

Bacterização de sementes e desenvolvimento de mudas de pepino

Elineide B. Silveira¹; Andréa M.A. Gomes^{2*}; Rosa L.R. Mariano^{2**}; Edson B. Silva Neto³

¹Depto. Biologia; ²Depto. Agronomia; ³Estudante de Engenharia Agrônômica; UFRPE, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife-PE; E-mail: elineidebs@yahoo.com.br; *Bolsista do Projeto Nordeste, CAPES/FACEPE; **Bolsista do CNPq

RESUMO

Bactérias epifíticas e endofíticas foram isoladas de plantas de pepino sadias, coletadas em diversos municípios do estado de Pernambuco e avaliadas na promoção de crescimento de plântulas em casa de vegetação. Foram realizados três bioensaios. No primeiro, foram testados 93 isolados; no segundo, 32 isolados e; no terceiro, oito isolados de pepino e mais 10 isolados provenientes de outras culturas. As sementes de pepino foram bacterizadas por imersão na suspensão bacteriana ajustada à concentração de $A_{580} = 0,7$, semeadas em substrato orgânico contido em bandejas de isopor, mantidas em casa de vegetação e, analisadas dez dias após a semeadura quanto às matérias secas da parte aérea (MSPA), raiz (MSR) e total (MST). No último bioensaio, os isolados epifíticos PEP52, PEP8, PEP82, PEP91 e C22 foram selecionados por aumentarem significativamente a MSR e MST das plântulas em relação à testemunha, com valores superiores a 70 e 40%, respectivamente. Após o teste de compatibilidade *in vitro*, esses cinco isolados, testados separadamente e em misturas, aumentaram o índice de MSPA, MSR e MST das plântulas de pepino, sem diferirem significativamente entre si. Os isolados PEP81 (*Bacillus amyloliquefaciens*) e PEP91 (*Enterobacter cloacae*) destacaram-se com índices de aumentos de 55,5 e 39,5% (MSPA), 42,9 e 37,2% (MSR) e 41,6 e 34,0% (MST), respectivamente. A produção do ácido indol acético, ácido cianídrico, solubilização de fosfatos e alteração nos teores foliares de N, P, K, Ca e Mg, foram avaliados como possíveis mecanismos de ação desses dois isolados, porém com resultados negativos. A bacterização das sementes com *B. amyloliquefaciens* PEP81 e *E. cloacae* PEP91 pode melhorar a qualidade das mudas de pepino.

Palavras-chave: *Cucumis sativus*, *Enterobacter cloacae*, *Bacillus amyloliquefaciens*, rizobactéria, BPCP.

ABSTRACT

Bacterization of seeds and development of cucumber seedlings

Epiphytic and endophytic bacteria were isolated from healthy cucumber plants, collected in several counties of Pernambuco State, Brazil, and evaluated for seedling growth promotion under greenhouse conditions. Three bioassays were performed. In the first, 93 strains were tested; in the second, 32, and, in the third, eight from cucumber plus 10 bacterial epiphytic strains from other crops were used. The cucumber seeds were bacterized by immersion in the bacterial suspension adjusted to $A_{580} = 0.7$, sown in polystyrene trays filled with organic substrate and analyzed ten days after sowing in relation to shoot (MSPA), root (MSR), and total (MST) dry matter. In the third bioassay the epiphytes PEP52, PEP8, PEP82, PEP91, and C22 were selected because they significantly ($P=0.05$) elevated MSR and MST in relation to the control reaching higher values than 70 and 40%, respectively. After compatibility tests the five isolates applied separately and in mixtures efficiently increased the index of MSPA, MSR, and MST in cucumber seedlings, without differing among them. It is worth noticing that PEP81 (*Bacillus amyloliquefaciens*) and PEP91 (*Enterobacter cloacae*) increased 55.5 and 34.5% (MSPA), 42.9 and 37.2% (MSR), and 41.6 and 34.0% (MST), respectively. The production of indolacetic acid, hydrogen cyanide, phosphate solubilization and changes in foliar levels of N, P, K, Ca, and Mg were evaluated as putative mechanisms of action for these isolates, but they showed negative results. Seed bacterization with *B. amyloliquefaciens* PEP81 and *E. cloacae* PEP91 could improve quality of cucumber seedlings.

Keywords: *Cucumis sativus*, *Enterobacter cloacae*, *Bacillus amyloliquefaciens*, rhizobacteria, PGPR.

(Recebido para publicação em 8 de abril de 2003 e aceito em 27 de fevereiro de 2004)

Em Pernambuco, a cultura do pepino tem sido estabelecida tradicionalmente por semeadura direta. Porém, com a expansão da agricultura orgânica a produção de mudas em bandejas tem sido implantada, visando o estabelecimento de plantas com maior vigor. A produção de mudas de hortaliças é uma das etapas mais importantes do sistema produtivo, influenciando diretamente o desempenho final das plantas nos canteiros de produção, tanto do ponto de vista nutricional quanto no ciclo produtivo da cultura (Carmello, 1995).

A sustentabilidade da agricultura requer a utilização de estratégias que permitam o aumento da produção de ali-

mentos sem acarretar prejuízos ao meio ambiente e à saúde. Uma alternativa para atingir esse objetivo consiste no uso de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP). Estas atuam indiretamente pela supressão de doenças e diretamente pela produção ou alteração da concentração de fitohormônios, fixação de N, solubilização de fosfatos minerais ou outros nutrientes do solo; oxidação do S; aumento da permeabilidade das raízes e; produção de sideróforos (Cattelan, 1999; Mariano e Klopper, 2000).

Apesar do número significativo de pesquisas sobre a utilização de BPCP

na agricultura, poucas relatam a eficiência dessas bactérias em pepino. Wei *et al.* (1996) observaram aumentos de até 26 e 37%, respectivamente para número de folhas e peso cumulativo de frutos de pepino. A utilização do BIO YIELDTM na produção de mudas de pepino tem elevado a quantidade de frutos comercializáveis (BIO YIELDTM, 2000). O objetivo da pesquisa foi avaliar o efeito de isolados bacterianos epifíticos e endofíticos, separadamente ou em misturas, no desenvolvimento de plântulas de pepino em condições de casa de vegetação e analisar alguns possíveis mecanismos de ação desses isolados.

MATERIAL E MÉTODOS

Isolamento de bactérias epifíticas e endofíticas

Foram utilizados sementes, raízes, caules, folhas, flores e frutos de plantas de pepino sadias, coletados em plantios comerciais das Zonas da Mata e do Agreste de Pernambuco. Para isolamento de bactérias epifíticas foi utilizado o método de Mariano *et al.* (2000) e para endofíticas, o método de Souza *et al.* (2000). Nos dois métodos, as placas foram mantidas por 24-48 horas à temperatura média ambiente de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e as colônias que se apresentaram distintas uma das outras, de acordo com observações macroscópicas da coloração e características de crescimento em meio de cultura, foram purificadas em meio extrato de levedura-dextrose-água (NYDA), preservadas pelo método de subcultura e armazenadas sob refrigeração.

Seleção de bactérias promotoras de crescimento de plântulas de pepino

Foram realizados três bioensaios. Na seleção preliminar foram testados 93 isolados bacterianos obtidos de pepino; na segunda, 32 isolados e, na terceira, oito isolados de pepino e mais 10 isolados de bactérias epifíticas (C11, C21, C22, C25, C116, C210, C240, RAB7, RAB9 e R14) obtidas de couve (C), rabanete (RAB) e repolho (R), pertencentes à coleção de bactérias do laboratório de fitobacteriologia da UFRPE. Nos três bioensaios, as suspensões dos isolados foram preparadas a partir de culturas com 36 horas de idade a 27°C , em solução de sulfato de magnésio 0,1 M, ajustando-se a concentração para $A_{580} = 0,7$ em fotocolorímetro M3 (Metronic). As sementes híbridas de pepino 'Eureka' foram lavadas em água corrente por 10 minutos para retirar o excesso de fungicida e deixadas à temperatura ambiente por nove horas. A bacterização consistiu na imersão em suspensão bacteriana por 30 minutos. Após 12 horas, as sementes tratadas foram semeadas em bandejas de isopor (poliestireno expandido) contendo o substrato Plantmax®, sendo cada tratamento intercalado com uma fileira de sementes não tratadas, e mantidas em condições de casa

de vegetação ($35 \pm 5^\circ\text{C}$). As sementes das plantas testemunhas foram tratadas apenas com MgSO_4 0,1 M. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com oito (experimentos 1 e 2) ou dezesseis (experimento 3) repetições por tratamento, sendo cada repetição constituída por uma plântula.

Dez dias após a semeadura, as plântulas foram levadas ao laboratório, separadas em parte aérea e raiz, acondicionadas em sacos de papel e secas em estufa a 65°C por 72 h. Em balança de precisão, foram determinadas as matérias secas da parte aérea (MSPA), da raiz (MSR) e total (MST).

Efeito de misturas de isolados bacterianos na promoção de crescimento de plântulas de pepino

A compatibilidade entre os isolados C22, PEP52, PEP81, PEP82 e PEP91 foi analisada utilizando-se o método de antibiose bactéria x bactéria (Mariano *et al.*, 2000), com as suspensões bacterianas ajustadas para $A_{580} = 0,7$. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições, sendo cada repetição constituída por uma placa de Petri.

Foram preparadas suspensões dos cinco isolados na concentração $A_{580} = 0,7$, separadamente e em misturas em volumes iguais (três a três e todos juntos), sendo as sementes bacterizadas conforme descrito acima. A partir dos dados obtidos calculou-se o índice de aumento (IA) da MSPA, MSR e MST, utilizando-se a fórmula $\text{IA} (\%) = (\text{Tr} - \text{Test}) \times 100 / \text{Test}$, onde: Tr= tratamento e Test= testemunha. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com oito repetições, sendo cada repetição constituída por quatro plântulas.

Mecanismos de ação das bactérias promotoras de crescimento de plântulas de pepino

Os isolados bacterianos PEP81 e PEP91 foram avaliados quanto à produção de ácido cianídrico (HCN) (Mariano *et al.*, 2000), ácido indol acético (AIA) e solubilização de fosfatos (adaptados por Cattelan, 1999). Como padrões positivos foram utilizados, respectivamente, *Burkholderia cepacia* GN1201, *Chryseobacterium* (*Flavobacterium*) *indologenes* GW2103

e *Pseudomonas chlororaphis* GN1212, cedidos pelo Dr. Catellan da Embrapa Soja. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições, sendo cada repetição constituída por uma placa de Petri.

Os isolados PEP81 e PEP91 também foram avaliados quanto à indução de alterações nos teores foliares (g kg^{-1}) dos macronutrientes N, P, K, Ca e Mg. As sementes foram bacterizadas conforme metodologia descrita anteriormente. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições, sendo cada repetição constituída por 20 plântulas. Dez dias após o plantio, as folhas foram submetidas à secagem em estufa a 65°C por 72 horas, e então determinados os teores foliares dos nutrientes. Foram utilizados os métodos de Kjeldahl para N, colorimétrico do molibdo-vanadato de amônio para P, fotometria de chama para K e espectrofotometria de absorção atômica para Ca e Mg (Sarruge e Haag, 1974; Bezerra Neto *et al.*, 1994).

Todos os dados foram submetidos à análise de variância e comparados pelo teste de agrupamento de Scott-Knott ($P=0,05$) efetuado com o auxílio do programa SAEG (Sistema de Análise Estatística e Genética, UFV, Viçosa, MG).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De plantas sadias de pepino foram obtidos 98 isolados bacterianos epifíticos, dos quais 43 foram provenientes de folhas, 14 de frutos, 14 de raízes, 12 de caules, 10 de flores e 5 de sementes. Foram obtidos apenas 31 isolados de bactérias endofíticas, sendo 14 de sementes, 8 de folhas, 5 de caules e 4 de raízes. Maior população epifítica também foi observada por Mahafee e Kloepper (1997) ao estudarem a variação temporal da comunidade bacteriana epifítica e endofítica das raízes de plantas de pepino cultivadas no campo em dois anos consecutivos. De acordo com McInroy e Kloepper (1995), isolados bacterianos provenientes da comunidade endofítica e epifítica, podem ser potenciais agentes de controle biológico e de promoção de crescimento de plantas.

Dos 93 isolados bacterianos utilizados na seleção preliminar, foram sele-

Tabela 1. Crescimento de plântulas de pepino bacterizadas com isolados epifíticos e endofíticos, aos dez dias, em casa de vegetação. Recife, UFRPE, 2001.

Tratamento	Identificação	MSPA (mg) ^{1/}	MSR (mg)	MST (mg)
C22	<i>Bacillus</i> sp.	94 a*	187 a	281 a
PEP52	<i>Bacillus</i> sp.	103 a	136 a	239 a
PEP81	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	93 a	187 a	280 a
PEN14	não identificado	93 a	86 b	179 b
PEP82	não identificado	89 a	161 a	250 a
C21	<i>Bacillus</i> sp.	101 a	90 b	191 b
C11	<i>Bacillus</i> sp.	94 a	97 b	191 b
C116	<i>Bacillus pumilus</i>	99 a	103 b	202 b
C210	<i>Bacillus cereus</i>	94 a	114 b	208 b
RAB7	<i>Bacillus megaterium</i>	89 a	71 b	232 a
C240	<i>Bacillus cereus</i>	93 a	85 b	178 b
RAB9	<i>Bacillus</i> sp.	93 a	100 b	193 b
C25	<i>Bacillus thuringiensis</i> subvar. <i>kenyae</i>	91 a	81 b	172 b
R14	<i>Bacillus subtilis</i>	91 a	108 b	199 b
PEP91	<i>Enterobacter cloacae</i>	84 a	188 a	272 a
PEP42	não identificado	93 a	94 b	187 b
PEP58	não identificado	90 a	125 b	215 b
PEN22	não identificado	81 a	80 b	161 b
Testemunha		91 a	80 b	171 b
C.V.%		37,42	22,31	33,55

^{1/} TRAT = tratamento; MSPA = matéria seca da parte aérea; MSR = matéria seca da raiz; MST = matéria seca total;

*/ Média de dezesseis repetições. Médias seguidas da mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de significância.

cionados 32 para o segundo bioensaio e destes, oito isolados (PEP42, PEP52, PEP58, PEP81, PEP82, PEP91, PEN14 e PEN22) aumentaram significativamente ($P=0,05$) a MST (dados não apresentados). Quando esses oito isolados foram testados juntamente com dez isolados obtidos de outros hospedeiros, foram verificados aumentos significativos ($P=0,05$) de MSR e MST, superiores a 70 e 40% respectivamente, pelos isolados epifíticos PEP52, PEP81, PEP82, PEP91 e C22 (Tabela 1). A maioria das pesquisas com BPCP utiliza grande número de isolados nas seleções preliminares, principalmente porque menos de 1% das rizobactérias são capazes de promover crescimento em plantas (Chen *et al.*, 1996). Gomes (2003) e Assis (2002) obtiveram respectivamente 2,5 e 6% de isolados promotores de crescimento para alface e helicônia. No entanto, algumas pesquisas relatam maior número desses isolados como os 23,5% encontrados por Mello *et al.* (2002) em

abacaxi. O isolado C22 é proveniente de couve, evidenciando que isolados de um hospedeiro podem facilmente colonizar hospedeiros de espécies diferentes, até mesmo com maior intensidade (Quadt-Halman e Kloepper, 1996), promovendo o crescimento (Mello *et al.*, 2002). Esse isolado já havia demonstrado eficiência na promoção de crescimento de tomate (Araújo *et al.*, 1997).

Não foi verificado efeito deletério significativo das bactérias testadas sobre o crescimento de plantas de pepino (Tabela 1), embora esse fato seja comum quando se estudam bactérias com o objetivo de promoção de crescimento de plantas (Enebak *et al.*, 1998).

Os isolados PEP52, PEP81, PEP82, PEP91 e C22 apresentaram compatibilidade *in vitro*, separadamente ou em misturas, sem diferirem significativamente entre si ($P=0,05$), e foram eficientes no aumento dos índices de MSPA, MSR e MST das plântulas de pepino (dados não apresentados). Não houve

efeito aditivo ou sinérgico das misturas na promoção de crescimento de plântulas de pepino. Esses resultados evidenciam que a aplicação de apenas um isolado para a bacterização de sementes de pepino, será muito mais prática e econômica. Os maiores aumentos de matéria seca foram obtidos com os isolados PEP81 (*Bacillus amyloliquefaciens*) e PEP91 (*Enterobacter cloacae*) (Figura 1), com índices de 55,5 e 39,5% (MSPA), 42,9 e 37,2% (MSR) e 41,6 e 34,9% (MST), respectivamente. Mahafee e Kloepper (1997) também isolaram espécies de *Bacillus* e *Enterobacter* tanto epifítica quanto endofiticamente de raízes de plantas de pepino em condições de campo. *Bacillus amyloliquefaciens* faz parte da formulação do produto biológico Bio Yield™, o qual é indicado para o tratamento do substrato utilizado na produção de mudas de pepino (BIO YIELD™, 2000). Isolados dessa espécie aplicados às sementes de pepino têm

sido eficientes no controle do vírus do mosaico das cucurbitáceas (*Cucumber mosaic virus*) (Yao et al., 1997) e antracnose (*Colletotrichum orbiculare*) (Park et al., 2001). Isolados de *E. cloacae* foram eficientes agentes de biocontrole de *Fusarium* (Sneh et al., 1984) e *Pythium ultimum* em pepino (Van Dijk et al., 2000).

Nas condições dos ensaios realizados *in vitro*, PEP81 e PEP91 não produziram AIA, HCN e não solubilizaram fosfato, como evidenciado nos padrões utilizados, sugerindo que esses mecanismos não foram responsáveis pela promoção de crescimento. Porém, Koga et al. (1991) verificaram que um isolado de *E. cloacae*, obtido da rizosfera de pepino, acelerou o crescimento de várias culturas agrícolas, e os estudos de metabolismo sugeriram que esse microrganismo sintetizava AIA, via ácido indolpirúvico.

Apesar das bactérias do gênero *Enterobacter* serem classificadas como diazotróficas de vida livre no solo (Neves e Rumjanek, 1998), não foram observados aumentos significativos nos teores de N nas folhas das plantas tratadas com o isolado *E. cloacae* PEP91 ou com *B. amyloliquefaciens* PEP81. Esses isolados também não aumentaram significativamente ($P=0,05$) as concentrações de P, K, Ca e Mg nas folhas. Diferentes espécies de *Bacillus*, como *B. megaterium*, *B. thuringiensis*, *B. polymixa* e *B. brevis*, isoladas da rizosfera e com potencial de solubilizar fosfato de rocha, aumentaram a produção de vagens de canola, mas não aumentaram a absorção de P pelas plantas (Freitas et al., 1997). Laheurte e Berthelin (1988) inocularam sementes de milho com uma linhagem de *Enterobacter agglomerans* solubilizadora de fosfato e verificaram que a bactéria não causou efeito na absorção de P por plantas de milho.

Os resultados desse estudo demonstram a potencialidade da utilização de *Bacillus amyloliquefaciens* PEP81 e *Enterobacter cloacae* PEP91 na melhoria da qualidade de mudas de pepino.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq e a FACEPE pelo auxílio financeiro e con-

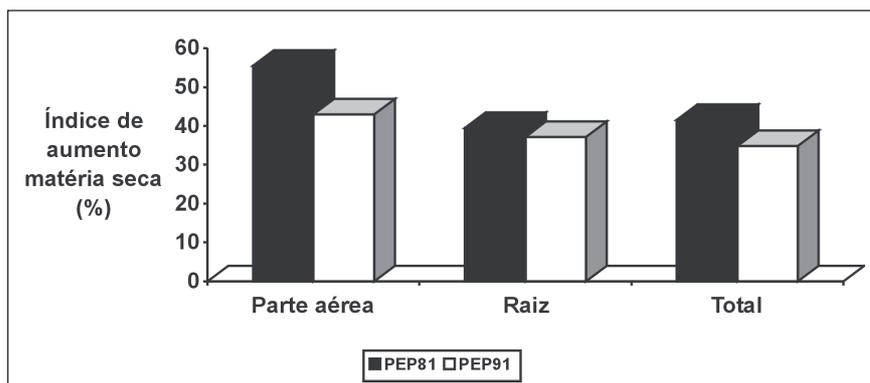


Figura 1. Aumento dos índices de matéria seca da parte aérea, raiz e total de plântulas de pepino com dez dias, em casa de vegetação, pelos isolados bacterianos PEP81 (*Bacillus amyloliquefaciens*) e PEP91 (*Enterobacter cloacae*). Recife, PE, 2002.

cessão de bolsas de pesquisa.

LITERATURA CITADA

- ARAÚJO, D.V.; MELO, M.R.F.; MOURA, F.F.; MARIANO, R.L.R.; ASSIS, S.M.P. Ação de bactérias endofíticas e epifíticas no crescimento de plantas de tomateiro. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO DA UFRPE, 1., 1997, Recife. *Resumos...* Recife, Imprensa Universitária, 1997. p.73.
- ASSIS, S.M.P. *Heliconia psittacorum L.f. – Doenças, pragas e utilização de rizobactérias na promoção de crescimento*. 2002. 191 p. (Tese doutorado), UFRPE, Recife.
- BEZERRA NETO, E.; ANDRADE, A.G.; BARRETO, L.P. *Análise química de tecidos e produtos vegetais*. Recife: UFRPE, 1994. 99 p.
- BIO YIELD™. *Transplanted vegetable and vine crops*. Plano: GUSTAFSON LLC, 2000. Disponível em <<http://helenachemical-west.com/data/product%20info/bioyieldmanual.pdf>>. Acesso em 20 jan. 2002.
- CARMELLO, Q.A. Nutrição e adubação de mudas de hortaliças. In: MINAMI, K. *Produção de mudas de alta qualidade em horticulturas*. São Paulo: T.A. Queiroz, 1995. p.27-37.
- CATTELAN, A.J. *Métodos qualitativos para determinação de características bioquímicas e fisiológicas associadas com bactérias promotoras de crescimento vegetal*. Londrina: Embrapa Soja, 1999. 36 p.
- 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. eds. *Management of soil born diseases*. Ludhiana: Kalyani Publishers, 1996. p.165-184.
- 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.
- FREITAS, J.R.; BANERJEE, M.R.; GERMIDA, J.J. Phosphate-solubilizing rhizobacteria enhance the growth and yield but not phosphorus uptake of canola (*Brassica napus L.*). *Biology and Fertility of Soils*, v.24, p.358-364, 1997.
- GOMES, A.M.A. *Cultura da alface: produção de mudas utilizando Bacillus spp., escala diagramática para cercosporiose e levantamento da doença em Pernambuco*. 2003. 90 p. (Tese doutorado), UFRPE, Recife.
- KOGA, J.; ADACHI, T.; HIDAKA, H. IAA biosynthesis pathway from tryptophan via indole-3-pyruvic acid in *Enterobacter cloacae*. *Agricultural Biology and Chemistry*, v.55, p.701-706, 1991.
- LAHEURTE, F.; BERTHELIN, J. Effect of a phosphate-solubilizing bacteria on maize growth and root exudation over four levels of labile phosphorus. *Plant and Soil*, v.105, p.11-17, 1988.
- MAHAFEE, W.F.; KLOEPPER, J.W. Temporal changes in the bacterial communities of soil, rhizosphere, and endorhiza associated with field-grown cucumber (*Cucumis sativus L.*). *Microbial Ecology*, v.34, p.210-223, 1997.
- MARIANO, R.L.R.; ASSIS, S.M.P.; SILVEIRA, E.B.; GOMES, A.M.A. Mecanismos de ação de bactérias promotoras de crescimento. In: Mariano, R.L.R. *Manual de Práticas em Fitobacteriologia*. Recife: Editora Universitária, 2000. p.139-151.
- MARIANO, R.L.R.; KLOEPPER, J.W. Método alternativo de biocontrole: resistência sistêmica induzida por rizobactérias. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, v.8, p.121-137, 2000.
- MCINROY, J.A.; KLOEPPER, J.W. A survey of indigenous bacterial endophytes from cotton and sweet corn. *Plant and soil*, v.173, p.1-6, 1995.
- MELLO, M.R.F.; MARIANO, R.L.R.; MENEZES, M.; CÂMARA, T.R.; ASSIS, S.M.P. Seleção de bactérias e métodos de bacterização para promoção de crescimento em mudas de abacaxizeiro micropropagadas. *Summa Phytopathologica*, v.28, n.3, p.222-228, 2002.
- NEVES, M.C.P.; RUMJANEK, N.G. Ecologia das bactérias diazotróficas nos solos tropicais. In: MELO, I.S.M.; AZEVEDO, J.L. (Eds.). *Ecologia microbiana*. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 1998. p.15-60.
- PARK, K.; PARK, H.J.; KIM, Y.C.; KLOEPPER, J.W. Induced systemic resistance against anthracnose in cucumber plant by a selected PGPR, *Bacillus amyloliquefaciens* and its mechanism of action. Korea: Plant Pathology Division, 2001, 4 p. Disponível em: <<http://www.ag.auburn.edu/argentina/pdfmanuscripts/park.pdf>>. Acesso em: 20 set. 2001.

- QUADT-HALLMANN, A.; KLOEPPER, J.W. Immunological detection and localization of the cotton endophyte *Enterobacter asburiae* JM22 in different plant diseases. *Canadian Journal of Microbiology*, v.42, p.1144-1154, 1996.
- SARRUGE, J.R.S.; HAAG, H.P. *Análise químicas em plantas*. Piracicaba: USP – ESALQ, 1974. 56 p.
- SNEH, B.; DUPLER, M.; ELAD, Y.; BAKKER, R. Chlamydospore germination of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum* as affected by fluorescent and lytic bacteria from *Fusarium*-suppressive soil. *Phytopathology*, v.74, n.9, p.1115-1124, 1984.
- SOUZA, J.R.B.S.; MEDEIROS, F.H.V.; SILVEIRA, E.B.; GOMES, A.M.A.; VIANA, I.O. Avaliação de metodologias para isolamento de bactérias endofíticas. In: X CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 2000, Recife. *Anais...* Recife: UFRPE, 2000, p.53-54.
- VAN DIJK, K.; DOUGLAS, M.; NELSON, E.B. Fatty acid competition a mechanism by which *Enterobacter cloacae* supresses *Pythium ultimum* sporangium germination and damping-off. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON PGPR, 5., 2000, Cordoba. *Abstract...* Auburn: OECD, 2000. p.133.
- YAO, C.B.; ZEHNDER, G.W.; MURPHY, J.; KLOEPPER, J.W. Evaluation of induced systemic resistance and plant growth promotion in tomato with selected PGPR strains. In: WORKSHOP ON PLANT GROWTH-PROMOTING RHIZOBACTERIA, 4., 1997, Japan. *Proceedings...* Sapporo: OECD, 1997. p.285-288.
- WEI, G.; KLOEPPER, J.W.; TUZUN, S. Induced systemic resistance to cucumber diseases and increased plant growth by growth-promoting rhizobacteria under field conditions. *Phytopathology*, v.86, n.2, p.221-224, 1986.
-