

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

**APLICAÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS E BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS
PARA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE MUDAS
MICROPROPAGADAS DE BANANEIRA.**

ROSIANE SILVA VIEIRA

**CRUZ DAS ALMAS-BA
OUTUBRO / 2012**

APLICAÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS E BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS DE MUDAS MICROPROPAGADAS DE BANANEIRA

ROSIANE SILVA VIEIRA

Engenheira Agrônoma

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2010.

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

Orientador: Harllen Sandro Alves Silva

Co-Orientador: Aldo Vilar Trindade

**CRUZ DAS ALMAS-BA
OUTUBRO / 2012**

FICHA CATALOGRÁFICA

V657 Vieira, Rosiane Silva

Aplicação de rizobactérias e bactérias endofíticas para promoção de crescimento de mudas micropropagadas de bananeira / Rosiane Silva Vieira. – Cruz das Almas, 2012.

53 f. il.; 30 cm.

Orientador: Dr. Harllen Sandro Alves Silva

Co-orientador: Dr. Aldo Vilar Trindade

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

1. Micropropagação de plantas 2. Banana. 3. Rizobactérias I. Universidade Federal da Bahia do Recôncavo da Bahia II. Silva, Harllen Sandro Alves. III. Título.

CDD : 581.46

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Lucidalva Ribeiro Gonçalves Pinheiro – CRB5/1161.

**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
ROSIANE SILVA VIEIRA**

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

D^a. Lydice Meira
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Prof: Rogério Eiji Rhanada
Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia

**CRUZ DAS ALMAS-BA
OUTUBRO / 2012**

*Dedico meus melhores resultados à minha
família, que me incentivou e auxiliou-me
neste meu caminhar.*

Sem vocês, nada faz sentido...

Com vocês, tudo é possível...

Por vocês, tudo vale à pena...

Ao meu namorado pela dedicação,
companheirismo e paciência durante este trabalho.

Ofereço

AGRADECIMENTOS

A Deus pela graça da vida.... meu guia, por me dar força e coragem;

A minha mãe (Maria de Lourdes), minhas irmãs (Rita, Raline e Rose) e irmãos, pelo apoio incondicional;

Aos meus sobrinhos pelos momentos de alegria, amo muito vocês;

A minha Tia Carmem e a minha madrinha Rosemeire pelo incentivo e apoio constante nesta caminhada;

As minhas demais tias, tios e primos, pelo carinho;

Ao meu namorado João Paulo pelo carinho e por sempre a me incentivar a seguir em frente.

A meu orientador Dr. Harllen Sandro Alves Silva pela oportunidade na elaboração deste trabalho;

Ao programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e Embrapa Mandioca e Fruticultura, pela realização de mais um grande passo em minha vida;

A CAPES e ao CNPq.

As minhas amigas Verônica, Liliane, Juliana, Celma, Josilda, obrigada a todas por sua amizade, apoio e palavras de conforto evidenciados nas muitas horas em que batia o cansaço e o desespero...

Aos inesquecíveis colegas do Laboratório de Microbiologia do Solo e Resíduos Orgânicos: Kaliane Sírio, Celma, Emanuele, Rodrigo, Mariana, Jorge, Luciano e principalmente a Liliane por todo apoio e ajuda nos experimentos;

Ao senhor João Vieira, técnico do Laboratório de Nematologia da Embrapa, por está sempre pronto a ajudar. Um "Grande homem". Meus sinceros agradecimentos;

A Fernando e Joel da CAMPO, pela autorização do uso deste espaço e pelo fornecimento do material necessários para a realização desse trabalho.

Ao professor Edgar Santos Filho pela amizade e orientação no estágio docência .

Ao pessoal do setor de campo Sinésio, João Cerqueira, Paulo Laercio, Sismil e Gilvandro, sempre prestativos.

A Saulo, Emanuel e ao pessoal do Laboratório de virologia (Keila, Karina) pela disponibilidade e colaboração para a realização deste trabalho.

A Márcia e Renata, funcionárias do colegiado da Pós-Graduação sempre prestativas;

A Drº Antonio Souza Juraci e Karen, do laboratório de biotecnologia – EMBRAPA por cederem espaço sempre que precisava para executar meu trabalho.

Aos colegas e professores do curso de Microbiologia Agrícola da UFRB. Muito obrigada por tudo.

Ao pessoal do Laboratório de Microbiologia Agrícola da UFRB, Prf. Jorge, Adailson, Valter e Eliane por colaborarem para a realização deste trabalho.

Mais uma vez agradeço a Deus, por colocar todas essas pessoas no meu caminho e me mostrar à importância de cada uma delas através dos desafios e alegrias que apareceram durante essa jornada.

Enfim, a todos que contribuíram com ações, palavras ou gestos, os quais me estimularam a realizar esse trabalho, meus sinceros agradecimentos.

INDÍCE

Páginas

Resumo

Abstract

INTRODUÇÃO.....	1
1.0 A cultura da bananeira.....	3
1.1 A variedade Maçã.....	5
1.2 A propagação da bananeira.....	6
1.3 A micropropagação na cultura da bananeira.....	7
1.4 Meios de culturas e os fitoreguladores.....	9
2.0 Potencial biotecnológico dos Micro-organismos.....	12
2.1 Rizobactérias na promoção do crescimento vegetal.....	13
2.2 Bactérias endofíticas como promotoras de crescimento de plantas.....	15
MATERIAL E MÉTODOS.....	17
RESULTADOS.....	24
DISCUSSÃO.....	31
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	37
REFERÊNCIAS.....	38

Resumo

VIEIRA. R.S. Aplicação de rizobactérias e bactérias endofíticas para promoção de crescimento de mudas micropropagadas de bananeira.

A bananicultura no Brasil vem se destacando como a segunda fruta mais importante em área colhida, quantidade produzida, valor da produção e consumo. A micropropagação proporciona a obtenção de material propagativo com alto padrão genético e fitossanitário, em grande quantidade e em tempo reduzido. Em contrapartida as mudas produzidas não apresentam a microbiota benéfica dos tecidos vegetais. O re-estabelecimento de micro-organismos pode auxiliar o desenvolvimento da planta e protegê-las contra doenças. Propomos que, rizobactérias e bactérias endofíticas podem atuar como promotores de crescimento de mudas de bananeira micropropagadas. Sendo assim objetivou-se avaliar: a) identificar a (s) dosagens (0, 25, 50 e 75 %) do ácido naftalenoacético (ANA) no meio de enraizamento mais eficiente; b) a concentração de isolados de rizobactérias adequada que possa ser usada para o enraizamento, c) o tempo ideal para a microbiolização e d) o efeito da aplicação de rizobactérias e bactérias endofíticas para indução do enraizamento e crescimento de mudas micropropagadas de bananeira da variedade maçã *in vitro* e *in vivo*. Foram selecionados cinco isolados eficientes na promoção de enraizamento em meio de cultura com 25% de ANA dos isolados testados, onde dois desses isolados mostraram resultados significativos para a promoção de crescimento em mudas micropropagadas de bananeira *in vivo*, mas não diferenciou do controle. O presente trabalho demonstrou a possível utilização de Rizobactérias e bactérias endofíticas como promotores do crescimento de plantas, sendo uma importante ferramenta para ser incorporados ao processo de produção de mudas micropropagadas de banana, considerando-se a relação custo/benefício da aplicação.

Palavras- chave: banana, micropropagação, microbiolização

Abstract

VIEIRA. R.S. Application of rhizobacteria and endophytic bacteria to promote growth of banana plantlets.

The banana crop in Brazil stands out as the second most important fruit in harvested area, yield, value of production and consumption. Micropropagation provides obtaining propagative material with high genetic pattern and phytosanitary fields in large quantity and in a short time. On the other hand the seedlings produced do not present the beneficial microbiota of plant tissues. The re-establishment of microorganisms can assist the development of the plant and protect them against diseases. This work had as objectives: identify (s) dosages (0, 25, 50 and 75%) of naphthalene acetic acid (NAA) on rooting medium more efficient, the concentration of rhizobacteria isolates that can adequate be used for rooting, the optimal time to microbiolization and the effect of applying rhizobacteria and endophytic bacteria for induction of rooting and growth of micropropagated banana plantlets variety of apple in vitro and in vivo. Were selected five isolates efficient in promoting rooting in culture medium with 25% of the isolates tested ANA, two isolates showed significant results in promoting growth in micropropagated banana plantlets in vivo, not differentiating of the control. This study demonstrated the potential use of endophytic bacteria and rhizobacteria as plant growth promoters, being an important tool be incorporated to production process of banana plantlets, considering the cost / benefit of application.

Keywords: banana, micropropagation, microbiolization.

INTRODUÇÃO

A produção de banana é um dos principais produtos ligados ao agronegócio mundial, sendo a fruta *in natura* mais consumida (OLIVEIRA, 2010). Tem grande valor econômico para o Brasil, destacando como a segunda fruta mais importante em área colhida, quantidade produzida, valor da produção e consumo. É cultivada por pequenos, médios e grandes produtores rurais, sendo que, 60% de sua produção vêm da agricultura familiar (BORGES e SOUZA, 2004).

Em alternativa aos métodos de propagação vegetativa tradicionais, para bananeiras, tem-se o uso de mudas produzidas *in vitro*, a partir de explantes contendo tecidos meristemáticos de matrizes selecionadas, de forma asséptica e sob condições controladas. A técnica possibilita a obtenção de material propagativo com alto padrão genético e fitossanitário, em grande quantidade e em tempo reduzido (SILVA NETO, 2001).

A utilização de micro-organismos em cultivos agrícolas tem aumentado expressivamente nas últimas décadas, pois tem facilitado tanto a promoção do crescimento vegetal como o biocontrole de pragas e doenças. Constituem-se de potenciais substitutos de produtos químicos, colaborando desta forma para a preservação do ambiente. A partir disso, os micro-organismos expõem importante propriedade de atribuir proteção às plantas, seja pela sua presença em plantas hospedeiras, seja pela sua aplicação como agentes de biocontrole que podem resultar na eliminação de pragas agrícolas (SANTOS, VARAVALLO, 2011).

No trabalho são abordados os aspectos relevantes do cultivo da banana como os efeitos positivos e negativos da micropropagação na cultura da banana; a importância dos meios de culturas e os fitoreguladores na cultura de tecidos; o potencial biotecnológico dos micro-organismos; o grupo das rizobactérias e bactérias endofíticas, como possíveis promotores de crescimentos de plantas. Discutiu-se ainda aspectos sobre a utilização conjunta de micro-organismos no incremento da produtividade de mudas da variedade Maçã micropropagadas.

A hipótese em estudo fundamenta-se na idéia de que a ação conjunta de rizobactérias e bactérias endofíticas podem atuar como promotores do crescimento tendo como objetivo avaliar a aplicação de rizobactérias e bactérias endofíticas para indução do enraizamento e crescimento de mudas micropropagadas de bananeira.

Considerando-se a importância da cultura da bananeira para o território brasileiro e a expansão dos cultivos para regiões não tradicionais e o emprego crescente pelos produtores de mudas micropropagadas, torna-se imprescindível a alocação de recursos para as investigações sobre a produção de mudas micropropagadas com a introdução de bactérias endofíticas e rizobactérias pré-selecionados que podem contribuir na promoção de crescimento e controle integrado de doença.

E com base nessas pesquisas, desenvolver um protocolo para obtenção de mudas micropropagadas de bananeira, pela aplicação de micro-organismos, de modo a reduzir custos de produção e proporcionando mudas de qualidade que alcance o máximo em produtividade sem reflexos negativos no meio ambiente, mas que sejam aceitáveis pela sociedade e economicamente viáveis.

REVISÃO DE LITERATURA

1.0 A cultura da bananeira

A bananeira é uma fruteira cultivada em praticamente todas as partes do planeta. Originária do sudeste da Ásia chegou ao ocidente por volta de 4000 anos atrás, trazida por comerciantes árabes, que a transportavam como um valioso alimento para ser consumido durante as viagens de suas caravanas. Posteriormente, foi disseminada para várias partes do mundo, com destaque para os países de clima tropical e subtropical, onde a cultura encontrou condições favoráveis ao seu cultivo (NELSON et al., 2006). A bananeira de frutos comestíveis está na família Musaceae, subfamília Musoideae, gênero *Musa*, seção Eumusa (SILVA et al., 2002).

A bananeira (*Musa* spp.) 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 metros (BORGES e SOUZA, 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, 2010). Segundo Scot et al. (2006), os frutos da bananeira também tem uma variação no tamanho, cor e forma, são geralmente alongados-cilíndricos, e fortemente curvados. Dentro do fruto maduro, a polpa varia de amido em doce e de cor branca, creme, amarelo ou amarelo-alaranjado.

As bananas constituem o alimento básico de milhões de pessoas em vários países em desenvolvimento. É um alimento energético, rico em carboidrato, sais minerais, como sódio, magnésio, fósforo e, especialmente, potássio. Apresenta predominância de vitamina A e C, contendo também as vitaminas B1, B2 e B6, além de pouca proteína e gordura. (COSTA et al., 2005).

No mundo, o cultivo da bananeira está geograficamente situado entre latitudes de 30° S e 30° N do Equador (SOTO BALLESTERO, 1992) sendo as condições ótimas encontradas entre 15° de latitude ao Sul e ao Norte do Equador. A Índia se destaca como principal produtor mundial de banana, responsável por 31,2% do volume produzido, seguida pela China com 9,6%, Filipinas, com 8,9%, Equador, com 7,8%, Brasil com 6,8% e Indonésia, com 6,3%. No Brasil, o cultivo da bananeira ocorre em todos os estados da federação nos ecossistemas mais variados possíveis (COELHO, 2009).

Dentre as frutíferas, a bananeira ocupa a segunda posição na produção mundial, sendo superada apenas pela melancia, com 100,7 milhões de toneladas. A banana apresentou em 2010 uma safra nacional de área colhida de 480,1 mil hectares, quantidade de 6,98 milhões de toneladas e rendimento médio de 14,4 toneladas por hectare, O seu consumo per capita tem aumentado gradativamente nos últimos anos, atingindo aproximadamente 31 kg/hab/ano (FAO, 2011). Em termos gerais, ainda que as condições naturais permitam uma produção de alta qualidade, é corrente afirmar que existe baixa eficiência na produção e no manejo pós-colheita (VIEIRA, 2010).

No Brasil, a maior parte da produção provém do Nordeste do país, onde são produzidos 38% do volume total nacional, seguido das Regiões Sudeste (31,2%), Sul (14,7%), Norte (11,7%) e Centro-Oeste (3,6%) (Figura 1). Ao todo, a área plantada é de cerca de 520.000 hectares gerando mais de 500.000 empregos, colocando o país em quinto lugar entre os principais produtores mundiais (IBGE, 2011).

A área cultivada com banana na Bahia é de 62,3 mil hectares e a produção é de 865,2 mil toneladas. A produtividade média no Estado é de 13.880 kg/ha, 3% superior à produtividade nacional e 9,5% acima do rendimento médio do Nordeste. Na Bahia, a banana é cultivada em todas as regiões, porém tem uma concentração maior no Litoral Sul e no Sudoeste. As regiões do Médio São Francisco e do Baixo Médio São Francisco, com os plantios irrigados, também têm uma participação expressiva (SANTOS e FERRAZ, 2006).

A produção de banana na Bahia está concentrada na agricultura de base familiar, que representa 60 % dos produtores rurais que costumam expandir seus bananais por meio de brotos laterais da planta adulta é a forma mais utilizada para expandir os bananais e desta forma, o risco de disseminar importantes patógenos, para áreas livres de infestação, aumenta consideravelmente fazendo com que ocorra a busca de novas áreas de plantio e da renovação de áreas pouco produtivas, tornando fundamental a introdução de mudas de bananeira com alta qualidade genética e fitossanitária (TRINDADE et al., 2003).

O avanço da bananicultura no Brasil vem requerendo, para os novos plantios, mudas isentas de pragas e doenças e a obtenção de mudas por meio da micropropagação, que é, atualmente, a opção mais confiável para obtenção de plantas saudáveis e de maneira rápida. Entretanto, a micropropagação também elimina a microbiota benéfica dos tecidos vegetais. A re-introdução de micro-organismos via tratamento de explantes pode promover o crescimento das futuras plântulas e protegê-las contra doenças (BORGES e SOUZA, 2004).

1.1 Banana maçã

No que diz respeito às cultivares, as mais utilizadas no Brasil são a Prata, Pacovan, Prata Anã, Maçã, Mysore, Terra e D'Angola do grupo AAB; Nanica, Nanicão e Grande Naine, do grupo AAA, estas últimas usadas principalmente na exportação (SILVA et al., 1999; SILVA et al., 2004).

A maioria dos consumidores brasileiros preferem a banana 'Maçã' em razão de seu paladar, devido a seus frutos roliços de 10 a 16 cm de comprimento, com casca fina e polpa suave que lembram a maçã. No entanto, devido à sua alta suscetibilidade ao mal-do-Panamá, está sendo dizimada de norte a sul do país (SILVA et al., 1999; GOMES, 2007; SILVA et al., 2001; SILVA et al., 2004).

A cultivar maçã apresenta poucas folhas, as quais são levemente opacas e têm o aspecto de um guarda chuva de praia aberto, sua inflorescência é pequena, sendo as tépalas de cor rósea, o engaço mediano e fino, o cacho chega a ser tão grande quanto as tépalas de cor rósea, o engaço mediano e fino, o cacho chega a apresentar

cerca de 12 pencas, com uma média de 6-8 frutos, chegando a pesar 8-12 Kg (MOREIRA, 1999).

De acordo com SILVA e ALVES (1999) o ciclo vegetativo (do plantio a colheita) de 390 dias, com um bom perfilhamento, frutos pesando em torno de 98 g, cerca de 86 frutos por cacho e um rendimento de produção de 10 toneladas por hectare.

Stivari (1999), relata que a cultivar maçã é mais resistente a seca dispensando, assim o uso de equipamentos de irrigação, tornando a atividade viável para os pequenos e médios produtores, em função de apresentar menor custo de produção quando comparado a cultivar Nanica, embora os danos causados pelo Mal-do-Panamá.

Segundo Moreira (1999), o Mal-do-Panamá tem levado os produtores a realizar o plantio da banana maçã em áreas livres de doenças, utilizando mudas produzidas por cultura de tecidos, que vão para o campo sem o patógeno causador da doença, no entanto sem imunidade contra ele.

1.2 Propagação da Bananeira

A bananeira (*Musa sp.*) pode ser propagada de diversas maneiras. Por sementes (provenientes da sua inflorescência), ou vegetativamente por meio de mudas pelo método tradicional utilizando mudas tipo chifrão, chifre, chifrinho, fracionamento de rizoma ou in vitro. Pelo método tradicional, mesmo o material sendo de ótima qualidade, o processo é lento e permite a disseminação de doenças e pragas como Sigatoka-amarela (*Mycosphaerella musicola*), mal-do-Panamá (*Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense*) Sigatoka-negra (*Mycosphaerella fijiensis*), Broca-do-rizoma (*Cosmopolites sordidus*) e Nematóides (CORDEIRO; MESQUITA, 2000; BORGES e SOUZA, 2004).

O emprego de técnicas modernas biotecnológicas como a manipulação genética, a biologia molecular e a cultura de tecidos, estão sendo usadas para o melhoramento genético de plantas permitindo assim o desenvolvimento de novas variedades. Entre as diferentes práticas de cultura de tecidos uma das mais

utilizadas é a micropropagação, a qual é responsável pela boa parte da produção de mudas de diversas espécies com fins comerciais (FLORES, 2003).

Essa técnica envolve o cultivo de ápices caulinares e tem como base a propagação pela organogênese direta de gemas axilares e apesar de ser bastante difundida no Brasil, nota-se que ocorre deficiência de trabalhos que busquem o aumento da taxa de multiplicação de algumas cultivares importantes, considerando, além das variações somaclonais, os custos de produção (PEREIRA, 2012).

A aplicação da micropropagação, propagação *in vitro* ou cultura de tecidos espécies do gênero *Musa* são relatados a partir da década de 1960. Inúmeros trabalhos como os de (BRAGA et al., 2001; LEMOS et al., 2001; DEBIASI et al., 2002; SANTOS; RODRIGUES, 2004) confirmam o sucesso da produção de mudas de bananeira *in vitro*. Assim como (PEREIRA et al., 2009; PEREIRA et al., 2010; PEREIRA et al., 2011).

1.3 Micropropagação na cultura da bananeira

A micropropagação é uma técnica de cultura de tecido de material vegetal *in vitro*, para a produção de mudas a partir de explantes contendo tecidos meristemáticos de matrizes selecionadas, de forma asséptica e sob condições controladas. A técnica possibilita a obtenção de material propagativo com alto padrão genético e fitossanitário, em grande quantidade e tempo reduzido (SILVA NETO, 2001).

A tecnologia de cultura de tecido certifica que o número pequeno de plantas mãe é necessário para se obter um grande número de plantas descendentes, resultando em material vegetal com alto grau de identidade genotípica e fenotípica das plantas descendentes, segundo Singh et al., (2011). Estes mesmos autores relatam que as plantas micropropagadas apresentam desenvolvimento constante e amadurecimento que permitem um período melhor para a colheita.

Neste sentido, os protocolos de micropropagação envolvem as seguintes etapas; seleção de plantas matrizes e dos explantes, limpeza e assepsia do material vegetal, estabelecimento da cultura, multiplicação e enraizamento *in vitro* (CASTRO, 2009). No fim da fase de enraizamento as plantas que apresentarem boa formação de raízes serão encaminhadas para aclimação em casa de vegetação e após 90 dias disponibilizadas ao agricultor (LINS et al., 2003).

Cabe ressaltar que o cultivo da bananeira convencional apresenta uma lenta taxa de multiplicação no campo, que varia de 10 a 30 mudas/matriz/ano, na micropropagação as mudas variam de 150-300 mudas/planta em menor tempo (Tabela 1) Castro (2009). Dessa maneira se obtêm quantidade suficiente para o plantio de novas mudas. Assim, a micropropagação *in vitro* oferece melhores condições para a ampliação de mudas e o estabelecimento de novos plantios. Além dessa particularidade, as mudas micropropagadas oferecem as vantagens de serem repartidas em qualquer período do ano, em um espaço físico menor e livres de patógenos e pragas, com uniformidade genética; e por promoverem aumento na produção (OLIVEIRA, SILVEIRA e SILVA, 2001).

Em estudos realizados por Sacarpere Filho et al. (1998) comparando mudas de bananeira tradicionais com mudas provenientes de cultura de meristema foi observado que as mudas micropropagadas são mais produtivas, assim como foi mostrado no trabalho de Leonel et al. (2004) ao relatarem que as mudas de bananeiras obtidas por meio da micropropagação crescem mais vigorosas, mais altas, com maiores períodos de produção e mais uniformemente, além de se estabelecerem mais rapidamente e proporcionarem maior produtividade com relação às propagadas convencionalmente.

Tabela 1- Número de mudas e período necessário para produção a partir de diferentes métodos de propagação da bananeira.

Métodos Propagativos	Micropropagação	Fracionamento de Rizomas	Processo convencional
Número de plantas¹	150 a 300	4 a 12	10 a 30
Período (meses)	Mudas/ plantas 6 – 8	Mudas/ plantas 6 – 8	Mudas/ plantas 12

¹Variável de acordo com o genótipo utilizado (CASTRO, 2009).

As mudas micropropagadas são asseguradas quanto a sua fitossanidade, o que lhe atribui prerrogativa sobre a muda tradicional, determinando plantas com aumento da homogeneidade, promovendo a manipulação do bananal e derivando em maior fecundidade e menor custo no plantio, chegando a ser 30% mais produtiva que a muda convencional, desde que as técnicas culturais e os tratos fitossanitários sejam realizados adequadamente (OLIVEIRA et al., 2011).

Em contra partida, embora as mudas de bananeira que saem da etapa *in vitro* estão livres de fitopatógenos o estão também de microbiota natural benéfica, estando mais sensíveis as doenças, a estresses de adaptação e, durante o processo *in vitro*, podem sofrer variação somaclonal (BORGES e SOUZA, 2004).

A introdução de micro-organismos benéficos não representa problemas reais à cultura, e ainda podem constituir um ganho ao mantê-los na planta, pois se configuram como possíveis agentes de controle biológico e fonte de metabólitos secundários, dentre outros que podem promover crescimento da planta (ALMEIDA et al., 2005; DONATO et al., 2005; LONDE et al., 2007).

1.4 Meios de cultura e os fitoreguladores na micropropagação

Na micropropagação, pequenos fragmentos de tecido vivo, chamados explantes, são isolados de uma planta, desinfetados e cultivados assepticamente por períodos indefinidos em um meio de cultura apropriado. O objetivo é obter uma nova planta idêntica à original, ou seja, realizar uma clonagem vegetal. Para que variedades sejam micropropagadas eficientemente faz-se necessário, primeiramente, o estabelecimento de protocolos de desinfestação dos explantes, a elaboração de meios nutritivos específicos e demais condições ideais de cultivo *in vitro* (FARIA, 1997). A aplicação de reguladores vegetais, como as auxinas e as citocininas, é fundamental para promover maior taxa de multiplicação (MACÊDO et al., 2003).

Meios de cultura consistem da associação qualitativa e quantitativa de substâncias que fornecem os nutrientes necessários ao desenvolvimento (cultivo) de micro-organismos e/ou tecidos vegetais fora do seu meio natural. Tendo em vista a ampla diversidade metabólica dos micro-organismos e/ou tecidos vegetais, existem

vários tipos de meios de cultura para satisfazerem as variadas exigências nutricionais. Além dos nutrientes é preciso fornecer condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento dos micro-organismos, tais como pH, pressão osmótica, umidade, temperatura, atmosfera (aeróbia, microaeróbia ou anaeróbia), dentre outras (HORIQUINI, 2009).

A composição dos meios nutritivos deve abranger todos os minerais essenciais à nutrição vegetal, além de fornecer uma fonte de carbono, em geral um carboidrato, tendo em vista a reduzida capacidade, ou mesmo a total incapacidade fotossintética dos explantes. Algumas vitaminas, aminoácidos e reguladores de crescimento, principalmente auxinas e citocininas, também podem ser incorporados ao meio nutritivo pois, são úteis como indutores do desenvolvimento dos explantes, mas devem ser utilizados com o devido critério (WILLADINO ; CAMARA, 2011).

Dentre os reguladores de crescimento vegetal a auxina é a classe responsável pelo aumento consistente da formação de primórdios radiciais em tecidos que naturalmente apresentam certa predisposição ao enraizamento (HAISSIG, 1972). O ácido naftalenoacético (ANA) faz parte do grupo de auxinas sintéticas que apresentam grande importância agrícola, sendo utilizada em diversas técnicas para o enraizamento de culturas, principalmente por meio dos processos de estaquia e alporquia. Além disso, possui papel importante em vários protocolos de cultivo *in vitro* (MERCIER, 2004).

As auxinas, quanto sintetizadas pelas plantas ou aplicadas exogenamente, podem provocar uma gama variada de efeitos, como crescimento do caule, folhas, raiz, flor e fruta. De um modo geral, a aplicação de auxinas promove efeito benéfico até uma determinada concentração, variável com uma série de fatores, a partir daí, o efeito passa a ser prejudicial.

Algumas hipóteses têm sido sugeridas para explicar o efeito inibitório das auxinas, principalmente no que se refere ao processo de formação de raízes entre elas estão a de que, em altas concentrações, as auxinas induzem a biossíntese de etileno, que pode inibir o crescimento, e que a auxina tem efeito sobre a polarização da membrana plasmática, que, em baixas concentrações, ocorre uma hiperpolarização da membrana associada ao transporte de H⁺ do citoplasma para a parede, já, em altas

concentrações, a hiperpolarização diminui. Plantas cultivadas *in vitro* perdem água rapidamente pela transpiração, quando transferidas para a condição *ex vitro* (GROUT, 1988; SUTTER, 1988).

Além disso, a taxa fotossintética das plantas *in vitro* é inferior a de plantas cultivadas no ambiente natural. O processo de aclimação auxilia as plantas provenientes do cultivo *in vitro* a atingirem sua taxa fotossintética normal (WETZSTEIN e SOMMER, 1982). A eficiência no processo de aclimação poderia ser aumentada com a estimulação da formação de maior quantidade de raízes em plantas crescidas *in vitro*, que possibilitaria o aumento da absorção de água, compensando a perda de água devido à pequena espessura da cutícula no início do processo de aclimação (DEWIR et al. 2005).

A etapa de aclimação vem a ser a fase final da micropropagação e sua importância é tal que pode significar a limitação de todo o processo de multiplicação *in vitro* de plantas. A adaptação das plantas produzidas *in vitro* às novas condições *in vivo* deve ser gradual e cercada de cuidados especiais, de maneira a reduzir os estresses que podem culminar na sua morte (SOUZA, 2006).

2.0 Potencial biotecnológico dos micro-organismos

A utilização de micro-organismos com ação de biocontrole e/ou promoção de crescimento vem sendo apontada como alternativa em sistemas de produção agrícola ecológica e economicamente sustentáveis (COMPANT et al., 2005; SOUSA et al., 2009). A interação entre plantas e micro-organismos pode estimular o crescimento vegetal, além da produção de compostos que diminuem a herbivoria sobre os tecidos vegetais ou conferem resistência a fitopatógenos, ocasionando benefício às plantas (LONDE et al., 2007).

Em geral, tal grupo desses micro-organismos é composto por fungos e bactérias, que desempenham funções importantes no processo de adaptação da planta com o meio ambiente (MENDES e AZEVEDO, 2007). Por essa razão, são necessários os estudos com uma abordagem positiva da presença de micro-organismos, dentre eles os rizosféricos e endófitos naturais no cultivo *in vitro* de bananeira. Sendo assim, a

presença de tais micro-organismos pode não representar problemas reais à cultura, e ainda constituir um ganho ao mantê-los na planta, pois, além de não apresentarem características patogênicas, também se configuram como, agentes de controle biológico e fonte de metabólitos secundários, dentre outros (ALMEIDA et al., 2005; DONATO et al., 2005; LONDE et al., 2007).

Essa capacidade de estimular o crescimento vegetal apresentada pelos micro-organismos endofíticos e rizosféricos tem sido atribuída a mecanismos diretos tais como a fixação do nitrogênio atmosférico, mineralização da matéria orgânica, disponibilização de fósforo e ferro, e à produção de reguladores de crescimento vegetal ou análogos a estes; e indiretos como antagonismo a fitopatógenos (PEIXOTO NETO et al., 2002; LUZ et al., 2006).

Neste sentido dentro dos efeitos satisfatórios dos endofíticos estão relacionados a barreira de herbivoria, proteção contra nematóides e resistência contra patógenos podendo inibir diretamente a infecção e proliferação do patógeno dentro da planta hospedeira, ou indiretamente desviando respostas de resistência intrínseca à planta. Os microrganismos endofíticos podem produzir toxinas, antibióticos e outros fármacos, fatores de desenvolvimento e muitos outros produtos de possível importância biotecnológica (SANTOS; VARAVALHO, 2011|).

Estudos utilizando micro-organismos endofíticos na promoção de crescimento de plantas no Brasil já foram desenvolvidos com milho (*Zea mays*) e fumo (*Nicotiana tabacum*) (VARMA et al., 1999), hortelã pimenta (*Mentha piperita*) (MUCCIARELLI et al., 2003), maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis*) (LUZ et al., 2006), pinha (*Annona squamosa*) (SILVA et al., 2006), tomateiro (*Solanum lycopersicum*) (BARRETTI et al., 2008; BARRETTI; SOUZA; 2008) e abacaxizeiro (*Ananas comosus*) (BALDOTTO et al., 2010), apresentando respostas promissoras.

As rizobactérias têm sido estudadas nas últimas décadas como inoculantes para o incremento da produção agrícola, para o controle biológico de patógenos de solo e ainda como indutores de resistência sistêmica (CHEN et al., 1996; LIU et al., 1995 a, 1995 b; VAN LOON et al., 1998).

A promoção de crescimento de várias culturas em casa de vegetação e em experimentos de campo em resposta à utilização de rizobactérias foi observada

(HÖFLICH et al., 1992; FREITAS e GERMIDE, 1992; BASHAN et al., 1998; PAN et al., 1999). A introdução de algumas bactérias endofíticas, como isolados de *Acinetobacter johnsonii* e *Bacillus pumilis* promoveram incremento na altura das plantas de tomateiro em 9,5,% e 20,2,%, respectivamente, o que evidencia a promoção do crescimento vegetal por essas bactérias (SILVA, 2004).

2.1 Rizobactérias na promoção de crescimento vegetal

A rizosfera é uma fração do solo que sofre influência da liberação de exsudatos das raízes, é habitada por bactérias, presentes no solo as quais são atraídas por estes exsudatos, aumentando assim, suas respectivas populações e interagindo de maneira mais intensa com a espécie vegetal em desenvolvimento (OLIVEIRA; 2010).

As rizobactérias colonizam as raízes de plantas favorecendo o desenvolvimento das plantas e o cultivo de várias culturas hospedeiras. Essas bactérias com capacidade de promoção no crescimento de plantas são conhecidas mundialmente como Rizobactérias Promotoras do Crescimento e Plantas (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria - PGPR). As rizobactérias multiplicam-se e colonizam ligeiramente o sistema radicular, produzem metabólitos secundários que impedem a colonização de patógenos (KLOEPPER et al., 2004).

Segundo Silva et al., (2009) as rizobactérias atuam de forma benéfica às plantas por diversos organismos de ação, diretos ou indiretos, como, por exemplo, a antibiose, o parasitismo, a competição, a produção de sideróforos e a indução da resistência. As rizobactérias multiplicam-se e disseminam-se ligeiramente no sistema radicular, inibindo a colonização de patógenos pela produção de metabólitos secundários (KLOEPPER et al., 2004).

Uma das formas de beneficiar as plantas , além da promoção direta do crescimento, é, indiretamente, o controle biológico de fitopatógenos, onde essas bactérias também podem atuar com mecanismos variados (FREITAS e PIZZINATTO, 1991). Barka et al., (2000) observaram o aumento da resistência de videiras a *Botrytis cinerea*, possivelmente associada ao aumento da produção de citocininas na rizosfera.

Os mecanismos de promoção do crescimento por rizobactérias não são

completamente conhecidos, dentre os citados nas literaturas está o fornecimento de fitohormônios de crescimento como auxinas, várias giberelinas e citocininas (EL-KHAWAS et al., 1999). A presença desses compostos auxilia o crescimento da raiz e da parte aérea do vegetal aumentando a captação de nutrientes pela planta (ANTOUN et al., 1998; ASGHAR et al., 2002).

A promoção do crescimento é desejável, considerando a maioria dos pontos de vista. Em plantas anuais o benefício se consiste em aumento de matéria seca, resultando em encurtamento do ciclo ou em aumento na produção, dependendo da espécie (FREITAS et al., 2003). Em plantas perenes, uma forma de benefício seria ocorrer diminuição do período em que a muda passa em viveiro. Para plantas cítricas, especificamente, que passam por uma fase em viveiro de mudas, em substrato com possibilidade de manipulação, seria altamente desejável obter-se um isolado bacteriano benéfico que seria acrescentado ao substrato, onde poderia desenvolver-se com vantagem, já que enfrentaria menor número de competidores.

Rizobactérias promotoras do crescimento de plantas, têm sido citadas numa série de trabalhos como beneficiadoras de uma gama de espécies de vegetais. Dentre essas espécies são mais freqüentemente citadas as anuais, de pequeno porte, como abóbora (CHEN et al., 2000), alface (FREITAS et al., 2003), feijão (SILVEIR et al., 1995a), trigo (LUZ, 2001), etc.; todavia, há alguns relatos de promoção de crescimento em plantas perenes, como café (FREITAS, 1989) e abeto, uma essência florestal (CHANWAY et al., 2000).

2.2 Bactérias Endofíticas como promotoras de crescimento de plantas

As plantas hospedam uma diversidade de microrganismos, dentre eles as bactérias endofíticas, definidas como microrganismos que habitam o interior das plantas, sendo encontradas em órgãos e tecidos vegetais como folhas, ramos, raízes (AZEVEDO et al., 2000). O grupo endofítico é organizado principalmente por fungos e bactérias que, ao oposto dos microrganismos patogênicos, não causam prejuízo à planta hospedeira (PEIXOTO NETO et al., 2002).

A maneira de penetração se dá por aberturas naturais como estômatos,

lenticelas, hidatódios, ou por injúrias causadas por insetos e maquinário agrícola. Além disso, essas bactérias são capazes de degradar a parede celular das plantas pela liberação de enzimas hidrolíticas como celulases e pectinases, sendo essa uma possível forma de penetração. Embora observações demonstrem a possibilidade de mecanismos de penetração ativa de algumas bactérias endofíticas, muito pouco se sabe sobre a origem e regulação dessas enzimas (LODEWYCKX et al., 2002).

Os diferentes mecanismos de distribuição das bactérias endofíticas podem estar relacionados com interações com outras bactérias ou com os diferentes mecanismos de cada microrganismo, que lhes permitem habitar vários nichos, representado pelos tecidos e, mais especificamente, pelos espaços intercelulares no interior de cada tecido (DI FIORI e DEL GALLO, 1995).

Os principais mecanismos pelos quais as bactérias endofíticas promovem o crescimento de plantas são a fixação de nitrogênio, produção de reguladores de crescimento, disponibilização de nutrientes (BODDEY e DOBEREINER, 1995; ARSHAD e FRANKENBERGER, 1991), e o controle biológico de fitopatógenos, seja este pelo antagonismo direto da microflora deletéria ou pela indução de resistência sistêmica (HALLMANN et al., 1997).

Pesquisas nas últimas décadas demonstraram que bactérias endofíticas podem promover o crescimento das plantas e reduzir os sintomas de doenças causadas por diversos patógenos (HALLMANN et al., 1997). Os efeitos na promoção de crescimento incluem aumentos na altura, na biomassa da parte aérea, do caule e da raiz e na formação de pêlos radiculares e foliares da planta, na lignificação de vasos do xilema e na produção de tubérculos em batata (PILLAY et al., 1997; STURTZ, 1995).

Em vários estudos realizados mostraram que as bactérias endofíticas podem também acelerar a emergência das plântulas, promover o estabelecimento de plantas em condições adversas (CHANWAY, 1997) e auxiliar no crescimento do vegetal (BENT e CHANWAY, 1998), em tomateiro (BARRETTI, 2008 e 2009), bananeira (GANEM, 2008), abacaxi (MELLO et al., 2002) com resultados promissores. Weber (2003) constatou que o tratamento de mudas micropropagadas com o isolado endofítico de *Burkholderia cepacia*, aumentou a produtividade das cultivares dos subgrupos “Cavendish” e “Gros Michel”.

A utilização dos microrganismos endofíticos tem apresentado resultados satisfatórios. Assim, dentro do controle biológico a efetividade dos endofíticos está acoplada a diversos fatores tais como: especificidade da planta hospedeira, a dinâmica de populações e o padrão da colonização da planta, a agilidade para mover-se dentro dos tecidos e a desenvoltura para induzir resistência sistêmica (ESPOSITO – POLESI, 2011).

MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram conduzidos na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB, Embrapa Mandioca e Fruticultura e na Companhia de Produção Agrícola S. A. (CAMPO).

1. Indução do enraizamento de explantes de bananeira pela aplicação de bactérias em meios contendo diferentes concentrações de ácido naftalenoacético (ANA).

Doze isolados de bactérias rizosféricas e endofíticas selecionados por Ramos (2011) e Cardoso (2010) como produtores de ácido indolacético, provenientes da coleção de microrganismos do Laboratório de Microbiologia do Solo e Resíduos Orgânicos (Tabela 2), foram crescidos em meio Agar nutriente (AN) por 24 h a 28 °C, e decorrido este intervalo as colônias foram ressuspensas em água destilada e esterilizada com o auxílio da alça de Drigalsky por meio da raspagem das colônias. A concentração de cada suspensão foi ajustada para 10^9 ufc mL⁻¹.

TABELA 2- Isolados bacterianos selecionados *in vitro* como potenciais promotores de crescimento.

Isolado	Cultivar	Origem	Tipo de bactérias
IB 1	Prata Comum	Pseudocaule	Endofítica
IB 2	Prata Comum	Folha	Endofítica
IB 8	Prata Comum	Folha	Endofítica
IB 9	Prata Comum	Folha	Endofítica
IB 10	Prata Anã	Folha	Endofítica
IB 3	Prata Anã	Raiz	Endofítica
IB 7	Prata Anã	Raiz	Endofítica
IB11	Prata Anã	Raiz	Endofítica
IB 4	Prata Comum	Solo rizosférico	Rizobactéria
IB 5	Prata Comum	Solo rizosférico	Rizobactéria
IB 6	Prata Comum	Solo rizosférico	Rizobactéria
IB 12	Prata Comum	Solo rizosférico	Rizobactéria

Os isolados foram usados na microbiolização dos explantes. A aplicação das rizobactérias e das endófitas foi realizada na etapa de enraizamento, por imersão dos explantes em suspensão aquosa (50 mL) dos doze isolados (IB1, IB2, IB3, IB4, IB5, IB6, IB7, IB8, IB9, IB10, IB11 e IB12) por 5 minutos.

Os explantes foram transferidos para frascos de cultura de 263 mL, contendo 60 mL de meio de cultivo, composto de meio MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) suplementado com (0, 25, 50 e 75 %) de 1,35 μM do ácido naftalenoacético (ANA); 10 g.L^{-1} de sacarose, e adicionado de 4,7 g.L^{-1} de Agar esterilizado a 120°C por 20 min. O ensaio foi montado com três repetições por tratamento e cinco explantes por repetição, sendo o controle composto por explantes não tratados. Os frascos foram mantidos em estufas tipo PAD & FAN, com controle de temperatura 25°C - 30°C e umidade 80%,

tendo como fonte de luz a irradiação solar, por 20 dias (Figura 1). Ao final desse período avaliou-se a indução do enraizamento dos explantes pelas bactérias, observando se houve formação de raízes ou não. Isolados que proporcionaram a formação de explantes enraizados foram selecionados.

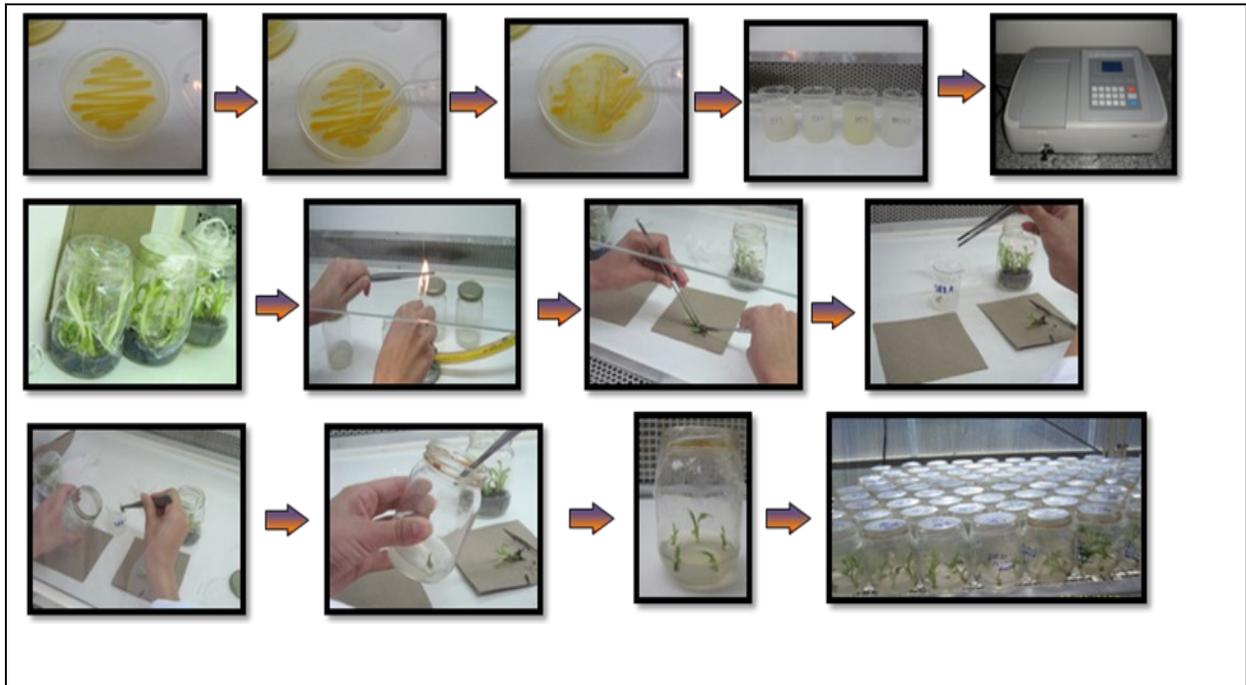


Figura 1 – Etapas da microbiolização de explantes de bananeira da variedade Maçã.

2. Indução do enraizamento de explantes de bananeira pela aplicação de bactérias em diferentes concentrações e em meios de cultivo contendo diferentes concentrações de ácido naftalenoacético (ANA).

Os isolados de bactérias rizosféricas e endófitas selecionados do ensaio anterior foram multiplicados em meio sólido AN incubados por 24 h a 28 °C, e decorrido este intervalo as colônias foram ressuspensas em água destilada e esterilizada com o auxílio da alça de Drigalsky por meio da raspagem das colônias, procedendo assim o ajuste da concentração de cada suspensão de isolado para 10^8 , 10^7 e 10^6 ufc mL⁻¹.

Procedeu-se então a microbiolização por imersão dos explantes em suspensão aquosa (50 mL) dos isolados IB3, IB4, IB5, IB6, IB7 nas concentrações de 10^8 , 10^7 e 10^6 ufc / mL⁻¹ por 5 minutos. Em seguida os explantes foram transferidos para frascos de cultura de 263 mL, contendo 60 mL de meio de cultivo, composto de meio MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) suplementado com (0, 25, 50 e 75 %) de 1,35 µM do ácido naftalenoacético (NAA); 10 g.L⁻¹ de sacarose, e adicionado de 4,7 g.L⁻¹ de Agar esterilizado a 120°C por 20 min.

O ensaio foi montado com cinco explantes por frascos e três repetições por isolados, sendo o controle composto por explantes não tratados imersos em água. Os frascos foram mantidos em estufas tipo PAD & FAN, com controle de temperatura 25°C - 30°C e umidade 80%, tendo como fonte de luz a irradiação solar, por 20 dias. Ao final desse período avaliou-se a indução do enraizamento dos explantes pelas bactérias, observando se houve formação de raízes ou não.

3. Tempo de microbiolização na indução do enraizamento de explantes de bananeira pela aplicação de bactérias

Os mesmos isolados (IB3, IB4, IB5, IB6, IB7) foram testados quando a capacidade de indução do enraizamento de explantes de bananeira, sob diferentes intervalos de microbiolização. Para isso, foram multiplicados em meio sólido AN e incubados a 28°C por 24 h.

Decorrido este intervalo as colônias foram ressuspendidas em água destilada e esterilizada com o auxílio da alça de Drigalsky por meio da raspagem das colônias, procedendo assim o ajuste da concentração de cada suspensão de isolado para 10^9 ufc / mL⁻¹. Realizando-se então a microbiolização dos explantes por imersão dos explantes em suspensão aquosa (50 mL) dos cinco isolados por 1, 3 e 5 minutos.

Os explantes foram transferidos para frascos de cultura de 263 mL, contendo 60 mL de meio de cultivo, composto de meio MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) acrescido de 25% de ácido naftalenoacético (ANA); 10 g.L⁻¹ de sacarose, e adicionado de 4,7 g.L⁻¹ de Agar esterilizado a 120°C por 20 min.

O experimento foi montado com três repetições por tratamento e cinco explantes por repetição, sendo o controle composto por explantes não tratados. Os frascos foram mantidos em estufas tipo PAD & FAN, com controle de temperatura 25°C - 30°C e umidade 80%, tendo como fonte de luz a irradiação solar, por 20 dias. Ao final desse período avaliou-se a indução do enraizamento dos explantes pelas bactérias.

4. Indução do enraizamento de explantes de bananeira pela aplicação de combinações de bactérias

Vislumbrando a possibilidade do uso da aplicação conjunta de isolados selecionados, realizou-se o um ensaio de antibiose recíproca pelo método da dupla camada, de acordo com metodologia de Romeiro (2007 b). Os isolados foram crescidos em placas de Petri contendo meio TSA, utilizando alça de platina para depositar uma colônia de cada isolado em pontos equidistantes na superfície do meio. As placas foram então incubadas a 28 °C por 24 h.

Em seguida adicionou-se, sob condições asséptica, 1 mL de clorofórmio na tampa de cada placa fechando-as e deixando as mesmas em posição invertida (fundo da placa com meio na superfície superior e a tampa com o clorofórmio na superfície inferior) por 20 minutos para matar as bactérias. As placas foram entreabertas em ambiente asséptico durante 30 minutos para que os resíduos de clorofórmio fossem eliminados.

Realizou se a adição de 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 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.

A seguir, os isolados foram multiplicados em meio sólido NA (Nutriente Agar) incubados por 24 h a 28 °C, e decorrido este intervalo as colônias foram ressuspensas em água destilada e esterilizada com o auxílio da alça de Drigalsky por meio da raspagem das colônias, procedendo assim o ajuste da concentração de cada suspensão de isolado para 10^9 ufc / mL⁻¹.

Em seguida foi realizada a mistura de isolados adicionando em um Becker 10 ml da suspensão bacteriana de cada isolado não antagônicos. Procedeu-se à imersão dos explantes em suspensão aquosa (50 mL) da combinação dos isolados negativos para antibiose, de acordo com duas combinações de isolados CB1 (IB3 + IB4 + IB5+ IB7) e CB2 (IB3 + IB5 + IB6+ IB7) por 1 minuto.

Os explantes foram transferidos para frascos de cultura de 263 mL, contendo 60 mL de meio de cultivo, composto de meio MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) suplementado com 25% de ácido naftalenoacético (NAA); 10 g.L⁻¹ de sacarose, e adicionado de 4,7 g.L⁻¹ de Agar esterilizado a 120°C por 20 minutos. O experimento teve três repetições por tratamento e cinco explantes por repetição, sendo o controle composto por explantes não tratados. Os frascos foram mantidos em estufas tipo PAD & FAN, com controle de temperatura 25°C - 30°C e umidade 80%, tendo como fonte de luz a irradiação solar, por 20 dias. Ao final desse período avaliou-se a indução do enraizamento dos explantes pelas bactérias, observando se houve formação de raízes ou não.

5. Aplicação isolada ou em combinações de rizobactérias e/ou bactérias endofíticas para a promoção de crescimento de mudas micropropagadas de bananeira em casa de vegetação.

Foi realizado ensaio utilizando mudas da variedade Maçã selecionadas do primeiro ensaio realizado na fase de enraizamento, sendo priorizados os isolados que proporcionaram a sobrevivência dos explantes microbiolizados no prazo de 20 dias. Este ensaio foi montado em delineamento inteiramente casualizado com dois tratamentos, cinco isolados e cinco repetições por tratamento com uma muda por repetição. Mudanças não tratadas constituíram o controle, compondo os seguintes tratamentos: IB, explantes tratados com bactérias aplicadas isoladamente, (IB3, IB4, IB5, IB6, IB7) e IB + CB explantes tratados com bactérias aplicadas isoladamente provenientes do primeiro ensaio mais a combinação das outras bactérias (CB), conforme a Tabela 3.

TABELA 3 - Delineamento dos tratamentos utilizados no experimento em casa de vegetação.

Isolados Bacterianos	Tratamentos	
	APLICADOS ISOLADOS	APLICADOS COMBINADOS
IB3	IB3	IB3 + CB (IB4+ IB5 + IB6 + IB7)
IB4	IB4	IB4 + CB (IB3+ IB5 + IB7)
IB5	IB5	IB5 + CB (IB3+ IB4 + IB6 + IB7)
IB6	IB6	IB6 + CB (IB3+ IB5 + IB7)
IB7	IB7	IB7 + CB (IB3+ IB4 + IB5 + IB6)
CONTROLE	CONTROLE	CONTROLE

A aplicação isolada ou da combinação das rizobactérias e endófitas, foram realizados na etapa de aclimação. As mudas enraizadas foram transplantadas em potes plásticos de 10,5 cm de altura por 12 cm de largura, contendo solo autoclavado. Durante o transplante, procedeu-se à aplicação das combinações entre as rizobactérias e endofíticas por imersão das mudas na suspensão aquosa contendo as bactérias, na concentração de 10^9 ufc / mL⁻¹, por 1 minuto. Os potes foram mantidos casa de vegetação, irrigados diariamente, para o desenvolvimento das mudas.

Decorridos 30 dias as mudas foram avaliadas quanto à altura, comprimento radicular total e crescimento das raízes fasciculadas, peso fresco e 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, medidos os seus comprimentos, colocadas em sacos de papel e encaminhados para a estufa a 60 °C por 3 dias. Após este período, foi realizada a pesagem do material.

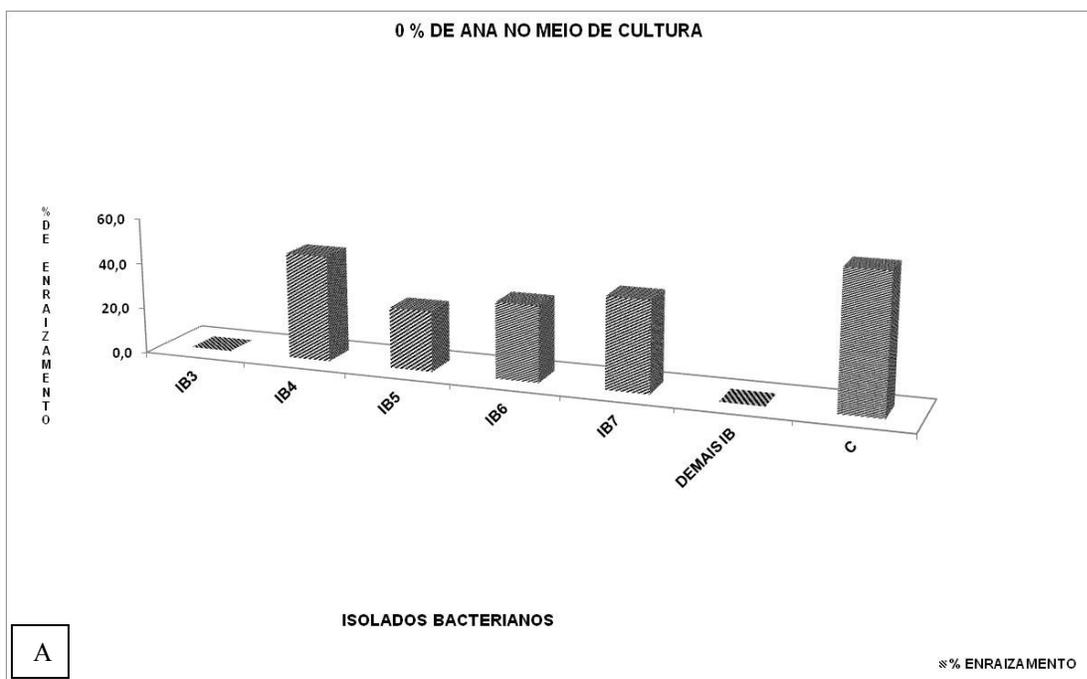
Para a avaliação do índice de crescimento, a média das cinco repetições, para cada parâmetro de crescimento do controle foi considerada como valor 100, somados os sete valores atribuídos, apresentando assim um índice de crescimento igual a 700, a partir da qual foram feitas as devidas comparações em relação aos outros tratamentos

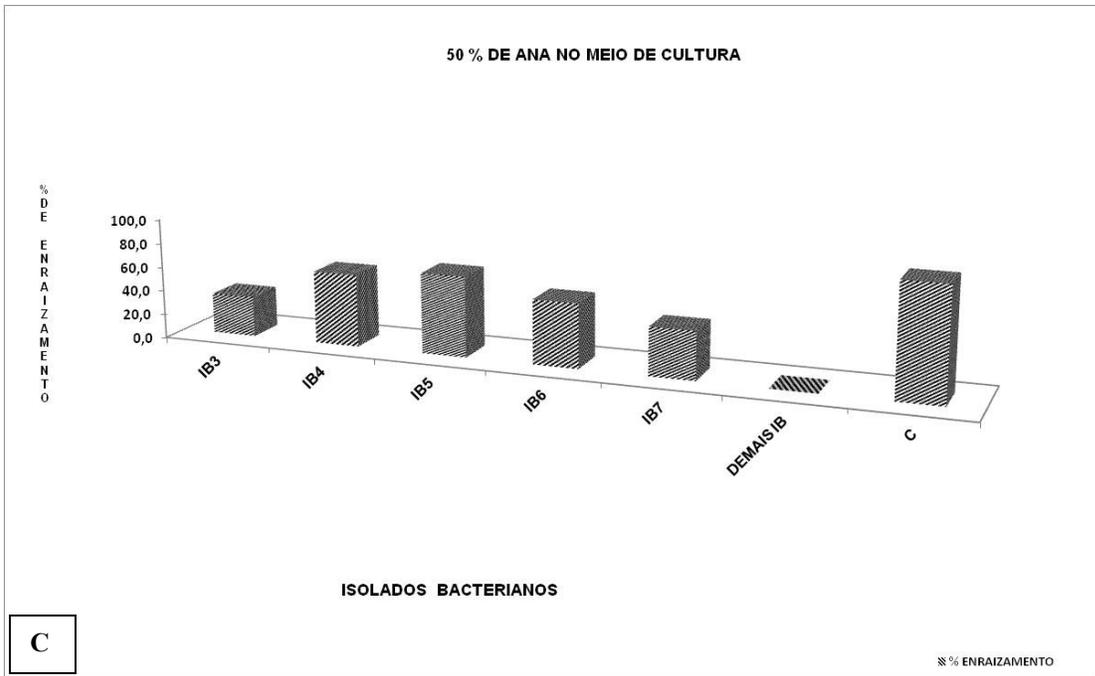
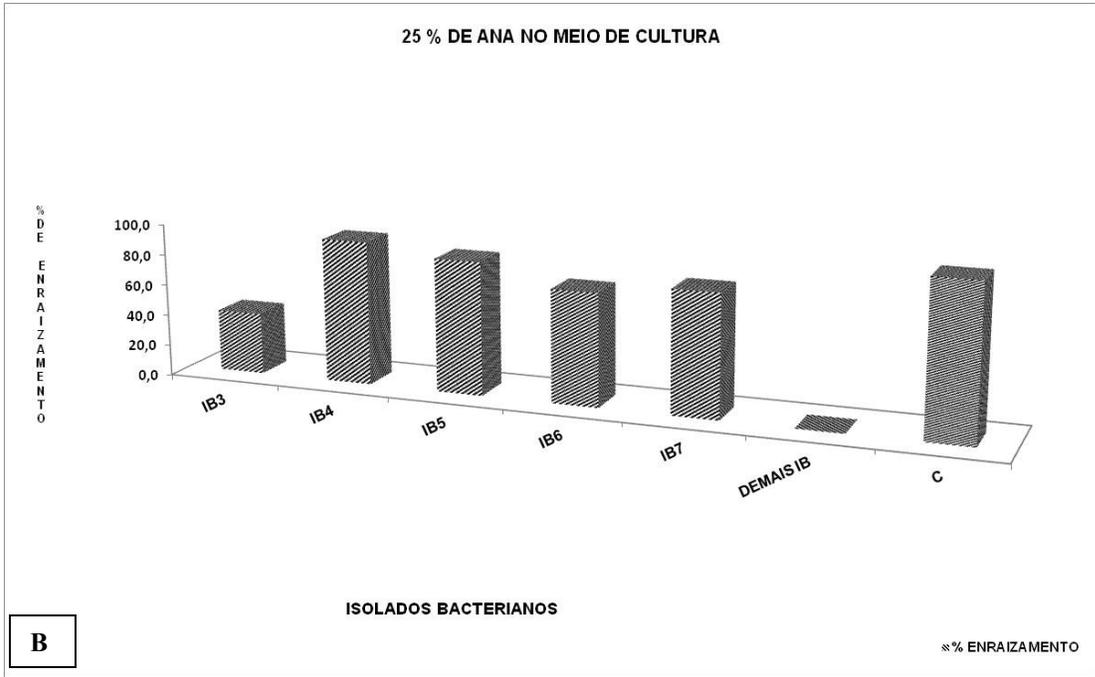
por regra de três. A comparação entre os tratamentos foi realizada pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5 % de probabilidade analisados pelo programa estatístico SISVAR.

RESULTADOS

1. Indução do enraizamento de explantes de bananeira pela aplicação de bactérias em meios contendo diferentes concentrações de ácido naftalenoacético (ANA).

Dos doze isolados testados como indutores do enraizamento de explantes de bananeira da variedade Maçã diferentes dosagens do ácido naftalenoacético, cinco isolados (IB 3, IB 4, IB5, IB6, IB 7) proporcionaram explantes enraizados (Figura 2).





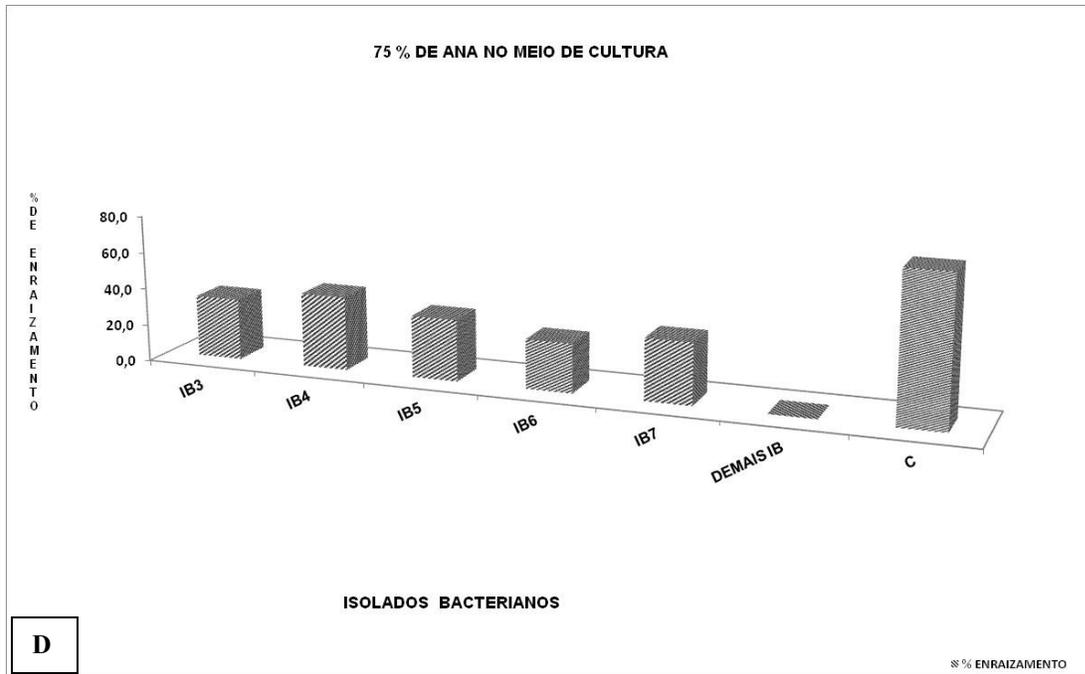


Figura 2 – Ensaio de Indução do enraizamento de explantes de bananeira pela aplicação de bactérias em meios contendo diferentes concentrações de ácido naftalenoacético. A, B, C e D mostram enraizamento de explantes de banana maçã cultivados em meios com diferentes dosagens do ANA e com concentração de 10^9 U.F.C/mL dos isolados.

As dosagens do ácido naftalenoacético (ANA) utilizados variaram de 0 a 75%, onde a dosagem de 0 % do ácido naftalenoacético (ANA) teve em média 36,6% de explantes enraizados com quatro isolados, já a 25, 50 e 75 % do ácido naftalenoacético (ANA) resultou em média 74,6%, 50,6% e 33,3% de explantes enraizados, respectivamente em cinco isolados. Sendo assim, a dosagem de 25% do ácido naftalenoacético (ANA) foi o que mais induziu enraizamento de explantes.

2. Indução do enraizamento de explantes de bananeira pela aplicação de bactérias em diferentes concentrações e em meios de cultivo contendo diferentes concentrações de ácido naftalenoacético (ANA).

Nesta avaliação para averiguar qual a concentração ótima do isolado para a microbiolização das mudas de bananeira, verificou-se que apenas os isolados IB5 e IB6 foram positivos para enraizamento nas concentrações de 10^8 , 10^6 e 10^7 nas dosagens 25%, 75% e 50% respectivamente, não superando o controle (Figura 3).

Neste ensaio obteve-se que o maior número de explantes enraizados foi no IB6 na concentração 10^6 ufc mL⁻¹ e na dosagem de 75% do ácido naftalenoacético (ANA), que ainda induziu enraizamento na concentração 10^7 ufc mL⁻¹ e na dosagem de 50% do ácido naftalenoacético (ANA). Já o IB5 induziu enraizamento de explantes na concentração 10^8 ufc mL⁻¹ e nas dosagens de 25%, 50% e 75% do ácido naftalenoacético (ANA).

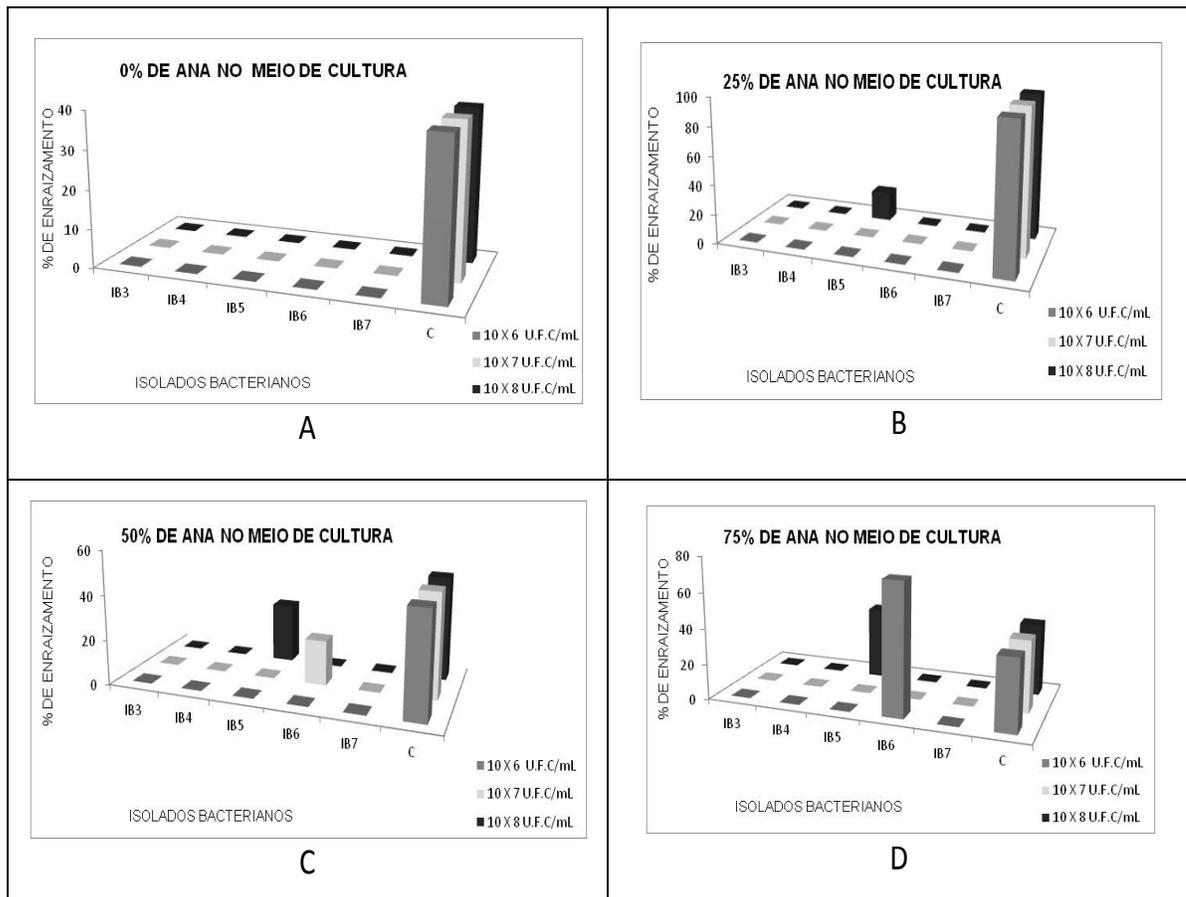


Figura 3 – Enraizamento de explantes de banana maçã cultivados em meios com diferentes dosagens do ANA A, B, C e D respectivamente e concentrações diferenciadas de isolados bacterianos.

3. Tempo de microbiolização na indução do enraizamento de explantes de bananeira pela aplicação de bactérias

Neste ensaio observou-se que o tempo de 1 minuto é o suficiente pra a microbiolização dos explantes (Tabela 4).

Pôde-se observar que no isolado IB3 os tempos utilizados foram favoráveis para a microbiolização e o enraizamento dos explantes, onde os tempos avaliados obtiveram a mesma quantidade de explantes enraizados, já nos isolados IB4, IB5 e IB7, houve enraizamento, mais os explantes enraizaram em uma quantidade menor com o aumento do tempo e em IB6 o melhor tempo para o enraizamento dos explantes foi o primeiro minuto.

TABELA 4 - Enraizamento de explantes de banana maçã em diferentes intervalos de microbiolização.

Isolados	1min*	3min	5min
IB3	12**	12	12
IB4	7	5	0
IB5	5	8	5
IB6	10	0	0
IB7	11	8	5
CONTROLE	15	15	15

*Tempo testados para a microbiolização.

**Quantidade de explantes enraizados.

4. Aplicação conjunta de rizobactérias e endofíticas e para a promoção de crescimento de mudas micropropagadas de bananeira *in vitro*

Com a realização do teste de antibiose recíproca verificou-se as possibilidades de combinações entre os isolados ao observar a formação de halo de inibição evidenciando a presença de mecanismos de antibiose recíproca entre os isolados IB4 e IB6. De posse desse resultado foi realizado um ensaio *in vitro* combinando os isolados

entre si exceto os que apresentaram halo de inibição, avaliando-se a formação de raízes e sobrevivência dos explantes. Em um período de 20 dias, foi possível verificar as combinações feitas ocasionaram a morte da totalidade dos explantes (Figura 4).

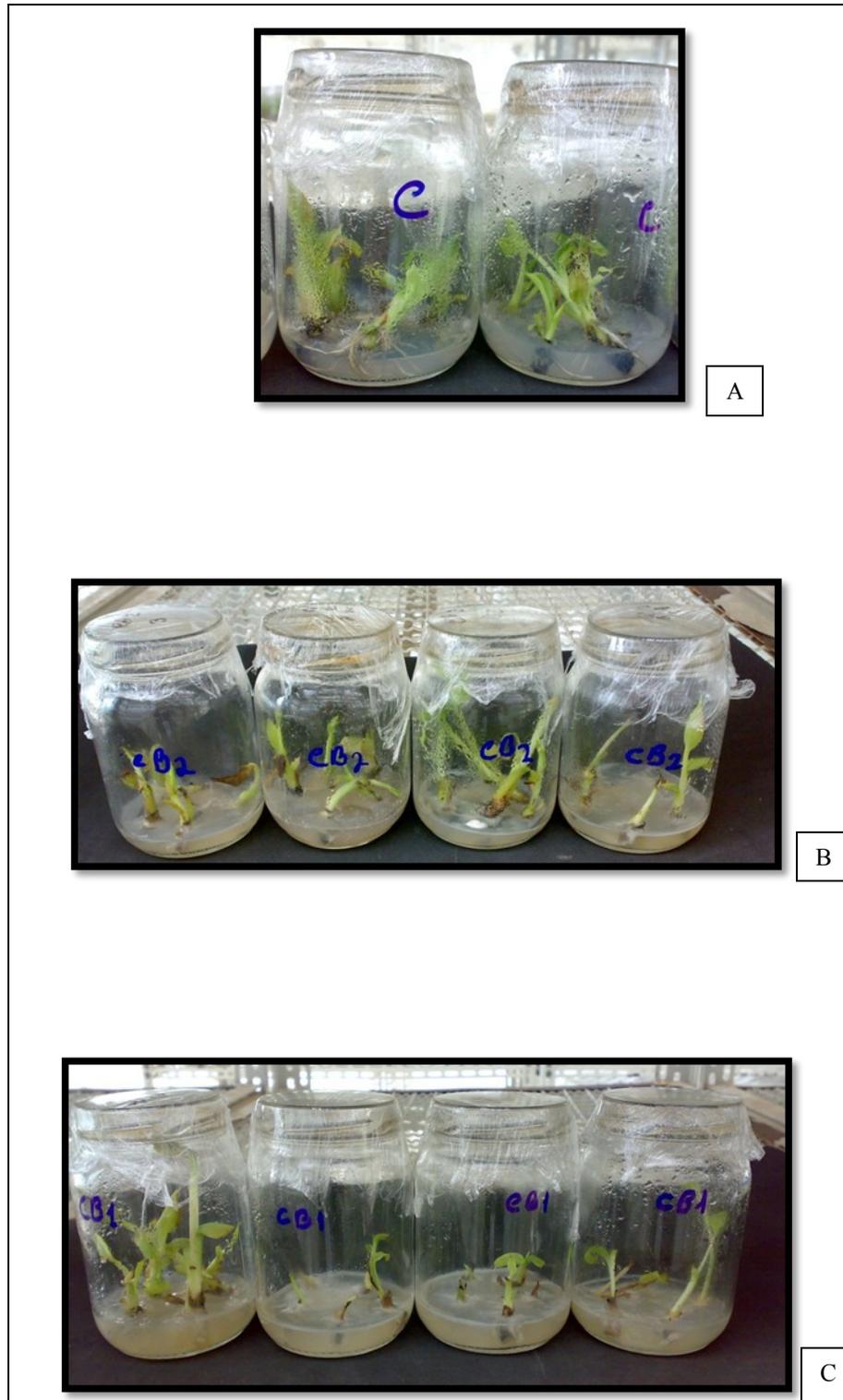


Figura 4 – Ensaio da aplicação conjunta de rizobactérias e endofíticas e para a promoção de enraizamento e crescimento de mudas micropropagadas de bananeira da

variedade maçã *in vitro*. A controle (explantos imersos em água por 1min); B explantes microbiolizados com a combinação 2 dos isolados bacterianos, CB2 (IB3 + IB5 + IB6+ IB7 por 1 minuto e C explantes microbiolizados com a combinação 1 dos isolados bacterianos CB1 (IB3 + IB4 + IB5+ IB7).

5. Aplicação isolada ou em combinações de rizobactérias e/ou bactérias endofíticas para a promoção de crescimento de mudas micropropagadas de bananeira em casa de vegetação.

Ao compararmos os isolados bacterianos estatisticamente pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade, pode-se observar que os isolados IB3 IB4, IB5, IB6 e IB7 não diferiram estatisticamente do controle. Quando analisamos os isolados que receberam a combinação das demais bactérias temos que o IB3, foi melhor que os IB4, IB5, IB6 e IB7 para a promoção de crescimento de mudas micropropagadas de bananeira, mas sem diferença significativa quando comparado ao controle. No entanto ao compararmos os tratamentos entre si obtemos que o isolado IB4 proporcionou o melhor resultado quando aplicado isolado do que quando adicionado à combinação de bactérias (Tabela 5).

TABELA 5 - Índice de crescimento de mudas de bananeira da variedade maçã micropropagadas utilizando bactérias isoladamente ou em combinações, em casa de vegetação.

TRATAMENTO	ÍNDICE DE CRESCIMENTO (IC)	
	SEM CB*	COM CB**
CONTROLE	700.00 Aa	700.00 Aa
IB3	555.76 Ba	792.32 Aa
IB4	686.87 Aa	523.56 Ba
IB5	735.33 Ba	670.82 Ba
IB6	706.49 Ba	575.99 Ba
IB7	740.80 Ba	668.79 Ba

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente, pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade. As letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas representam as comparações entre isolados e combinações, respectivamente.

*Bactérias aplicadas isoladamente.

**Bactérias aplicadas isoladamente adicionadas da combinação das outras bactérias (CB).

DISCUSSÃO

Estudos têm sido realizados devido à preocupação da sociedade com o impacto da agricultura no ambiente e a contaminação da cadeia alimentar com pesticidas e vem alterando o cenário agrícola, demandando novas tecnologias, dentre as quais se insere a agricultura sustentável.

A micropropagação, tem se apresentado como uma ferramenta útil para o melhoramento genético desta cultura através de propagação de clones que apresentem melhores características agrônomicas, 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 micro-organismos patogênicos que possam reduzir a produtividade da cultura.

Porém existe a desvantagem da ausência da microbiota benéfica que possa atuar no crescimento das mudas e protegê-las de possíveis patógenos quando no campo. A re-introdução de certos micro-organismos via tratamento de explantes pode promover o crescimento das futuras plântulas e protegê-las contra doenças.

Considerando-se a importância da cultura da bananeira para o território brasileiro, a expansão dos cultivos para regiões não tradicionais, e o emprego crescente pelos produtores de mudas micropropagadas, fazem-se necessárias investigações neste campo.

Assim, no presente estudo foram utilizados 12 isolados bacterianos produtores de ácido indolacético para a avaliação da promoção de crescimento de mudas de bananeira da variedade maçã, por meio da técnica de cultura *in vitro* envolvendo a microbiolização de explantes. De acordo com Oliveira (2011) é importante a utilização das diferentes estratégias de cultivo, pois aumenta o seu significado para a propagação da bananeira *in vitro*, além de evitar prejuízos econômicos e o desenvolvimento de matérias fora do padrão.

No ensaio para indução de enraizamento com diferentes dosagens do ácido naftalenoacético (ANA) que variaram de 0 a 75%, sendo que a dosagem de 25 % foi

quem apresentou maior número de explantes enraizados. Como os isolados de bactérias endofíticas e rizosféricas utilizados são produtores de ácido indolacético (AIA) que, assim como o ANA é uma auxina regulador vegetal de crescimento, nos levou a deduzir que no meio com 0% apenas com sua produção de AIA foi pouco pra ter efeito de enraizamento, enquanto que no meio com 25% de ANA foi suficiente para houvesse o enraizamento dos explantes e à medida que aumentou a dose do ANA tanto para 50% quanto para 75 % houve diminuição do enraizamento.

Domingues et al. (1995) verificou que, à medida que aumentaram as concentrações do IBA e ANA no meio de cultura, houve uma tendência à diminuição do comprimento de raízes de banana maçã cultivadas *in vitro*. Barbosa et al. (2009) mostraram que 86,7 % das bactérias estudadas foram capazes de produzir AIA, podendo estas contribuir para o crescimento e sanidade vegetal.

No trabalho realizado por Baldotto et al. (2010) em busca de reduzir o tempo de aclimação tratando mudas de abacaxi propagadas *in vitro* com bactérias endofíticas produtoras de AIA, observou que estes micro-organismos foram capazes de promover o crescimento das mudas além de favorecer a adaptação em campo.

Para Oliveira (2011) a utilização de meio $\frac{1}{2}$ MS foi eficaz no enraizamento dos brotos, e confirmam com os resultados relatados por Braga et al. (2001), uma vez que os explantes com boa formação de raízes na fase de enraizamento apresentaram aumento o seu tamanho na fase de multiplicação. Isto era esperado, pois uma vez enraizados, os explantes têm maior eficiência na absorção dos nutrientes. Até mesmo, Souza e Gonçalves (1996) aconselharam que o melhor ajustamento dos nutrientes beneficiasse a rizogênese das plantas. Ainda que em alguns trabalhos, como os de Paz (2009); Silva et al. (2004), na presença de níveis muito reduzidos de auxina, ou, simplesmente, em meio básico sem hormônio há enraizamento.

Na fase de avaliação para analisar a melhor concentração de isolados para a microbiolização das mudas de bananeiras da variedade Maçã, as concentrações utilizadas não foram tão satisfatórias, pois apenas os isolados IB5 e o IB6 promoveram algum enraizamento dos explantes nas concentrações de 10^8 , 10^6 e 10^7 nas dosagens do ácido naftalenoacético de 25, 75 e 50%. No entanto, estudos recentes como de

Mafia et al. (2009) e Luz (2001) relatam resultados positivos para promoção de enraizamento nestas concentrações.

Gagné et al. (1993) introduziu rizobactérias (10^8 ufc / mL) em substrato à base de turfa (75 mL de inóculo / L de substrato) ratificou a manutenção da viabilidade de células usadas no tratamento e o sucesso na colonização do sistema radicular sob condições normais de produção.

Assim, as concentrações das auxinas microbianas podem inibir o crescimento das plantas e, entretanto o quantitativo do inóculo também influencia a promoção do crescimento, sendo um fator crítico no enraizamento. Com a utilização individual dos isolados produtores de auxinas, foi possível observar uma maior mortalidade, esse alto índice aconteceu provavelmente pelo não conhecimento da quantidade produzida de auxinas por cada isolado, além da produção de metabólitos tóxicos pelas plântulas. Ramos (2011) ainda ressalta que os explantes em período de enraizamento, são mais sensíveis a qualquer modificação que o meio sofrer.

Desta forma, as informações obtidas podem nos indicar que existem concentrações ótimas a serem usadas em cada tipo de isolado, favorecendo o desenvolvimento dos explantes.

No ensaio onde a indução do enraizamento de mudas micropropagadas de bananeira foi avaliada utilizando dosagem de 25% do ácido naftalenoacético, concentração do isolado a 10^9 , variando o tempo de microbiolização em 1 minuto, 3 minutos e 5 minutos, obteve-se o tempo de 1 minuto é suficiente para a microbiolização dos explantes. Em estudos recentes, como de Ramos (2011), Araújo et al. (2012) foram utilizados o tempo de 5 minutos para a microbiolização dos explantes, entretanto, este estudo mostra que a utilização de ANA a 25% com variação de tempo foi necessária apenas 1 minuto para que ocorra a microbiolização.

Peixoto et al. (2010) avaliando bactérias diazotróficas endofíticas de raízes de bananeiras juntamente com fungos micorrízicos no controle da fusariose em mudas da variedade Maçã, utilizou o tempo de 20 minutos na microbiolização de explantes.

Ao testar a compatibilidade entre os isolados vimos que só não era possível combinar os isolados (IB4) e (IB6), isto demonstra que um isolado bacteriano produz substâncias que possa inibir o crescimento da outra bactéria, mas ainda assim

dispomos das combinações dos demais isolados. Segundo o estudo feito por Moreira e Sequeira (2006) as densidades e as atividades das populações microbianas rizosféricas são determinadas pelas interações biológicas e Assumpção et al. (2009) reporta que a utilização de bactérias endofíticas combinada pode simular um excelente mecanismo de melhorar a ação sinérgica dos isolados.

No teste *in vitro* avaliando a aplicação combinada de rizobactérias e bactérias endofíticas houve morte de todos os explantes tanto na combinação 1 (IB3 + IB4 + IB5 + IB7) quanto na combinação 2 (IB3 + IB5 + IB6 + IB7). Isso pode ter acontecido devido ao fato de que quando combinadas, as bactérias tenham produzido alta quantidade de regulador de crescimento vegetal. O ácido indolacético, somado ao ácido naftalenoacético que já continha no meio de cultura, excedeu o nível suportado pelos explantes, levando-os a morte.

Segundo Paz (2009) uma concentração excessiva ou reduzida de fitohormônios produzidos pelas bactérias podem prejudicar na diferenciação radicular, causando a morte da planta e complementando essa afirmação. Patten e Glick (1996) dizem que uma situação crítica no enraizamento é a concentração e quantidade do AIA microbiano produzido que chega a inibir o crescimento da planta influenciando assim na promoção do crescimento.

De acordo com Enebak et.al. (1998) esse acontecimento é comum quando se trabalha com bactérias para a promoção de crescimento. Patten e Glick, (2002) relatam que ao realizar a introdução de bactérias em mudas, muitas células transformam-se em patogênicas ou saprofíticas, bloqueando o desenvolvimento da planta. Mesmo que seja relatado mais resultados benéficos sobre bactérias promotoras de crescimento, existem trabalhos que falam sobre o efeito deletério dessas bactérias como o estudo realizado por Santos et.al. 2005 avaliando diferentes espécies de bactérias endofíticas e epifíticas sobre o desenvolvimento de helicônias (*Heliconia psittacorum* L.f.).

Ao avaliarmos a promoção de crescimento de mudas de bananeira micropropagadas da variedade maçã microbiolizadas com os isolados IB3, IB4, IB5, IB6 e IB7 aplicados isoladamente ou combinados entre si *in vivo*, vimos que os resultados obtidos *in vitro* não se correlacionaram totalmente com os observados *in*

vitro. Observou-se que houve interação positiva entre as bactérias e as mudas não ocorrendo morte das mesmas.

As maiores médias obtidas no índice de crescimento (avaliação das variáveis altura, massa fresca e seca da parte aérea e radicular, crescimento radicular total e crescimento de maior volume de raiz) foram com IB3, adicionado da combinação das demais bactérias, IB3 + CB (IB4+ IB5 + IB6 + IB7). 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.

Esta ocorrência positiva verificada neste ensaio pode ser devido à pequena quantidade de AIA disponibilizado para a muda, pois, mesmo que pequena a contínua liberação de AIA pode aumentar a rizogênese. Além disso, as bactérias favorecem seu próprio estabelecimento na rizosfera, estimulando o crescimento da planta e como consequência provocam aumento da quantidade de exsudatos e da área de exsudação disponíveis ao microrganismo (TEIXEIRA et al. 2007).

Resultados semelhantes foram relatados por Assumpção et al. (2009) trabalhando com soja, Silveira et al. (2004) pepino e Gomes et al. (2003) evidenciaram a atuação de bactérias endofíticas *Bacillus* sp. produtoras de AIA no aumento significativo do peso fresco e seco das plântulas em casa vegetação.

De acordo com Dantas et al. (2009) a eficácia *in vivo* destas combinações ocorreu pela possível capacidade destes micro-organismos em sobreviver em equilíbrio dinâmico na natureza, uma vez que o grupo de microbiota na rizosfera é concebida por populações diversificadas e numerosas em estado de equilíbrio dinâmico, refletindo o ambiente físico, químico, biológico e suas relações.

Weber et al. (2000), num experimento pioneiro, selecionaram e avaliaram a influência das bactérias diazotróficas no crescimento de mudas micropropagadas de mudas de bananeira cv. “Prata Anã” e cv. “Caipira”. Foi constatando que a bactéria diazotrófica *Herbaspirillum* sp. proporcionou melhor crescimento em “Prata Anã”, enquanto a “Caipira” respondeu melhor quando tratadas com a bactéria *Burkholderia* sp. Entretanto a cv. “Caipira” apresentou maior crescimento quando tratadas

simultaneamente com as duas espécies de bactérias, em comparação com a inoculação individual.

Albuquerque et al. (2003) em seus experimentos constataram 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. Demonstrou também 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.

De acordo Araujo e Guerreiro (2010) a interação da bactéria endófitica IB3 + CB (combinação das outras bactérias) e da rizobactéria IB4 com as mudas na fase de aclimação se mostrou positiva promovendo crescimento, demonstrando que plantas cultivadas na presença de microrganismos benéficos trazem um melhor desenvolvimento do vegetal, ratificando que a produção de substâncias reguladoras por microrganismos promovem estímulo ao crescimento vegetal.

Os baixos índices de crescimento verificados nas mudas em presença dos microrganismos nos demais tratamentos, provavelmente ocorreram influenciados pela quantidade e composição dos exsudatos liberados pela planta, interferindo na ação destes isolados. A disponibilização de tais compostos em quantidade e qualidade variada ocasiona a seleção de grupos funcionais específicos (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho foi possível confirmar o potencial de bactérias associadas ao sistema radicular de bananeira para a promoção de crescimento aplicados isolados ou associados. Foram selecionados cinco isolados (IB3, IB4, IB5, IB6 e IB7) três rizobactérias e duas bactérias endofíticas eficientes na indução de enraizamento em meio de cultura com 25% de ANA, quando aplicados isoladamente, sendo que dois desses isolados (IB3 e IB4) uma bactéria endofítica e a outra rizobactéria mostraram resultados significativos para a promoção de crescimento em mudas micropropagadas de bananeira na fase de aclimação quando aplicadas isoladas ou associadas. Isto sugere que o uso dos micro-organismos promotores do crescimento de plantas deve se feito com cautela, considerando a relação custo/benefício da aplicação.

Embora ocorrido essas evidências, é conveniente realizar, ainda, estudos objetivando a compreensão da ecofisiologia destes microrganismos na rizosfera das plantas cultivadas no campo e os seus resultados na produtividade agrícola.

Uma vez que ao menos na fase de aclimação o ambiente de cultivo beneficiou o desenvolvimento das mudas, fazem-se necessárias mais pesquisas para ratificar a eficiência da introdução dessas bactérias benéficas, atuando na sobrevivência das plantas e na promoção dos parâmetros de crescimentos das mudas. Devido às mudas micropropagadas serem produzidas 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 a um maior período de avaliação e sobre a metodologia da futura aplicação desses microrganismos com comprovada eficiência para disponibilização destas mudas as diversas regiões produtoras de banana com baixo custo.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, V. V., TERAQ, D., MARIANO, R. L. R. Growth-promotion and biocontrol of Fusarium wilt in micropropagated plantlets of *Musa* sp. **Anais, 6 International PGPR Workshop**, Kerala. p. 3-7, 2003.

ALMEIDA, R. A. S.; POSCH, L. S.; PEREIRA, C. A.; GODINHO, L. F. C.; OLIVEIRA & KLIEMANN, H. J. 2005. Tratamento de esgoto com plantas: sistema zona de raízes. p. 115-134. In Prêmio CREA-Goiás de Meio Ambiente 2004: compêndio dos trabalhos premiados. **Conselho Regional de Engenharia Arquitetura e Agronomia do estado de Goiás**, Goiânia. P. 24, 2005.

ANTOUN, H. BEAUCHAMP, C. J.; GOUSSARD, N.; CHABOT, R. & LALANDE, R. Potential of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* species as plant growth promoting rhizobacteria on no-legumes: Effect on radishes (*Raphanus sativus* L.). **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 204, n.1, p. 57-67, 1998.

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.

ARAÚJO, K. S.; SILVA, H. S. A.; PEIXOTO, C. C.; TRINDADE, A. V. Rizobactérias no biocontrole de *Radopholus similis* e na promoção de crescimento da bananeira. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 35, 2012, Jaguariúna. Anais. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 38, 2012.

ARSHAD, M. & FRANKENBERGER, W. T. Microbiol production of plant hormones. In: KEISTER, D. L.; CREGAN, P. B. (Eds.). The rhizosphere and plant growth. Dordrecht: **Kluwer Academic**, p. 327-334, 1991.

ARSHAD, M.; FRANKENBERGER, W. T. Plant growth-regulating substances in the rhizosphere: microbial production and functions. **Advances in Agronomy**, v.62, p.45-151, 1998.

ASGHAR, H. N. ZAHIR Z. A, ARSHAD, M., KHALIQ, A. Relationship in vitro production of auxins by rhizobacteria and their growth-promoting activities in Brassica juncea L. **Biology and Fertility of Soils**, Berlim, v 35, p. 231-237, 2002.

ASSUMPÇÃO, L. C. **Diversidade da comunidade bacteriana endofítica de sementes de soja e o seu potencial biotecnológico**. 2008. 93 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, 2008.

ASSUMPÇÃO, L. C., Lacava, P. T., Dias, A. C. F., Azevedo, J. L. de., Menten, J. O. M. Diversidade e potencial biotecnológico da comunidade bacteriana endofítica de sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, p. 503, 2009.

AZEVEDO, J. L.; ARAÚJO, W. L.; MACHERONI, Jr. W. Importância dos microrganismos endofíticos no controle de insetos. In: MELO. I. S.; AZEVEDO, J. L. (Ed) Controle Biológico. Jaguariúna: **EMBRAPA- Meio Ambiente** p. 57-93. 2000.

BALDOTTO, L. E. B.; BALDOTTO, M. A.; OLIVARES, F. L.; VIANA, A. P.; BRESSAN-SMITH, R. Seleção de bactérias promotoras de crescimento no abacaxizeiro cultivar Vitória durante a aclimatização. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 34, n. 2, p. 349-360, 2010.

BARBOSA, M. V.; FREIRE, F. J.; KUKLINSKY-SOBRAL, J.; OLIVEIRA, M. Seleção de bactérias produtoras de auxina associadas à cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, p. 12-13, 2009

BARKA, E. A.; BELARBI, A.; HACHET, C.; NOWAK, J. & AUDRAN, J. C. Enhancement of in vitro growth and resistance to gray mould of Vitis vinifera co-cultures with plant growth-promoting rhizobacteria. **FEMS Microbiol. Letters**, 186:91-95, 2000.

BARRETTI, P. B.; SOUZA, R. M.; POZZA, E. A. Bactérias endofíticas como agentes promotores do crescimento de plantas de tomateiro e de inibição *in vitro* de *Ralstonia solanacearum*. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 731-739, 2008.

BARRETTI, P. B.; SOUZA, R. M.; POZZA, A. A. A.; POZZA, E. A.; CARVALHO, J. G.; SOUZA, J. T. Aumento da eficiência nutricional de tomateiros inoculados com bactérias endofíticas promotoras de crescimento. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, n. 4, p. 1541-1548, 2008.

BARRETTI, P. B., ROMEIRO, R. DA S., MIZUBUTI, E. S. G., SOUZA, J. T. de. Seleção de bactérias endofíticas de tomateiro como potenciais agentes de biocontrole e de promoção de crescimento. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, edição especial, p. 2038-2044, 2009

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G. Proposal for the division of plant growth promoting rhizobacteria into two classifications: biocontrol-PGPB (plant growth promoting bacteria) and PGPB. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 30:8/9, 1225-1228, 1998.

BRAGA, M. F.; SÁ, M. E. L.; MUSTAFÁ, P. C. Avaliação de um protocolo para multiplicação in vitro da bananeira (*Musa sp.*) cv. Caipira (AAA). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 2, p. 215-219, 2001.

BENT, E.; CHANWAY, C. P. The growth-promoting effects of a bacterial endophyte on lodge pole pine are partially inhibited by the presence of other rhizobacteria. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 44, p. 980-988, 1998.

BODDEY, R. M.; DOBEREINER, J. Nitrogen fixation associated with grasses and cereals: recent results and perspectives for the future research. **Fertilizers Research**, v. 42, p. 241-250, 1995.

BORGES, A. L.; SOUZA, L. da S. Exigências edafoclimáticas In: BORGES, A. L.; SOUZA, L. da S. (Ed.). O cultivo da bananeira. Cruz das Almas: **Embrapa Mandioca e Fruticultura**, p. 132-145, 2004.

BORGES, A. L.; SOUZA, L. S. **O cultivo da banana**. Cruz das Almas. **Embrapa Mandioca e Fruticultura**, p. 279. 2004.

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**). 2010. 59 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas.2010.

CASTRO, A. C. R. de. Aspectos práticos da micropropagação de plantas – Cruz das Almas: **Embrapa Mandioca e Fruticultura tropical**, p. 385, 2009.

CHANWAY, C. P. Inoculation of tree roots with plant growth promoting soil bacteria: an emerging technology for reforestation. **Forest Science**, Bethesda, v. 43, p. 99-112, 1997.

CHANWAY, C. P.; SHISHIDO, M.; NAIRN, J.; JUNGWIRTH, S.; MARKHAM, J.; XIAO, G. & HOLL; F. G. Endophytic colonization and field responses of hybrid spruce seedlings after inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria. For. **Ecology Manag.**, 133:81-88, 2000.

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. GUPTA, V. K. (Ed.). Management of soil born diseases. Ludhiana: **Kalyani Publishers**, p.165-184, 1996.

CHEN, C.; BÉLANGER, R. R.; BENHAMOU, N. & PAULITZ, T. C. Defense enzymes induced in cucumber roots by treatment with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and *Pythium aphanidermatum* Physiol. **Molecular Plant Pathology**, 56:13-23, 2000.

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

COMPANT, S., DUFF, B., NOWAK, J., CLÉMENT, C., BARKA, E. A. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future perspectives. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 71, n. 9, p. 4951-4959, 2005.

CORDEIRO, Z. J. M., MESQUITA, A. L. M. Manejo integrado das pragas, doenças e plantas daninhas. IN: CORDEIRO, Zilton José Maciel (org). Banana **Fitossanidade**. **Brasília**. Embrapa.2000.p.15-20.

COSTA, J. N. M., NASCENTE, A. S., COSTA, R. S. C. da. Cultivo da Banana em Rondônia Sistemas de Produção, 2. **Embrapa Roraima**. 2005.

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.

DEBIASI, C.; ZAFFARI, G. R.; GUERRA, M. P. Efeito da radiação fotossintética ativa no desenvolvimento inicial de bananeira *in vitro*. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 9, n. 2, p.175-176, 2002.

DEWIR, Y. H.; CHAKRABARTY, D.; HAHN, E. J.; AND PAEK, K. Y. 2005. Reversion of inflorescence development in *Euphorbia milii* and its application to large-scale micropropagation in an air-lift bioreactor. *J. Hort. Science Biotechnol.* 80:581–587.

DI FIORE, S.; DEL GALLO, M. Endophytic bacteria: their possible role in the host plants. In: FENDRIK, I.; DEL GALLO, M.; VANDERLEYDEN, J.; DE ZAMAROCZY, M. *Azospirillum* VI and related microorganisms. Berlin: **Springer-Verlag**, p.169-187, 1995.

DOMINGUES, E. T.; TULMANN NETO, A.; MENDES, B. M. J. Cultura de ápices caulinares de Musa sp. Var. Maçã: estabelecimento, micropropagação e enraizamento *in vitro*. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.52, n.2, p.387-394, 1995.

DONATO, V. M. T.; ANDRADE, A. G.; TAKAKI, G. M. C.; MARIANO, R. L. R.; MACIEL, G. A. Plantas de cana-de-açúcar cultivadas *in vitro* com antibióticos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 1, p. 134-141, 2005.

EL-KHAWAS, H.; ADACHI, K. Identification and quantification of auxins in culture media of *Azospirillum* and *Klebsiela* and their effect on rice roots. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v.28, p. 377-381, 1999.

ENEBAK, S. A.; WEI, G.; KLOPPER, J. W. Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on loblolly and slash pine seedling. **Forest Science**, v.44, n.1, p.139-144, 1998.

ESPOSITO-POLESI, N. P. Microrganismos endofíticos e a cultura de tecidos vegetais: quebrando paradigmas. **Revista brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 9, n. 4, p. 533-541, out./dez. 2011.

FAO. Food and Agriculture Organization of United Nations. Disponível em: <http://faostat.fao.org>. Acesso em: 05 Abr. 2011

FARIA N. G. **Absorção de nutrientes por variedades e híbridos promissores de bananeira**. 1997. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Bahia, Salvador, p. 66, 1997.

FLORES, P. S. **Propagação *in vitro* e *in vivo* de *Hippeastrum aulicum* (Ker-Gawler) Herb. (Amaryllidaceae)**. 2003. 154 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais)- Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

FREITAS, S. S. & PIZZINATTO, M. A. Interações de *Pseudomonas* sp. e *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* na rizosfera de tomateiro (*Lycopersicon esculentum*). **Summa Phytopathol.**, 17:105-112, 1991.

FREITAS, S. S. Desenvolvimento de plântulas de café pela inoculação de *Pseudomonas* sp. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 13:31-34, 1989.

FREITAS, J. R de e GERMIDE, J. J. Growth promotion of winter wheat by *fluorescent pseudomonas* under growth chamber conditions. **Soil Biology and biochemistry** v.24:11, 1127-1135, 1992.

FREITAS, S. S.; MELLO, A. M. T. e DONZELI, V. P. Promoção do crescimento de alface por rizobactérias. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 27:61-70, 2003.

GAGNÉ, S., DEHBI, L., QUÉRÉ, D. L., CAYER, F., MORIN, J. L., LEMAY, R., FOURNIER, N. Increase of greenhouse tomato fruit yields by plant growth-promoting

rhizobacteria (PGPR) inoculated into the peatbased growing media. **Soil Biology and Biochemistry**, v.25, p.269-272, 1993.

GANEM, S. T. de S. **Bactérias endofíticas em explantes e micropropagação de bananeira tetraplóides**. 94f. 2008. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal no Semi-Árido)- Universidade Estadual de Montes Claros, Unimontes, 2008.

GOMES, A. M. A. **Cultura da alface: produção de mudas utilizando *Bacillus* spp., escala diagramática para cercosporiose e levantamento da doença em Pernambuco**. 90 p. Tese Doutorado em Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 2003.

GOMES, R.P. **Fruticultura Brasileira**. 13 ed. São Paulo: Nobel, 2007.

GROUT, B. W. W. Photosynthesis of regenerated plantlets *in vitro* and the stresses of transplanting. **Acta Horticulturae**, heuven, n. 239, p. 126-134, 1998.

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

HAISSIG, B. E. Meristematic activity during adventitious root primordium development: influences of endogenous auxin and applied gibberellic acid. **Plant Physiology**, 49: 886–892, 1972.

HÖFLICH, M.; BOELEN, J.; VERSTRAETE, W. Seed protection and promotion of seedling emergence by the plant growth beneficial *Pseudomonas* strains 7NSK2 and ANPIS. **Soil Biology and Biochemistry**, v.23.n. 5, p.407-410, 1992.

HORQUINI, A. Meios de cultura. 2009. Disponível. em:<http://microbiologiabrasil.blogspot.com.br/2009/01/meios-de-cultura.htm>. |Acesso em: 05 dez. 2011.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. Disponível em: <www.sidra.ibge.gov.br/bda> Acesso em: 05 Mar. 2011.

KLOEPPER, J. W., RYU, C. M., ZHANG, S. (2004). Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. **Phytopathology**, 94:1259-1266. 2004.

KRISHNAMURTHY, K., GNANAMANICKAM, S. S. Biological control of sheath blight of rice: induction of systemic resistance in rice by plant-associated *Pseudomonas* spp. **Current Science**., 72: 331–334, 1997.

LEMOS, E. E. P.; FERREIRA, M. S.; ALENCAR, L. M. C.; OLIVEIRA, J. G. L.; MAGALHÃES, V. S. Micropropagação de clones de banana cv.terra em Biorreator de Imersão Temporária. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 3, p. 482-487, 2001.

LEONEL, S.; GOMES, E. M.; PEDROSO, C. J. Desempenho agrônômico de bananeiras micropropagadas em Botucatu-SP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 2, p. 245-248, 2004.

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, Z.; PILLAY, V.; NOWARK, J.; ZHY-DE WEI. *In vitro* culture of watermelon and cantaloupe with and without beneficial bacterium. **Acta Horticulturae**, v. 402, p. 58-60, 1995.

LODEWYCKX, C., VANGRONSVELD, J.; PORTEOUS, F.; MOORE, E. R. B. . Entophytic bacteria and their potential applications. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.21, p.583-606, 2002.

LONDE, L. N. SOUZA, C. R. S.; VIEIRA, C. U.; BONETTI, A. M.; KERR, W. E. Efeito do benomyl e identificação de fitopatógenos em meio MS para controle da contaminação na micropropagação de *Anacardium humile* (Anacardiaceae). **Bioscience Journal**, v. 23, n. 3, p. 94-100, 2007.

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

LUZ, J. S.; SILVA, R. L. O.; SILVEIRA, E. B.; CAVALCANTE, U. M. T. Atividade enzimática de fungos endofíticos e efeito na promoção do crescimento de mudas de maracujazeiro-amarelo. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 19, n. 2, p. 128-134, 2006.

MACÊDO, C. E. C. Concentrações de ANA e BAP na micropropagação de abacaxizeiro L. Merrill (*Ananas comosus*) e no cultivo hidropônico das plântulas obtidas *in vitro*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n.3, p.501-504, 2003.

MAFIA, R. G.; ALFENAS, A. C.; MAFFIA, L. A.; FERREIRA, E. M.; SIQUEIRA, L. Efeitos de rizobactérias sobre o enraizamento e crescimento de clones de eucalipto em diferentes condições de propagação clonal. **Revista Árvores**, Viçosa, v. 3, n. 5, p. 813-821, 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.

MENDES, R.; AZEVEDO, J. L. Valor biotecnológico de fungos endofíticos isolados de plantas de interesses econômicos. In COSTA-MAIA, L.; YANO-MELO, A. M. (Org.). **Micologia no conhecimento**. Recife: UFPE: p. 126-140, 2007.

MERCIER, H.; Auxinas. In: KERBAUY, G. B. Fisiologia Vegetal. São Paulo: Editora **Guanabara Koogan** S.A. p. 217-249, 2004.

MICHEREFF, S. J.; BARROS, R. Proteção de plantas na agricultura sustentável. Recife: UFRPE, **Imprensa Universitária**, 368 p, 2001.

MOREIRA, R. S. Banana – Teoria e Prática de cultivo. 2 ed.CD n. 222. **Fundação Cargill**. 1999.

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

MUCCIARELLI, M.; SCANNERINI, S.; BERTEA, C. & MAFFEI, M. 2003. *In vitro* and *in vivo* peppermint (*Mentha piperita*) growth promotion by nonmycorrhizal fungal colonization. **New Phytologist** 158: p. 579-591, 2003.

NELSON, S. C., PLOETZ, R. C. AND KEPLER, A. K. Species profiles for Pacific island agroforestry: Musa species (banana and plantain). Musaceae (banana family). 2006. <http://www.agroforestry.net/tti/Musa-banana-plantain>.

OLIVEIRA, R. P.; SILVEIRA, D. G.; SILVA, S. O. 2001. BAP concentration and tetraploid banana micropropagation efficiency (AAB group) **Scientia Agrícola**, 58: 73-78 (in Portuguese, with abstract in English). 2001.

OLIVEIRA, J. **Produção de mudas in vitro e ocorrência de microrganismos endofíticos em bananeiras da Amazônia Sul - Ocidental**. 2009. 122 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Produção Vegetal) – Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal do Acre. Rio Branco. 2009.

OLIVEIRA, H. **Comportamento de cultivares de bananeira (Musa spp.) resistentes a doença no processo de micropropagação**. 2010. 79 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal Rural da Amazônia. Belém. 2010.

OLIVEIRA, H.; LEMOS, O. F. de.; MIRANDA, V. S.; MOURA, H. C. da P.; CAMPELO, M. F., Santos, L. R. R. dos. Estabelecimento e multiplicação in vitro de brotos no processo de micropropagação de cultivares de bananeiras (*Musa* spp.). **Revista Acta Amazônica**, v. 41, n. 3, 2011.

PAN, B.; BAI, Y. M.; LEIBOVITCH, S.; SMITH, D. L. Plant-growth promoting rhizobacteria and kinetin as ways to promote corn growth and yield in a short –growing –season area. **European Journal of Agronomy**, v. 11: 179-186, 1999.

PATTEN, C. L.; GLICK, B. R. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. **Canadian Journal of Microbiology**, v.42,p.207-220, 1996.

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.

PAZ, I. C. P. **Bactérias endofíticas de eucálipito e potencial uso no controle de doenças e promoção de crescimento de mudas em viveiros florestais**. 112p. Tese Doutorado em Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2009.

PEIXOTO NETO, P. A. de S.; AZEVEDO, J. L.; ARAÚJO, W. L. de. Microrganismos endofíticos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v.29, p.62-77, 2002.

PEREIRA, G. A.; RIBEIRO, B. V.; MARCÍLIO, H. C.; SANTAELLA, M. B. Desinfestação e estabelecimento in vitro de explantes de bananeira 'IAC 2001' em diferentes concentrações de hipoclorito de sódio. **Tecnologia e Ciência**. Agropecuária, João Pessoa, v. 3, n. 2, p. 43-46, 2009.

PEREIRA, G. A.; BOBROFF, R. L.; LENZA, J. B.; CORREA, L. S. Diferentes concentrações de agrimicina no controle de contaminações de explantes de bananeira na micropropagação. **Cultura Agronomica**, Ilha Solteira, v. 19, p. 71-76, 2010.

PEREIRA, G. A.; CORREA, L. S.; BOLIANI, A. C. Desinfestação e estabelecimento in vitro de explantes de bananeira 'Grande naine' em diferentes concentrações de hipoclorito de sódio. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, volume especial, p. 222-226, 2011.

PEREIRA, G. A. **Protocolo para micropropagação de bananeira 'Thap maeo'**.2012. 121 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, 2012.

PILLAY, V. J.; NOWAK, J. Inoculum density, temperature, and genotype effects on in vitro growth promotion and epiphytic and endophytic colonization of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) seedlings inoculated with a pseudomonad bacterium. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 43, p. 354-361, 1997.

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

RODRÍGUEZ, H. & FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnol. Adv.**, 17:319-339, 1999.

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

SANTOS, C. C.; RODRIGUES, P. H. V. Variação somaclonal em mudas micropropagadas de bananeira, cultivar pacovan. **Bragantia**, Campinas, v. 63, n. 2, p. 201-205, 2004.

SANTOS, M. H. L. C.; MARIANO, R. L. R; CAMARA, T. R; ANDRADE, A. G; WILLADINO, L; LIMA, G. P. P. Bactérias promotoras de crescimento no desenvolvimento de *Heliconia psittacorum* L.f. **Hoehnea**, v. 32,p. 1-8, 2005.

SANTOS, E. O. de.; FERRAZ, Z. M. de L. O bom desempenho da fruticultura baiana, Agrossínese. **Bahia Agrícola**. v.7, n.2, abr. 2006.

SANTOS, T. T.; VARAVALLO, M. A. Aplicação de microrganismos endofíticos na agricultura e na produção de substâncias de interesse econômico. **Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 32, n. 2, p. 199-212, jul./dez. 2011.

SCOT, N. C.; PLOETZ, R. C. and KEPLER, A. K. Musa species (banana and plantain). **Species Profiles for Pacific Island Agroforestry.** 2006. www.traditionaltree.org.

SHISHIDO, M.; CHANWAY, C. P. Spruce growth response specificity after treatment with plant growth promoting *Pseudomonas*. **Canadian Journal of Botany**, v.77, n.1, p.22-31, 1999.

SILVA, A. B. da.; PASQUAL, M.; MACIEL, A. de R.; MOREIRA, M. A.; DUTRA, L. F. Influência da benzilaminopurina e do benomyl na proliferação *in vitro* de abacaxizeiro. **Ciência Agrotecnica**, Lavras, v. 6, p. 1190-1196, 2002.

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, 2004 a.

SILVA, J. R. C. **Bactérias endofíticas no controle da mancha *Xanthomonas vesicatoria* e a da pinta preta do tomateiro**. 160 p. Dissertação Mestrado em Fitopatologia Universidade Federal de Lavras: Lavras, 2004.

SILVA, M. C. A. **Análise técnica e econômica da cultura da bananeira “Maçã” (*Musa spp.*) na região noroeste do Estado de São Paulo**. 2004. (Dissertação de Mestrado em Agronomia/Sistemas de Produção). 73p Ilha Solteira-SP: UNESP. 2004.

SILVA NETO, S. P. da. Propagação por biotecnologia. In: RUGGIEIRO, C. (Coord.). **Bananicultura**. Jaboticabal: FUNEP, 2001. p.128-149.

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

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

SINGH, H. P.; SELVARAJAN, S. U. R. and KARIHALOO, J. L. Micropropagation for Production of Quality Banana Planting Material in Asia- Pacific. **Asia-Pacific Consortium on Agricultural Biotechnology (APCoAB)**, New Delhi, India. p. 92, 2011.

SMITH, M. K. A review of factors influencing the genetic stability of micropropagated bananas. **Fruits**, Paris, v. 43, n. 4, p. 219-223, 1988.

SMITH, L. J.; SMITH, M. K.; HAMILL, S. D.; HUNTER, M. N.; PEGG, K. G.; GALEA, V. J. Towards improving resistance of micropropagated bananas to *Fusarium* wilt using bacteria and bacteria and mycorrhizae. I. Bioassay development. In: MOLINA, A. B.; NIK MASDEK, N. H.; LIEW, K. W. **Banana *Fusarium* wilt management: towards sustainable cultivation**. Malásia: **Inibap**, p.224-233, 1999.

SOTO BALLESTERO, M. Bananos: cultivo y comercialización. 2. ed. San José, Costa Rica: **Litografia e Imprenta Lil**, p. 674, 1992.

SOUSA, C. S.; SOARES, A. C. F.; GARRIDO, M. S. Produção de mudas de tomateiro em substrato orgânico inoculado e incubado com estreptomicetos. **Bragantia**, Campinas, v. 68, n. 1, p. 195-203, 2009.

SOUZA, G. M.; GONÇALVES, A. N. Otimização de meio de cultura para bananeira (*Musa cavendishii* L.). **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.53, n.1, 1996.

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.

SOUZA, S. **Diversidade de bactérias endofíticas em bananeira 'Prata-Anã'**. 2011. 101 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal no Semiárido) – Universidade Estadual de Montes Claros. Janaúba, Minas Gerais. 2011.

STURTZ, A. V. The role of endophytic bacteria during seed piece decay and potato tuberization. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 175, p. 257-263, 1995.

STURZ, A. V.; MATHESON, B. G. Population of endophytia bacteria which influence host-resistance to *Erwinia* - Induced bacterial soft rot in potato tubers. **Plant and Soil**, v. 184, p. 265-271, 1996.

SUTTER, E. Stomatal and cuticular water loss from apple, cherry and Sweetgum plants after removal from in vitro culture. Journal of the American Society for. **Horticultural Science**, Geneva, v. 113, p. 234-238, 1988.

TEIXEIRA, L. A. J. Bananeira (*Musa spp*). In: MELETTI, L. M. M. (Coord.). Propagação de frutíferas tropicais. Guaíba: **Agropecuária**, p.105-124, 2000.

TEIXEIRA, M. A.; MELO, I. S.; VIEIRA, R. F.; COSTA, F. E. C.; HARAKAVA, R. Micro-organismos endofíticos de mandioca de áreas comerciais e etnovariedades em três estados brasileiros. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n.1, p.43-49, 2007.

TRINDADE, A. V.; LINS, G. M. de L.; MAIA, I. C. S. Substratos e fungo micorrízico arbuscular em mudas micropropagadas de bananeira na fase de aclimação. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.25, p.137-142, 2003.

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

VARMA, A.; VERMA, S.; SUDA, S. N.; BUTEHORN, B.; FRANKEN, P. Piriformospora indica, a cultivable plant-growth-promoting root endophyte. Applied and Environmental . **Microbiology**, v.65, p.2741-2744, 1999.

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.

WEBER, O. B., FREIRE, F. das C. O. **Contribuição de bactérias diazotróficas na cultura da bananeira: perspectivas de utilização na produção**

integrada.Jaguariúna, SP. (Embrapa Meio Ambiente. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento; n. 16), 29p, 2003.

WETZSTEIN, H. Y. & SOMMER, H. E. 1982. Leaf anatomy of tissue-cultured *Liquidambar styraciflua* (Hamamelidaceae) during acclimatization. **American Journal of Botany** **69**: p. 1579-1586, 1982.

WILLADINO, L., CAMARA, T. Cultura de Tecidos Vegetais. **Universidade Federal Rural de Pernambuco**. 2011. ufrpe.br/culttec.htm.