das rizobactérias isoladas não mostrou atividade significativa. No experimento de NANDAKUMAR et al. (2001), apenas quatro isolados apresentaram significativa

redução do crescimento micelial *in vitro*. BAGNASCO et al. (1998) selecionaram três isolados de *Pseudomonas* com resultados satisfatórios ao teste antagônico *in vitro* entre os 541 isolados testados.

Diante dos resultados obtidos *in vitro* da seleção de bactérias benéficas, pode-se inferir que apenas 1,5 % dos isolados cultiváveis selecionados da rizosfera de banana apresentaram características benéficas ao desenvolvimento de planta. Entre os microrganismos cultiváveis, para CHEN et al., (1996) não mais do que 2 %, do total de microrganismos existentes no solo, apresentam efeito benéfico para as plantas e segundo ROMEIRO, (2007a) entre os encontrados na rizosfera apenas uma pequena percentagem de microrganismos pode possuir mecanismos benéficos de atuação nas plantas.

Diante da possibilidade de realização de misturas de isolados, o teste de antibiose recíproca possibilitou a combinação dos oito isolados selecionados. Segundo MAFIA et al. (2007) a aplicação de isolados rizobacterianos combinados representa uma importante estratégia de otimização da ação sinérgica dos isolados compatíveis.

Os experimentos *in vivo* com rizobactérias produtoras de AIA individualizadas disponibilizadas em duas fases de produção das mudas, enraizamento e aclimação, demonstrou que a fase de aclimação representa o momento mais adequado para aplicação destes isolados nas mudas. Isso certamente decorre de características fisiológicas de cada etapa de cultivo. Para VESTBERG et al. (2004) a razão para esta diferença deve ser devido ao estágio fisiológico da planta, que determina a composição e capacidade de exsudação radicular e conseqüentemente, a atividade dos microrganismos introduzidos na rizosfera.

No primeiro momento do ensaio na fase de enraizamento *in vitro*, os explantes de bananeira cultivar Maçã, produzidos nas dependências da biofábrica CAMPO (Companhia de Produção Agrícola – SA), quando tratados com isolados individuais produtores de AIA, apresentaram alto índice de mortalidade. Esse grande número de explantes mortos ocorreu provavelmente devido ao não conhecimento da quantidade de AIA produzido por cada isolado individual e a produção de metabólicos tóxicos pelas plântulas. A quantidade do regulador de crescimento produzido pela rizobactéria somada a quantidade de hormônio ANA (ácido naftalenoacético) que é adicionado ao meio MS (ALVES et al.,2004) pode

ter provocado uma dosagem elevada deste composto, conduzindo a morte da maioria dos explantes.

Segundo SILVA et al. (2004) explantes na fase de enraizamento são extremamente sensíveis a quaisquer variações no meio. De acordo com JAGADEESH et al. (2006) a disponibilidade de AIA em altas concentrações pode inibir o crescimento das raízes e levar a morte da espécie vegetal.

Desta forma, apesar de não conhecer os níveis de AIA produzidos pelos isolados PC05 e PC37, pode-se inferir que a quantidade desse regulador de crescimento produzido pelos isolados selecionados ao ser somado com o hormônio adicionado ao meio MS, pode ter contribuído para a morte de todos os explantes tratados com estas rizobactérias. Confirmando o que diz TANIMOTO, (2005), que os tecidos radiculares são sensíveis a flutuações da concentração de AIA e o desenvolvimento do sistema radicular pode ser afetado por fontes não conhecidas deste regulador de crescimento.

O ajuste da suspensão bacteriana para 10^9 ufc mL⁻¹, pode ser outro fator a se considerar nos resultados, já que não foram realizados estudos preliminares quanto à concentração ótima de rizobactérias para a etapa de microbiolização de explantes. Este estudo se faz necessário, pois, a literatura apresenta resultados positivos para promoção de crescimento utilizando rizobactérias em concentrações de 10^7 , 10^8 ufc/mL⁻¹ (LUZ, 2001; MAFIA, et al., 2009).

Estudos que possam identificar a quantidade de AIA produzido por rizobactérias, como o método calorimétrico seguido de quantificação em espectrofotômetro (ARAÚJO e GUERREIRO, 2010) ou cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (KAKHIPOUR et al., 2008) podem fornecer dados mais precisos sobre os níveis de AIA produzidos por estas rizobactérias.

Estas informações poderão indicar qual concentração ótima de que deve ser utilizada para cada isolado beneficiando o desenvolvimento do sistema radicular dos explantes nesta fase, já que, segundo CANTO et al. (2004) um sistema radicular mais desenvolvido em explantes é considerado benéfico uma vez que é importante para a posterior fase de aclimação das mudas.

Ensaio com explantes na fase de enraizamento tratados com os isolados produtores de AIA em diferentes concentrações, com exposição de tempo de imersão menor, assim como a utilização de meio MS ausente de hormônio sintético (ANA) são necessários para verificar a atividade das rizobactérias nesta

fase de produção das mudas. No trabalho de FROMMEL et al., 1991, foi possível verificar que o isolado PsJN estimulou o crescimento *in vitro* de explantes nodais de batata bacterizados com 10^8 ufc.mL⁻¹, durante 5 a 10 segundos e transferido para meio MS sem hormônios.

Na fase de enraizamento, o tratamento de explantes com rizobactérias não promoveu o crescimento das plântulas considerando os parâmetros analisados para promoção de crescimento (altura, peso seco da parte aérea e do sistema radicular). A condição de excessiva disponibilidade do AIA podem ter provocado o retardamento e inibição do crescimento do vegetal, pois, nesta fase os explantes são extremamente sensíveis às alterações no meio de cultivo. Segundo COSTA et al. (2006) estes meios nutritivos utilizados fornecem substâncias essenciais ao crescimento de acordo com as necessidades metabólicas e estruturais específicas para cada cultura.

O ensaio com mudas de bananeira na fase de aclimação demonstrou que o tratamento (PC107), decorrido 30 dias da aplicação do isolado, apresentou aumento significativo dos parâmetros de crescimento com relação ao controle e aos isolados PC04 e PC45. ALBURQUERQUE et al. (2003) demonstraram que as bactérias E2, RAB9, ENF24 e C210 atuaram na promoção de crescimento de mudas micropropagadas de bananeira da fase de aclimação aumentando a massa seca da parte aérea e do sistema radicular após 30 dias de tratadas. Este fato pode ter ocorrido devido à interação estágio de desenvolvimento da muda (aclimação) e a quantidade de AIA disponibilizada pela rizobactéria. Para TEIXEIRA et al.(2007) o efeito do AIA não depende apenas da quantidade produzida pela bactéria variando de acordo o genótipo e a idade da planta, que afeta o nível endógeno do hormônio na planta.

Para AUNTOUN e PRÉVOST (2005) a comunidade microbiana na rizosfera de plantas pode ser afetada pela composição dos exsudatos liberados de acordo com o estágio de desenvolvimento da planta. PREDAZA et al. (2004), relatam que *in vivo* a quantidade de AIA liberado pela bactéria difere da condição *in vitro*, uma vez que sofre influência direta dos exsudatos disponibilizados pela planta, o que poderá interferir numa maior ou menor produção do composto.

A interação da rizobactéria PC107 com as mudas na fase de aclimação se mostrou benéfica promovendo crescimento, esse fato demonstra que plantas cultivadas na presença de microrganismos benéficos (ARAUJO e GUERREIRO,

2010) resultam em melhor desenvolvimento do vegetal, confirmando que a produção de substâncias reguladoras por microrganismos promovem estímulo ao crescimento vegetal. Nesta fase os tratamentos, T2-PC45 e T1-PC04, não promoveram crescimento das mudas. Os baixos índices de crescimento verificados nas mudas em presença dos microrganismos provavelmente ocorreram influenciados pela quantidade e composição dos exudatos liberados pela planta, interferindo na competência rizosférica destes isolados. Tais compostos disponibilizados em quantidade e qualidade variada podem selecionar grupos funcionais específicos (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

Diversos trabalhos já verificaram que a utilização de isolados de *Pseudomonas* produtoras de AIA quando dispensados em mudas de canola (PATTEN e GLICK, 2002), soja (CATTELAN, 1999b) e alface (SOTERRO et al., 2006), promoveram resultados significativos para o crescimento da planta.

Para o ensaio *in vivo* de biocontrole, o método utilizado para inoculação do fungo por imersão das raízes na suspensão sem proceder a cortes no sistema radicular das mudas para provocar ferimento, mostrou-se eficiente, demonstrando que o processo de injúria (MELO, 2002) não se faz necessário para que ocorra contaminação do fungo na planta.

A concentração de 10^3 esporos/ mL também foi verificada como suficiente para demonstrar a infectividade do fungo na cultivar Maçã. Confirmando BORGES et al. (2007), que ao inocular o *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, este mostrou-se significativamente agressivo a partir da concentração 10^3 conídios . mL⁻¹ e efetivo em provocar danos às mudas da cultivar Maçã. O estudo de biocontrole *in vitro* para confirmar a atuação das rizobactérias antagônicas ao *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, não se mostrou satisfatório para seleção dos microrganismos.

As condições físicas e químicas do solo utilizado no experimento podem ter favorecido o desenvolvimento da doença e prejudicado o estabelecimento das rizobactérias antagônicas. A ausência de nutrientes no solo surge como fator favorável à severidade da doença e negativo à multiplicação e atividade das rizobactérias agentes de biocontrole.

Segundo LOPES et al. 2008, os níveis de nutrientes no solo estão estritamente relacionados com a ocorrência do mal-do-Panamá. CORDEIRO e MATOS (2003) sugere, como práticas de manejo, níveis ótimos de cálcio e

magnésio, apresentadas como condições menos favoráveis ao desenvolvimento do *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* reduzindo a incidência da doença.

A redução da população de rizobactérias na rizosfera pode ser outra hipótese da ausência de resposta com relação ao biocontrole. A condição de estresse do meio, já que o solo não foi enriquecido com nutrientes, provavelmente atuou de forma negativa a atividade antifúngica destes isolados. BENNETT e WHIPPS, (2008) sugerem que a presença ou ausência de alguns compostos no solo pode inibir a atividade microbiana. Inconsistentes performances por antagonistas microbianos têm sido atribuídos a fatores abióticos como composição física e química do solo que, como consequência, afetam seu estabelecimento e atividade na rizosfera (ROBERTS et al.,2005).

Trabalhos futuros deverão ser conduzidos para o esclarecimento de quais mecanismos estão envolvidos na atividade antagônica demonstrada *in vitro* por estas rizobactérias, assim como confirmar se a condição do solo afetou o mecanismo de ação antagônica destes microrganismos, utilizando diferentes substratos.

Desta forma, mais pesquisas são necessárias para maior entendimento sobre as atividades destes isolados já selecionados e para descoberta de novos isolados que sejam efetivos para biocontrole *in vivo*, pois, plantas micropropagadas são mais sensíveis ao estresse ambiental e mais vulneráveis a patógenos. SIMTH et al. (1998) indicam que isolados antagônicos são a oportunidade de mudas micropropagadas obter sucesso contra possíveis patógenos quando plantadas no campo.

A análise dos parâmetros de crescimento destas mudas após verificação da severidade da doença mostrou os isolados combinados PC45+CB e PC107+CB como os melhores tratamentos para promoção de crescimento em mudas de banana. Esta combinação se mostrou satisfatória ao desenvolvimento da cultivar Maçã, provavelmente devido ao melhor estabelecimento na rizosfera dos isolados produtores de regulador de crescimento resultando efeito benéfico.

Este efeito positivo verificado neste segundo momento de análise pelo isolado PC45, pode ser devido à pequena quantidade de AIA disponibilizado para a muda, pois, segundo TEIXEIRA et al. (2007) mesmo que pequena a contínua liberação de AIA pode aumentar a rizogênese.

A promoção de crescimento confirmada nas mudas tratadas com o isolado PC107+CB, demonstram a atividade promovida pela rizobactéria promotora de AIA. Para TEIXEIRA et al. (2007) PGPRs favorecem seu próprio estabelecimento na rizosfera, estimulando o crescimento da planta e como consequência provocam aumento da quantidade de exsudatos e área de exsudação disponíveis ao microrganismo.

A confirmação da potencialidade do isolado bacteriano PC107 assegura uma melhor eficiência para a fase de aclimação, pois, segundo SOUZA et al., (2006) esta etapa apresenta suma importância para a microprogação, diante da nova condição de cultivo enfrentada pela muda, que pode até culminar em sua morte. Portanto, outras formas de microbiolização devem ser investigadas considerando outros critérios como facilidade de operacionalização e custo.

Outra característica demonstrada pelos isolados deve ser levantada. Os isolados com capacidade de promover crescimento *in vivo* foram diferentes dos isolados com habilidade de biocontrole. Isso corrobora o que reporta BASHAN (1998), em que quase sempre os isolados promotores de crescimento não apresentam capacidade de atuar em supressão de patógenos. Portanto, de acordo com MAFIA et al. (2005) a mistura de isolados pode ser interessante quando se objetiva o controle biológico, de modo a obter vantagem sinérgica de cada organismo.

A eficiência *in vivo* destes combinados (PC45+CB e PC107+CB) ocorreu pela provável capacidade destes microrganismos em sobreviver em equilíbrio dinâmico na natureza. A comunidade microbiana na rizosfera é representada por populações diversificadas e numerosas em estado de equilíbrio dinâmico, refletindo o ambiente físico, químico, biológico e suas relações (DANTAS et al., 2009).

No tratamento PC04 + CB não foi observado benefício significativo, como verificado por MAFIA et al., (2007), em que os isolados C11b e C2 mesmo qualificada como compatível para o teste de antibiograma, não promoverem incrementos quando comparados a testemunha, provavelmente pela falta de capacidade de estabelecimento na rizosfera.

Este resultado pode ter sido afetado pela disponibilidade de nutrientes, o que de acordo com ROMEIRO (2007a) interfere na capacidade de sobrevivência e competitividade dos microrganismos, prejudicando o desenvolvimento de

atividade dos isolados tanto para promoção de crescimento como para biocontrole do fungo.

O teste de antibiose recíproca realizado serviu apenas para verificar a possibilidade de misturas, indicando que um isolado bacteriano produz alguma substância que possa inibir o crescimento de outra bactéria, enquanto *in vivo* a condição a que foi submetida estes microrganismos possivelmente interferiu nesta relação. De acordo com MOREIRA E SIQUEIRA, (2006) as interações biológicas são determinantes das densidades e das atividades das populações na comunidade microbiana rizosférica.

Este trabalho evidenciou o potencial uso de rizobactérias como promotores do crescimento de plantas, constituindo uma importante ferramenta de interesse agrícola. Portanto, esforços devem ser direcionados para ampliar a descoberta de microrganismos que possam ser incorporados ao processo de produção de mudas micropropagadas de banana.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho foi possível confirmar o potencial de bactérias associadas ao sistema radicular de bananeira para a promoção de crescimento. Foram selecionados dois isolados produtores de AIA que mostraram resultados significativos para a promoção de crescimento em mudas micropropagadas de bananeira na fase de aclimação. Apesar dessas evidências, deve-se atentar que outros estudos ainda devem ser levados a termo, objetivando a compreensão da ecofisiologia destes microrganismos na rizosfera das plantas cultivadas no campo e quais os resultados na produtividade agrícola. Este fato abre a oportunidade do uso futuro para a formação de combinados de rizobactérias no tratamento de mudas aclimatadas visando à ação conjunta.

Considerando que ao menos na fase de aclimação as condições de cultivo favoreceram o desenvolvimento das mudas, mais pesquisas são necessárias para confirmar a eficiência da introdução de rizobactérias benéficas atuando na sobrevivência das plantas e na promoção dos parâmetros de crescimento das mudas. Para minimizar custos de produção do inoculante, este trabalho sugere a aplicação dos isolados promissores na fase de aclimação por dispensa da suspensão de bacteriana no substrato. Contudo, será necessária a realização de outros ensaios utilizando esta metodologia para que uma nova tecnologia possa ser empregada em larga escala, já que este processo não envolveria uma alteração significativa da infra-estrutura e na logística de produção das mudas, podendo atuar maximizando e otimizando o processo.

O fato da produção de mudas micropropagadas ser realizada pela empresa CAMPO (Companhia de Promoção Agrícola) estabelecida dentro da Embrapa Mandioca e Fruticultura - Cruz das Almas, instituição onde se desenvolveram estes trabalhos, facilitará sem dúvidas a continuidade destes estudos com relação as alterações sofridas na arquitetura do sistema radicular e sobre a metodologia da futura aplicação desses microrganismos com comprovada eficiência para disponibilização destas mudas as diversas regiões produtoras de banana.

REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 5th Edition. Academic Press, London. 2004. 635p.
- ALVES, E. J.; LIMA, M. B.; SANTOS-SEREJO, J. A.; TRINDADE, A. V.; Propagação. **O cultivo da bananeira**. (Eds. A. L. Borges e L. S. Souza). Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. 279p.
- ALBAREDA, M.; DARDANELLI, M.S.; SOUSA, C.; MEGÍAS, M.; TEMPRANO, F.; RODRÍGUEZ-NAVARRO, D.N. Factors affecting the attachment of rhizospheric bacteria to bean and soybean roots. **FEMS Microbiology Letters**, v. 259, p. 67–73, 2006.
- ALBUQUERQUE, V.V., TERAQ, D. e MARIANO, R.L.R. Growth-promotion and biocontrol of Fusarium wilt in micropropagated plantlets of *Musa* sp. **Anais**, 6^o International PGPR Workshop, Kerala. p. 3-7, 2003.
- AMORIM, E. P. R. e MELO, I. S. M. Ação antagônica de rizobactérias contra *Phytophthora* e seu efeito no desenvolvimento de plântulas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 2, p. 565-568, 2002.
- AUNTOUN, H.; PRÉVOST, D. **Ecology of plant growth promoting rhizobacteria**. Z. A. Siddiqui (ed.). In: PGPR: Biocontrol and Biofertilization, 1–38, 2005.
- ARAÚJO, F.F.; GUERREIRO, R.T. Bioprospecção de isolados de *Bacillus* promotores de crescimento de milho cultivado em solo autoclavado e natural. **Ciências e Agrotecnologia**, v. 34, n. 4, p. 837-844, 2010.
- BAGNASCO, P.; DE LA FUENTE, L.; GUALTIERI, G.; NOYA, F.; ARIAS, A. A Fluorescent *Pseudomonas* spp. As biocontrol agents against forage legume root pathogenic fungi. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 30 p. 1317- 1322, 1998.
- BAREA, J-M.; POZO, M.J.; AZCÓN, R.; AZCÓN-AGUILAR, C. Microbial co-operation in the rhizosphere. **Journal of Experimental Botany**, v. 56, n. 417, p. 1761–1778, 2005.
- BARROS, F. C.; SAGATA, E.; FERREIRA, L. C. C.; JULIATTI, F. C. Indução de resistência em plantas contra fitopatógenos. **Bioscience**, v. 26, n 2, p. 231-239, 2010.
- BASHAN, Y. Inoculants of plants growth-promoting bacteria for use in agriculture. **Biotechnology Advances**, v.16, n-4, p. 729-770, 1998.
- BENNETT, A.J.; WHIPPS, J.M. Beneficial microorganism survival on seed, roots and in rhizosphere soil following application to seed during drum priming. **Biological Control**, v. 44, p. 349–361, 2008.

BENITE, A.M.C. e MACHADO, S.P. Sideróforos: “Uma resposta dos microrganismos”. **Química Nova**, v. 25, n. 6b, 1155-1164, 2002.

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

BORGES, A.J.S; TRINDADE, A.V.; MATOS, A.P.; PEIXOTO, M.F.S. Redução do mal-do-Panamá em bananeira-maçã por inoculação de fungo micorrízico arbuscular. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.42, n.1, p.35-41, 2007.

BOWEN, G. D.; ROVIRA, A. D. The rhizosphere and its management to improve plant growth. **Advances in Agronomy**, v. 66, p.1-12, 1999.

CANTO, A.M.M.E.; SOUZA, F.V.D.; COSTA, M.A.C.; SOUZA, A,DA S; LEDO, C.A.DA S.; CABRAL, J.R.S. Conservação in vitro de germoplasma de abacaxi tratado com paclobutrazol. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.7, p.717-720, 2004.

CATTELLAN, A.J. **Métodos qualitativos para determinação de características bioquímicas e fisiológicas associadas com rizobactérias promotoras de crescimento vegetal**. Londrina. Embrapa, Soja, 1999a. 36p.

CATTELAN, A. J.; HARTEL, P. G.; FUHRMANN, J. J. Screening for plant growthpromoting rhizobacteria to promote early soybean growth. **Soil Science Society of America Journal**, v.63, p.1670–1680, 1999b.

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

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

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

CORDEIRO, Z.J.M.; MATOS, A.P. Mal-do-Panamá.Fim do Bananal? **Cultivar HF**. p. 27-30, 2003.

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

COMPANT, S.; DUFFY, B.; NOWAK, J.; CLEMENT, C.; BARKA, E. Use of Plant Growth-Promoting Bacteria for Biocontrol of Plant Diseases: Principles, Mechanisms of Action, and Future Prospects. **Applied and environmental microbiology**, p. 4951–4959, 2005.

COSTA, M.A.P. de C.; SOUZA, A. da S.; ALMEIDA, de W.A.B. **Morfogênese in vitro**. Souza, A.S.; Junhanes, T.G. (Eds.). Introdução a micropropagação de plantas. Cruz das Almas- Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2006. 152p.

DANTAS, J.L.L.; FILHO, W.S.S. Banana Produção / aspectos técnicos. Cordeiro, Z. J. Embrapa – **Embrapa para comunicação de transferência de tecnologia**, 2000. 143p.

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

DAVIS, R. Fusarium wilt (Panama disease) of banana. **Plant Protection Service**, Secretariat of the Pacific Community. Pest Advisory Leaflet, 2005.

DONZELI, V.P. **Biodiversidade funcional da microbiota e promoção de crescimento de alface por rizobactérias em substrato solarizado**. (Tese-Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia). Campinas, SP. 2006.

DUFFY, B.; SCHOUTEN, A.; RAAIJMAKERS, J. M. Pathogen self-defense: Mechanisms to Counteract Microbial Antagonism. **Annual Review Phytopathology**, v. 41, p. 501-538, 2003.

EHRENFELD, J. G.; RAVIT, B.; ELGERSMA, K. Feedback in the plant-soil system. **Annual Review Environmental Resources**. v.30, p.75–115, 2005.

EL- KHAWAS, H; ADACHI, K. Identification and quantification of auxinas in culture media of Azospirillum and Klebsiella an their effects on rice roots. **Biology and Fertility Soils**. v. 28, n 24, p. 377-381, 1999.

EL-TARABILY, K.A.; NASSAR, A.H.; HARDY, G.E. ST. J.; SIVASITHAMPARAM, K. Plant growth promotion and biological control of Pythium aphanidermatum, a pathogen of cucumber, by endophytic actinomycetes. **Journal of Applied Microbiology**, v.106, p.13–26, 2009.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Agricultural Database**. Disponível em: <www.fao.org>. Acessado em: novembro de 2010.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria. São Carlos, **Programas e Resumos...** São Carlos: UFSCar. v.45, p.255-258, 2000.

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

FILHO,G.N.S. e VIDOR,C. Solubilização de fosfatos por microrganismos na presença de fontes de carbono. **Revista brasileira de Ciência do Solo**, v.24, p.311-319,2000.

FOURIE, G.;STEENKAMP, E. T.;GORDON,T.R.; VILJOEN,A. Evolutionary Relationships among the *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* Vegetative Compatibility Groups . **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, n. 14, p. 4770-4781, 2009.

FROMMEL, J. I.; NOWAK, J.; LAZAROVITS, G. Growth enhancement and developmental modifications of *in vitro* grown potato (*Solanum tuberosum* sp. *tuberosum*) as affected by a non-fluorescent *Pseudomonas* sp. **Plant Physiology**, v. 96, p. 928-936, 1991.

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

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

IBGE, 2010. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento Sistemático de produção Agrícola- LSPA, outubro de 2010. Disponível em: www.sidra.ibge.gov.br.

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

JAGADEESH, K.S.; KRISHNARAJ, P.U.; KULKARNI, J.H. Suppression of deleterious bacteria by rhizobacteria and subsequent improvement of germination and growth of tomato seedlings. **Current Science**, v. 91, n 11, p. 1458-1459, 2006.

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

KHAKIPOUR, N.; KHAVAZI, K.; MOJALLALI,H.; PAZIRA, E.; ASADIRAHMAN, H. Production of Auxin Hormone by Fluorescent *Pseudomonads*. **American-Eurasian J. Agriculture e Environmental Science**, v.4, n.6,p. 687-692, 2008.

KHALID, A.; ARSHAD, M.; ZAHIR, Z.A. Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. **Journal of Applied Microbiology**, v. 96, p.473–480, 2004.

KUPPER, K. C. Mal-do-Panamá. **ANAIS XIII Reunião Itinerante de Fitossanidade do Instituto Biológico.** p.28-31, 2005. Disponível: www.biologico.sp.gov.br.

LADEIRA, M. C.G. **Biocontrole de *Quambalaria eucalypti* por meio de rizobactéria.** Magister Science. Universidade Federal de Viçosa- Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Viçosa-MG. 2006

LAMBRECHT, M.; OKON, Y.; BROEK, A. V.; VANDERLEYDEN, J. Indole-3-acetic acid: a reciprocal signaling molecule in bacteria-plant interactions. **Trends in Microbiology**, v.8, p.298-300, 2000.

LAZZARETI, E.; MELO, I.S. Influência de *Bacillus subtilis* na promoção de crescimento de plantas e nodulação de raízes de feijoeiro. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, 28, 21p. 2005.

LEAL, P. L.; MARTINS, M. A.; RODRIGUES, L. A.; SCHIAVO, J. A. Crescimento de mudas micropropagadas de bananeira micorrizadas em diferentes recipientes. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 27, n. 1, p. 84-87, 2005.

LINS, G. M. L.; TRINDADE, A.V.; ROCHA, H. S. Utilização de *Gigaspora margarita* em plantas micropropagadas de bananeira em diferentes estágios de enraizamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 1, p. 143-147, 2003.

LIU, B.; QIAO, H.; HUANG, L.; BUCHENAUER, H.; HAN, Q.; KANG, Z.; GONG, Y. Biological control of take-all in wheat by endophytic *Bacillus subtilis* E1R-j and potential mode of action. **Biological Control**, v.49, p.277-285, 2009.

LOPES, E.B.; BRITO, C.H.de; ALBURQUERQUE, I.C.de; OLIVEIRA, A.R.R. Influência de fatores químicos do solo sobre a incidência do mal-do-panamá na bananeira cv. Pacovan na Paraíba. **Revista de biologia e ciência da terra.** v.8, n.1, p. 100-109, 2008.

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

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

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

MAFIA, R. G.; ALFENAS, A..C.; MAFFIA, L.A.; FERREIRA, E.M.; BINOTI, D.H.B.; SIQUEIRA, L. Microbiolização e interação entre rizobactérias Promotoras do crescimento e clones de eucalipto. **Revista Árvore**, v.33, n.5, p.789-797, 2009.

MARCHIORO, L.E.T. **Produção de ácido indol acético e Derivados por bactérias fixadoras de nitrogênio.** 75p. (Tese –Doutorado) Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

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

MELLO, M.R.F. **Efeito de bactérias na promoção de crescimento e no biocontrole da fusariose em mudas de abacaxi micropropagadas.** (Dissertação de Mestrado). Recife. Universidade Federal Rural de Pernambuco. 2002.

MIA, M.A.B.; SHAMSUDDIN, Z.H.; WAHAB,Z.; MARIAH, M. Rhizobacteria as bioenhancer and biofertilizer for growth and yield of banana (Musa spp. cv. 'Berangan'). **Scientia Horticulturae**, v. 126, p. 80–87, 2010.

MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Controle Biológico de doenças de plantas no Brasil. IN: **Controle de doenças de plantas: uso e perspectivas.** (Eds. BETTIOL, W. e MORANDI, M. A.B.) Jaguariúna- SP. **Embrapa Meio Ambiente**, 341p, 2009.

MOREIRA, F. M. DE S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo.** 2. ed. Lavras: Editora UFLA, 2006. v. 1. 729 p.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

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

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

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

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

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

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

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

PATTEN, C. L.; GLICK, B. R. Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. **Applied and Environmental Microbiology**, v.68, p.3795-3801, 2002.

PEDRAZA, R.O.; RAMÍREZ-MATA, A.; XIQUI, L.; BACA, B. E. Aromatic amino acid aminotranferase activity and índole-3-acetic production by associative nitrogen-fixing bacteria. **FEMS, Microbiology Letters**, v.233, p. 15-21, 2004.

PEREIRA, M. C.T.; NIETSCH, S.; FRANÇA, A. C.; NUNES, C. F.; CYNTHIA DE LIMA, C. L.; GONÇALVES, V. D.; SALLES, B. P.; MORAIS, D. L. B.; KOBAYASHI, M.K. Aclimação de mudas micropropagadas de bananeira sob condições de luminosidade. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 27, n. 2, p. 238-240, 2005.

PIETERSE, C. M.J.; JOHAN A. VAN PELT, J. A.; TON, J.; PARCHMANN, S.; MUELLER, M. J.; BUCHALA, A.J.; TRAU, J.M.; VAN LOON, L.C. Rhizobacteria-mediated induced systemic resistance (ISR) in Arabidopsis requires sensitivity to jasmonate and ethylene but is not accompanied by an increase in their production. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.57, p.123-134, 2000.

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

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

REIS, V.M. Interações entre plantas e microrganismos. **Embrapa Agrobiologia**, 24 p. 2005.

ROBERTS, D.P.; LOHRKE, S.M.; MEYER, S.L.F.; BUYER, J.S.; BOWERS, J.H.; BAKER, C.J.; LIE, W.; SOUZA, J. T.DE.; LEWIS, J.A.; CHUNG, S. Biocontrol agents applied individually and in combination for suppression of soilborne diseases of cucumber. **Crop Protection**, v. 24, p.141–155, 2005.

RODRÍGUEZ-ROMERO, A.S.; BADOSA, E.; MONTESINOS, E.; JAIZME-VEJA, M.C. Growth promotion and biological control of root-knot nematodes in micropropagated banana during the nursery stage by treatment with specific bacterial strains. **Annual Applied Biology**, v.152, p.41–48, 2008.

ROMEIRO, R. S. e GARCIA, F. A. O. **Indução de resistência em plantas a patógenos por eliciadores de natureza bacteriana.** IN: Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas (Eds. BETTIOL, W. e MORANDI, M. A. B.) Embrapa Meio Ambiente, 341p. 2009.

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

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

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

SACHDEV, D.P.; CHAUDHARI, H.G.; KASTURE, V.M.; DHAVALÉ, D.D.; CHOPADE, B.A. Isolation e characterization of indole acetic acid (IAA) producing *Klebsiella pneumonia* strains from rhizosphere of wheat (*Triticum aestivum*) and their effect on plant growth. **Journal of Experimental Biology.** v. 47,p. 993-1000,2009.

SARAVAKUMAR, D.; VIJAYAKUMAR,C.; KUMAR. N.; SAMIYAPPAN, R. PGPR-induced defense responses in the tea plant against blister blight disease. **Crop Protection**, v.26, p.556–565, 2007.

SANTOS, C.C.C.; RODRIGUES, P. H. V. Variação somaclonal de mudas micropropagadas de bananeira cultivar Pacovan. Bragantina: **Revista de ciências agrônômicas**, v. 63. n. 2, p. 201- 205, 2004.

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

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

SILVA, A.C. M. **Diversidade genética, densidade populacional e potencial de promoção de crescimento de rizobactérias associadas ao cacauero.** (Dissertação Mestrado) – Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. 2007.

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

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

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

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

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

SOLANO, B.R., BARRIUSO, J.; GUTIÉRREZ-MAÑERO, F.J. **Physiological and molecular mechanisms of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR)**. In: Plant-Bacteria Interactions - strategies and techniques to promote plant growth. (Eds. AHMAD, I.; PICHTEL, J.; HAYAT, S.) p.41-54, 2008.

SOTTERO, A. N.; FREITAS, S.S.; MELO, A.M.T.; TRANI, P.E. Rizobactérias e alface: Colonização rizosférica, promoção de crescimento e controle biológico. **Revista Brasileira Ciência Solo**, v.30, p.225-234, 2006.

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

SOUZA, L.S.; BORGES, A.L. **Preparo e preservação do solo**. In: O cultivo da bananeira. (Eds. A. L. Borges e L. S. Souza). Embrapa Mandioca e Fruticultura, 279p. 2004.

SOUZA, F. V. D.; COSTA, M.A.P.C.; NETO, H.P.S. **Aclimação**. IN: Introdução a micropropagação de plantas. (Eds.Souza, A.S.;Junhanes, T.G.) Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. 152 p.2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**, 3ª Ed. Porto Alegre: Guanabara Koogan, 722 p. 2004.

TANIMOTO, E. Regulation of root growth by plant hormones — roles for auxin and gibberellin. **Critical Reviews in Plant Sciences**, London, v.24, p.249–265, 2005.

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

TEIXEIRA, D.A., ALFENAS, A.C., MAFIA, R.G., MAFFIA, L.A. e FERREIRA, E.M. Evidências de indução de resistência sistêmica à ferrugem do eucalipto mediada por rizobactérias promotoras do crescimento de plantas. **Fitopatologia Brasileira**, v.30, p.350-356, 2005.

TEIXEIRA, D. A.; ALFENAS, A.C.; MAFIA, R. G.; FERREIRA, E.M.; SIQUEIRA, L.; MAFFIA, L.A.; MOUNTEER, A. H. Rhizobacterial promotion of eucalypt rooting and growth. **Brazilian Journal of Microbiology**. v.38, p.118-123,2007.

TROTEL-AZIZ, P.; COUDERCHET, M.; BIAGIANTI, S.; AZIZ, A. Characterization of new bacterial biocontrol agents *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Pantoea* and *Pseudomonas* spp. Mediating grapevine resistance against *Botrytis cinerea*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 64, p. 21–32, 2008.

VAN LOON L.C.; BAKKER P.A.H.M.; PIETERSE C.M.J. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. **Annual Review Phytopathology**, v. 36, p.453-483,1998.

VESTBERG, M.; KUKKONEN ,S.; SAARI, K.; PARIKKA , P.; HUTTUNEN, J.; TAINIO, L.; DEVOS, N.; WEEKERS, F.; KEVERS, C.;THONART, P.; LEMOINE, M-C.; CORDIER, C.; ALABOUVETTE, C.; GIANINAZZI, S. Microbial inoculation for improving the growth and health of micropropagated strawberry. **Applied Soil Ecology**, v. 27, p.243–258, 2004.

VIEIRA,L.M. Banana. **EPAGRI/CEPA**. 2009. Disponível em: www.cepa.epagri.sc.gov.br Acessado em: 05 de maio de 2010.

WEBER, O.B.; BALDANI, J.I.;DÖBEREINER, J. Bactérias diazotróficas em mudas de bananeira. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.35, n.11, p.2277-2285, 2000.

WHIPPS,J.M.; SKENE,K.R.; JONES,H.G. Microbial interactions and biocontrole in the rhizosphere. Roots: from gene to ecosystem. **Journal of Experimental Botany**, v.52, p.487-511,2001.

ZHAO,Z.; WANG,Q.; WANG,K.; BRIAN,K.; LIU,C.; GU, Y. Study of the antifungal activity of *Bacillus vallismortis* ZZ185 in vitro and identification of its antifungal components. **Bioresource Technology**, v.101, p.292–297, 2010.