

CARRER FILHO R; ROMEIRO RS; AMARAL LS; GARCIA FAO. 2009. Potencialidade de um actinomiceto de rizosfera de tomateiro como agente de biocontrole de doenças. *Horticultura Brasileira* 27: 340-344.

Potencialidade de um actinomiceto de rizosfera de tomateiro como agente de biocontrole de doenças

Renato Carrer Filho; Reginaldo S Romeiro; Livio S Amaral; Flávio AO Garcia

UFV-Depto. Fitopatologia, 36570-000 Viçosa-MG; rromeiro@ufv.br

RESUMO

Um actinomiceto (*Streptomyces setonii*, isolado 'UFV-RD1'), obtido de rizosfera de planta sadia de tomateiro, foi selecionado dentre outros 117, como promissor agente de biocontrole de enfermidades da cultura. Em testes de antagonismo *in vitro* contra patógenos do tomateiro, o isolado 'UFV-RD1' foi incapaz de inibir o crescimento de bactérias (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Ralstonia solanacearum*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*) mas inibiu a germinação de conídios de alguns fungos (*Alternaria solani*, *Phytophthora infestans*, *Corynespora cassiicola*, *Stemphylium solani*). Em ensaios de biocontrole experimental *in vivo*, em casa de vegetação, o actinomiceto foi efetivo em reduzir a severidade de sintomas no caso de patógenos fúngicos e bacterianos testados como desafiantes. A campo, quando *A. solani* e *P. infestans* ocorreram naturalmente, as plantas originárias de sementes microbiolizadas com propágulos da estirpe 'UFV-RD1' exibiram sintomas menos severos que as plantas controle para o caso da pinta preta. O agente de biocontrole é promissor para futuros protocolos de manejo integrado, como forma de reduzir a quantidade de defensivos utilizados.

Palavras-chave: *Streptomyces setonii*, antagonismo microbiano, indução de resistência, controle biológico.

ABSTRACT

Potentiality of an actinomycete from tomato rhizosphere as a biocontrol agent for tomato diseases

An actinomycete (*Streptomyces setonii*, isolate 'UFV-RD1'), isolated from the rhizosphere of a healthy tomato plant was selected out of 117 as a promising biocontrol agent for tomato diseases. In *in vitro* antagonism tests against tomato pathogens, the isolate 'UFV-RD1' was unable to inhibit growth of bacterial pathogens (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Ralstonia solanacearum*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*) but inhibited conidium germination of fungi (*Alternaria solani*, *Phytophthora infestans*, *Corynespora cassiicola*, *Stemphylium solani*). Experimental biocontrol assays in a greenhouse indicated that the actinomycete was effective for reducing symptom severity in the case of bacteria and fungi tested as challenging pathogens. In field trials, when *A. solani* and *P. infestans* spontaneously occurred, plants resulting from seeds microbiolized with propagules of isolate 'UFV-RD1' showed less severe symptoms in the case of early blight. Therefore, the biocontrol agent is considered a good choice to be included in future protocols of disease integrated management as a way to reduce defensive use.

Keywords: *Streptomyces setonii*, microbial antagonism, induced resistance, biological control.

(Recebido para publicação em 24 de abril de 2008; aceito em 30 de julho de 2009)

(Received in April 24, 2008; accepted in July 30, 2009)

Tomate é uma das principais hortaliças cultivadas no Brasil. Porém, durante seu ciclo é acometido por mais de duzentas doenças, o que leva a um declínio na sua produtividade. Assim sendo, a cultura do tomate é uma das que mais demanda o uso de agrotóxicos durante seu processo de cultivo, representando ônus ao produtor e riscos ao consumidor no que tange a resíduos nos produtos finais consumidos (Jones *et al.*, 1991; Minami & Haag, 1989). Consideradas as implicações ecológicas e sanitárias decorrentes do uso contínuo e em grandes quantidades de pesticidas (Uykhede, 1996), a busca e a pesquisa por alternativas de manejo da doença são importantes.

A busca por microrganismos benéficos, agentes de controle biológico, como alternativa para aumentar a produtividade de plantas e melhorar o seu estado fitossanitário, vem sendo um dos principais objetivos da pesquisa agrícola nas últimas décadas. Dentre estes microrganismos, os actinomicetos (procariotas gram-positivos) apresentam grande potencial. Os actinomicetos podem ser encontrados em nichos ecológicos, tais como a rizosfera e o rizoplane de plantas, onde sobrevivem, multiplicam-se e encontram proteção contra o antagonismo da microbiota circunvizinha (Benizri *et al.*, 2001; Silva *et al.*, 2003).

O uso de rizobactérias como agentes de biocontrole tem sido estudado de

modo intensivo nas últimas três décadas, como relatam muitos autores (Kloepper *et al.*, 1997; Ramamoorthy *et al.*, 2000; Gerhardson, 2002; Silva *et al.*, 2004b) e sabe-se que são capazes de propiciar proteção a múltiplos patógenos (Alström, 1991; Wei *et al.*, 1991; Maurhofer *et al.*, 1995). Actinomicetos são capazes de habitar a rizosfera de plantas, podendo assim ser consideradas como rizobactérias. Há alguns trabalhos em que essas bactérias são utilizadas como agentes de biocontrole de doenças de plantas. De um universo de 42 actinomicetos isolados da rizosfera de plantas, 28 foram eficientes em reduzir o número de galhas causadas por *Meloidogyne javanica* em tomateiro e nove reduziram o número de

ovos por raízes (Coimbra *et al.*, 2004). Yan *et al.* (2004) isolaram uma cultura de *Streptomyces* sp. capaz de controlar a formação de galhas e reduzir o número de J2 de *M. incognita*, em condições de casa de vegetação. O controle *in vitro* e *in vivo* de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* por *S. griseorubiginosus*, um actinomiceto isolado de raízes de tomate, foi avaliado e um dos mecanismos de controle observado foi a síntese de sideróforos (Lixiang *et al.*, 2005). A diversidade de compostos sintetizados e excretados por actinomicetos, sobretudo antibióticos, os torna especialmente desejados como agentes de biocontrole. Outra característica importante dessas bactérias é a capacidade de sintetizar endósporos, o que facilita a sua formulação (Emmert & Handelsman, 1999). Sabaratnam & Traquair (2002) produziram uma formulação à base da estirpe 'Di-944' de *S. griseoviridis*, isolado da rizosfera de tomateiro, que demonstrou ser eficiente em controlar o tombamento de mudas de tomate causado por *Rhizoctonia solani*.

Este trabalho teve o objetivo de avaliar a estirpe do actinomiceto 'UFV-RD1' de *Streptomyces setonii* obtida de solo de rizosfera de plantas saudáveis de tomateiro, como potencial agente de biocontrole de doenças desta cultura.

MATERIAL E MÉTODOS

Origem, cultivo e preservação dos microrganismos - Todos os microrganismos utilizados nesse trabalho, tanto os fitopatogênicos como a estirpe 'UFV-RD1' de *Streptomyces setonii*, foram obtidos da coleção de culturas do Laboratório de Bacteriologia de Plantas e Controle Biológico do Departamento de Fitopatologia da UFV. Os fungos *Alternaria solani* e *Phytophthora infestans* foram cultivados em meio BDA (Tuite, 1969) e os fungos *Corynespora cassiicola* e *Stemphylium solani* foram cultivados em meio V8-ágar (Dhingra & Sinclair, 1985). As fitobactérias *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Ralstonia solanacearum* e *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* foram cultivadas em meio 523 (Kado & Heskett, 1970), e *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* em meio GYCA

(Schaad *et al.*, 2001). As fitobactérias foram preservadas sob óleo mineral e em água mineral esterilizada (Romeiro, 2001), mantidas a 4°C, e as culturas fúngicas preservadas em óleo mineral. A estirpe 'UFV-RD1' do actinomiceto *S. setonii* foi obtida da rizosfera de planta sadia de tomateiro no município de São Miguel do Passa Quatro-GO e previamente selecionada como potencial antagonista a patógenos de tomateiro (Carrer Filho, 2002). O actinomiceto foi cultivado e multiplicado em tubos inclinados, contendo meio de extrato de solo-ágar (Pramer & Schmidt, 1964) e preservado sob óleo mineral a 4°C, por repicagens semestrais tubo-a-tubo (Romeiro, 2001).

Potencialidade para colonização de raízes de tomateiro - Para detectar a eventual habilidade da estirpe 'UFV-RD1' em colonizar o sistema radicular de plantas de tomate, sementes da cv. 'Santa Cruz Kada' foram microbiolizadas, por embebição, em uma suspensão ($DO_{540} = 0,3$) de propágulos do actinomiceto em solução salina esterilizada. Após 24 h, as sementes foram transferidas para tubos contendo meio ágar-água 0,6%, não inclinados, e deixadas para germinar à temperatura ambiente de 25°C (Silva *et al.*, 2003). A ocorrência de turvação e depósito leitoso ao longo das raízes, visualizados por observação contra a luz, foram interpretados como habilidade da rizobactéria para colonizar o sistema radicular do tomateiro.

Inibição de crescimento de fitobactérias *in vitro* - Utilizou-se o método da sobrecamada, conforme descrito por Romeiro (2001), em que 0,1 mL da suspensão de propágulos do actinomiceto 'UFV-RD1' foram depositados no centro da superfície de placas de Petri contendo extrato de solo-ágar, seguindo-se incubação a 30°C, por 96 h. Após, as colônias foram mortas por exposição à luz ultravioleta (254 nm) por 20 minutos. Em seguida, verteu-se uma sobrecamada de meio 523 (Kado & Heskett, 1970) semi-sólido fundente (48°C) ao qual foram adicionados propágulos (0,1 mL) de cultura em meio líquido, na fase exponencial de crescimento (± 24 h) das fitobactérias *P. syringae* pv. *tomato*, *R. solanacearum*, *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* e 48

h para *X. campestris* pv. *vesicatoria*. As placas foram vedadas, mantidas a 28°C por um período de 72 h e examinadas diariamente a fim de observar se havia formação de halos de inibição.

Inibição na germinação de conídios de fungos patogênicos ao tomateiro - Testou-se uma suspensão de propágulos da estirpe 'UFV-RD1' quanto à capacidade de inibir a germinação de conídios de *S. solani*, *C. cassiicola* e *A. solani*. O tratamento com uma solução do fungicida clorotalonil a 2 g L⁻¹ também foi utilizado e o controle foi solução salina (0,85% NaCl) esterilizada. Para tanto, foram colocadas gotas de 50 µL de propágulos do antagonista contendo o dobro da concentração desejada ($DO_{540} = 0,6$) sobre lâminas comuns de microscopia, de forma que, ao acrescentar 50 µL de suspensão de conídios dos fungos patogênicos, fosse obtida a concentração desejada de células do antagonista ($DO_{540} = 0,3$). A concentração de *A. solani* foi de $5,0 \times 10^3$ conídios/mL e, de *S. solani* e *C. cassiicola* foi de 10^4 conídios/mL. Após a montagem, lâminas foram mantidas em câmara úmida a 28°C por 24 h. A germinação dos conídios foi determinada contando-se 100 esporos ao microscópio (40x), com três repetições. Consideraram-se germinados aqueles conídios cujo comprimento do tubo germinativo, igualou ou foi superior ao seu maior diâmetro.

Inibição da germinação de esporângios de *Phytophthora infestans* - Utilizou-se a metodologia de Halfeld-Vieira *et al.* (2004) com modificações. Os tratamentos consistiram de solução de clorotalonil a 2 g L⁻¹, suspensão de células da estirpe 'UFV-RD1' ($DO_{540} = 0,3$) e solução salina esterilizada como controle. Sobre lâminas de microscopia, foram colocadas gotas de 50 µL contendo o dobro da concentração de propágulos da estirpe 'UFV-RD1' ($DO_{540} = 0,6$), de modo que, com a adição de mais 50 µL de uma suspensão de esporângios (2×10^8 esporângios mL⁻¹), fossem obtidas as concentrações desejadas do antagonista ($DO_{540} = 0,3$). As lâminas foram mantidas em câmara úmida, permanecendo em incubadoras a 4°C por 3 h. Após esse período, foram imediatamente transferidas para câmara de incubação regulada a 17°C, por 24 h

e a germinação indireta de esporângios foi determinada pela contagem de 100 esporângios ao microscópio (40x), com três repetições, determinando-se assim a percentagem de esporângios que liberaram zoósporos em relação aos tratamentos controles.

Ensaio de biocontrole em casa de vegetação - Mudanças de tomateiro (cv. Santa Cruz Kada) oriundas de sementes microbiolizadas por embebição de 24 h em uma suspensão de propágulos do actinomiceto 'UFV-RD1' ($DO_{540} = 0,3$) foram cultivadas por 30 dias. As mudas foram deixadas em câmara úmida por 24 h e, a seguir, foram inoculadas, por atomização, com *P. syringae* pv. *tomato* ($DO_{540} = 0,2$), *C. cassiicola* (2×10^4 conídios/mL), *S. solani* ($2,5 \times 10^3$ conídios/mL) e *X. campestris* pv. *vesicatoria* ($DO_{540} = 0,1$). O controle consistiu na imersão de sementes da cultivar em solução salina. O experimento foi conduzido em condições de casa de vegetação, com temperatura ajustada para 25°C, no delineamento inteiramente casualizado com dez repetições por tratamento, cada repetição consistindo de uma planta por vaso. O ensaio avaliou a severidade de doença, sete dias após o surgimento dos primeiros sintomas.

Ensaio de biocontrole em campo - O ensaio foi instalado em uma área experimental do Departamento de Fitopatologia da UFV e conduzido de dezembro de 2001 a fevereiro de 2002. A área possui um histórico de ocorrências de doenças em tomateiro, já que se faz o plantio de tomate todos os anos no local, além de batata e de outras solanáceas. O solo é do tipo argiloso, apresenta pH 6,01, 1,8 mg/dm³ de fósforo disponível, 29 mg/dm³ de potássio trocável, como teores de cálcio de 2,00 cmol/dm³ e 0,05 cmol/dm³ de magnésio, segundo análise realizada em laboratório do Departamento de Solos da UFV. O experimento constou de quatro blocos casualizados, com cinco plantas em cada parcela. Os tratamentos foram representados por mudas de tomateiro da variedade 'Santa Cruz Kada' oriundas de sementes microbiolizadas por propágulos do actinomiceto 'UFV-RD1', submetidas ao tratamento químico com clorotalonil (2 g L⁻¹, duas vezes por semana), ou que não receberam nenhum

tratamento, controle. Plantas cultivadas em casa de vegetação, em vasos com solo não esterilizado, cerca de 20 dias após a emergência, foram transplantadas para solo de cultivo em campo. Cinco dias após o transplantio, verteram-se 50 mL de uma suspensão de propágulos da estirpe UFV-RD1 ($DO_{540} = 0,2$) na região da cova de plantas oriundas de sementes previamente microbiolizadas. Este processo foi realizado para aumentar as possibilidades do actinomiceto colonizar as raízes das plantas de tomate. As plantas foram conduzidas verticalmente, com duas hastes, no espaçamento de 1,0 x 0,3 m (Boff *et al.*, 1991a) sendo a poda de caules realizada semanalmente. A irrigação foi por aspersão e as adubações de transplantio e de cobertura foram implementadas em função de análise química do solo. Pinta preta e requeima ocorreram espontaneamente e suas respectivas severidades avaliadas. A severidade da pinta preta foi estimada pelo uso de escalas diagramáticas com diferentes percentagens de área foliar lesionada (Boff *et al.*, 1991b). Já para avaliar a severidade de requeima, dois avaliadores estimaram a percentagem da área foliar lesionada, com o programa SeverityPro[®] (Nutter & Litwiller, 1998) para o treinamento. Avaliou-se a área foliar lesionada pela pinta preta semanalmente e, para a requeima, duas vezes por semana. Obteve-se as curvas de progresso das doenças e as respectivas áreas abaixo da curva de progresso de doença (AACPD).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pelo ensaio de potencialidade para colonização de raízes de tomateiro, observou-se a formação de uma zona turbida e leitosa ao longo da raiz principal e das secundárias em sementes microbiolizadas com propágulos da estirpe 'UFV-RD1' de *S. setoni*. Esta turbidez foi claramente visível quando os tubos foram observados contra a luz diurna demonstrando assim ser a estirpe capaz de colonizar o sistema radicular de tomateiro.

Não foi observada a formação de halos de inibição para nenhuma das bactérias testadas, inferindo-se que a estirpe 'UFV-RD1' não foi capaz de

inibir o crescimento dessas fitobactérias *in vitro*. Porém, o antagonista demonstrou ser capaz de inibir a germinação de conídios de *A. solani*, *S. solani* e de *C. cassiicola* e a germinação de esporângios de *P. infestans* (Figura 1). Em relação ao tratamento clorotalonil, *S. setoni*, foi estatisticamente tão eficiente em inibir a germinação de conídios de *S. solani* e *C. cassiicola*, e menos eficiente para *A. solani* e *P. infestans*.

No ensaio de biocontrole experimental em casa de vegetação, a estirpe 'UFV-RD1' foi capaz de reduzir, significativamente, a média de lesões por folíolo no caso de todos os patógenos desafiados testados, tanto fúngicos como bacterianos, demonstrando ser um potencial agente de biocontrole de doenças do tomateiro (Figura 2). Porém, nem sempre os resultados obtidos em casa de vegetação são reproduzidos em condições de campo (Bashan, 1998). Assim, a confirmação da potencialidade do actinomiceto foi testada nestas condições.

O experimento de campo foi instalado sem que inoculações fossem feitas e duas doenças (pinta preta e requeima) aconteceram espontaneamente e o monitoramento da severidade de ambas, em função do tempo, foi acompanhado. O antagonista foi capaz de proteger plantas contra *A. solani*, ao longo de todo o período de acompanhamento do progresso da doença (Tabela 1). O controle da pinta preta vai de encontro a resultados apresentados na literatura em que outras espécies de actinomicetos foram capazes de controlar os patógenos desafiados (Soares *et al.*, 2006; Shahrokhi *et al.*, 2005; Coimbra *et al.*, 2004; Lixiang *et al.*, 2005). Para requeima, a estirpe 'UFV-RD1' não foi capaz de controlar a doença (Tabela 1). Van Loon *et al.* (1998) advertem que a proteção de plantas contra patógenos apenas com base em agentes de biocontrole ainda não é viável e que agentes de biocontrole raramente apresentam a mesma eficácia de produtos químicos, principalmente contra patógenos agressivos como *P. infestans*, sendo que o uso combinado de controle biológico e produtos químicos pode ser uma medida de manejo que traz consigo confiabilidade e eficiência. Este fato foi também comprovado em

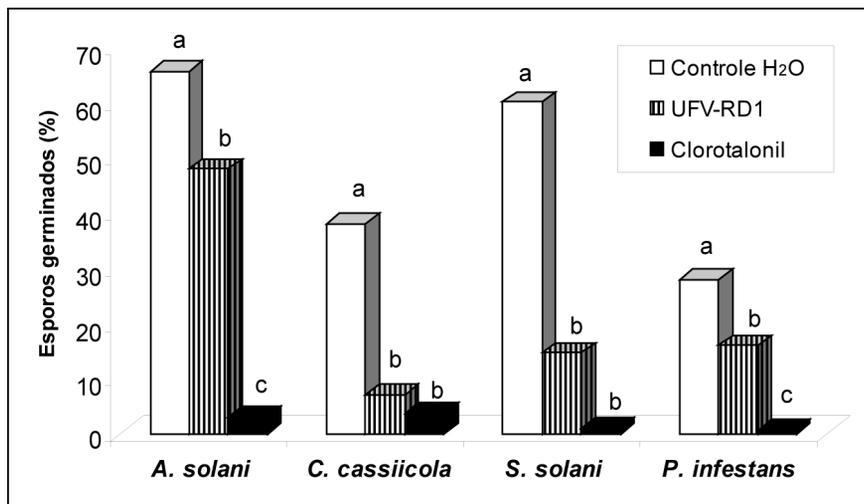


Figura 1. Teste de inibição da germinação de conídios e ou esporângios, por exposição à água (controle), ao fungicida clorotalonil e a propágulos do actinomiceto UFV-RD1, para os fungos fitopatogênicos *Alternaria solani*, *Corynespora cassiicola*, *Stemphylium solani* e *Phytophthora infestans* (Inhibition test for conidium or sporangia germination after exposure to water (control), to the fungicide clorotalonil and to the actinomycete propagules UFV-RD1, for the phytopathogenic fungi *Alternaria solani*, *Corynespora cassiicola*, *Stemphylium solani* and *Phytophthora infestans*). Viçosa, UFV, 2002.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (means followed by the same letter did not differ by the Tukey test at 5% of probability).

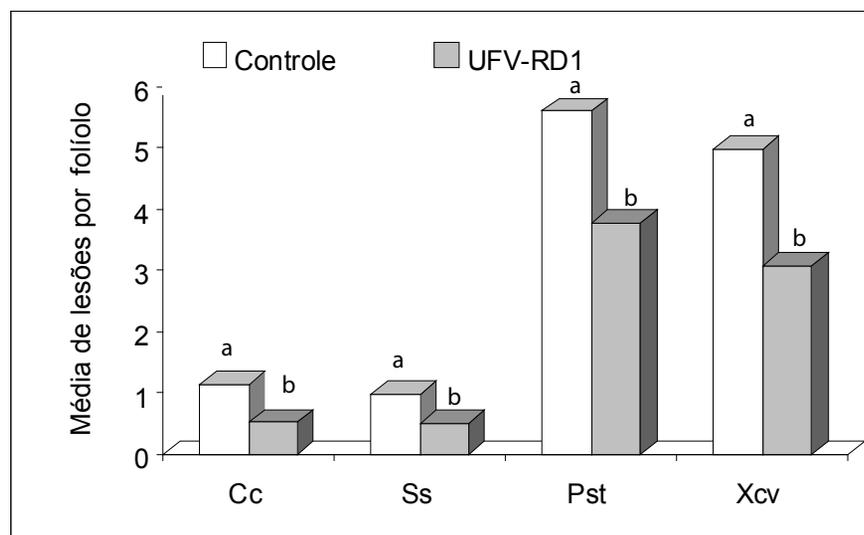


Figura 2. Média de lesões por folíolo incitadas por *Corynespora cassiicola* (Cc), *Stemphylium solani* (Ss), *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Pst), *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Xcv) em plantas de tomate oriundas de sementes microbiolizadas com o actinomiceto UFV-RD1 em inoculações realizadas em casa de vegetação (average lesions on the leaflets caused by *Corynespora cassiicola* (Cc), *Stemphylium solani* (Ss), *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Pst), *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Xcv) on tomato plants grown from seeds microbiolyzed with the actinomycete UFV-RD1 on inoculations done in the greenhouse). Viçosa, UFV, 2002.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (means followed by the same letter did not differ by the Tukey test at 5% of probability).

um trabalho em que o uso de uma rizobactéria, estirpe 'UFV-101' de *Bacillus cereus*, promoveu o controle de doenças de tomateiro em condições de campo e o seu uso em conjunto com clorotalonil permitiu reduzir o número de aplicações do fungicida pela metade, ao longo de 90 dias (Silva *et al.*, 2004a).

A menor eficiência do antagonista em reduzir o progresso das doenças frente ao fungicida pode estar relacionada a alguns fatores como a ausência de uma formulação que proteja o antagonista quando dispensado via semente. Após a semeadura, o microrganismo necessita estabelecer-se e competir com outros organismos existentes no solo, além de ter que se adaptar a uma nova condição ambiental. Também não se sabe quais os mecanismos de controle que estão envolvidos e, assim, não foi possível potencializá-los. Já o fungicida é um produto comercial desenvolvido e testado exaustivamente com um mecanismo de ação previamente definido, inibindo a ação proteica e enzimática esperando-se dele maior eficiência. De acordo com os resultados obtidos, a estirpe 'UFV-RD1' de *S. setoni* é um promissor agente de biocontrole de doenças do tomateiro.

Mais estudos precisam ser realizados para que se possa cogitar da possibilidade de desenvolver um bioproduto a partir do isolado 'UFV-RD1' de *S. setoni*, tais como a possibilidade de ser agente de biocontrole aplicado, concomitantemente, tanto por microbiolização de sementes como em pulverizações periódicas no filoplano. Um outro aspecto importante a se investigar é a viabilidade técnica de misturar propágulos vivos do agente de biocontrole com fungicidas já registrados para tomateiro, uma vez que isoladamente ele não foi capaz de proteger plantas de tomateiro contra *P. infestans*.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq e à Fapemig pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

ALSTRÖM S. 2001. Induction of disease resistance in common bean susceptible to

Tabela 1. Média da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) para a pinta preta (*A. solani*) e para a mela (*P. infestans*) (average value of the area under disease progress curve (AACPD) for early blight (*A. solani*) and late blight (*P. infestans*)). Viçosa, UFV, 2002.

Tratamentos	AACPD, Pinta Preta	AACPD, Mela
Controle	8,38 a	72,90 a
'UFV-RD1'	4,93 b	53,25 b
Clorotalonil	1,31 c	12,00 c

Valores seguidos pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade (means followed by the same letter did not differ by the Tukey test at 5% of probability).

- halo blight bacterial pathogen after seed bacterization with rhizosphere pseudomonads. *Journal General Applied and Microbiology* 37: 495-501.
- BASHAN Y. 1998. Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. *Biotechnology Advances* 16: 729-770.
- BENIZRI E; BAUDOIN E; GUCKERT A. 2001. Root colonization by inoculated plant growth-promoting rhizobacteria. *Biocontrol Science and Technology* 11: 557-574.
- BOFF P; VALE FXR; ZAMBOLIM L.; FONTES, PCR. 1991a. Epidemiologia comparativa da mancha-de-estenfilio (*Stemphylium solani*) e da pinta-preta (*Alternaria solani*), em dois sistemas de condução do tomateiro. *Fitopatologia Brasileira* 16: 104-109.
- BOFF P; ZAMBOLIM L; VALE FXR. 1991b. Escalas de severidade para avaliação da mancha-de-estenfilio (*Stemphylium solani*) e da pinta preta (*Alternaria solani*) em tomateiro. *Fitopatologia Brasileira* 16: 280-283.
- CARRER FILHO, R. 2002. *Actinomicetos como agentes de biocontrole de doenças e como promotores de crescimento do tomateiro*. Viçosa: UFV. 78p (Tese mestrado).
- COIMBRA JL; CAMPOS VP; SOUZA RM. 2004. Efeito antagonico de actinomicetos isolados de diferentes culturas na formação de galhas e na reprodução de *Meloidogyne javanica* em tomateiro. *Nematologia Brasileira* 28: 231-234.
- DHINGRA OD; SINCLAIR JB. 1995. *Basic Plant Pathology Methods*. Boca Raton: CRC Press, 434p.
- EMMERT EAB; HANDELSMAN J. 1999. Biocontrol of plant disease: a (Gram-) positive perspective. 171: 1-9.
- GERHARDSON B. 2002. Biological substitutes for pesticides. *Trends in Biotechnology* 20: 338-343.
- HALFELD-VIEIRA BA; ROMEIRO RS; MIZUBUTI ESG. 2004. Métodos de isolamento de bactérias de filoplano de tomateiro visando populações epifíticas e implicações como agentes de biocontrole. *Fitopatologia Brasileira* 29: 638-643.
- JONES JB; JONES JP; STALL RE; ZITTER TA. 1991. *Compendium of tomato diseases*. St. Paul: APS Press. 73p.
- KADO CI; HESKETT MG. 1970. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. *Phytopathology* 60: 969-979.
- KLOPPER JW; TUZUN S; ZEHNDER GW; WEI G. 1997. Multiple disease protection by rhizobacteria that induced systemic resistance-Historical precedence. *Phytopathology* 87: 136-137.
- LIXIANG C; ZHIQI Q; JIANLAN Y; HONGMING T; SHINING Z. 2005. Isolation and characterization of endophytic streptomycete antagonists of fusarium wilt pathogen from surface-sterilized banana roots. *FEMS Microbiology Letters* 247: 147-152.
- MAURHOFER M; KEEL C; HAAS D; DEFAGO G. 1995. Influence of plant species on disease suppression by *Pseudomonas fluorescens* CHA0 with enhanced antibiotic production. *Plant Pathology* 44: 40-50.
- MINAMI K; HAAG HP. 1989. *O Tomateiro*. Campinas: Fundação Cargill. 397p.
- NUTTER FWJ; LITWILLER DA. 1998. Computerized disease assessment training program for foliar disease. Iowa State University Research Foundation, Inc.
- PRAMER D; SCHMIDT EL. 1964. *Experimental Soil Microbiology*. Minneapolis: Burgess Publishing. 107p.
- RAMAMOORTHY V; VISWANATHAN R; RAGUCHANDER T; PRAKASAM V; SAMIYAPPAN R. 2000. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. *Crop Protection* 20: 1-11.
- ROMEIRO RS. 2001. *Métodos em Bacteriologia de Plantas*. Viçosa: Editora UFV. 279p.
- SABARATNAM S; TRAQUAIR JA. 2002. Formulation of a *Streptomyces* biocontrol agent for the suppression of *Rhizoctonia* damping-off in tomato transplants. *Biological Control* 23: 245-253.
- SCHAAD NW; JONES JB; CHUN W. 2001. *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. Saint Paul: APS Press. 373p.
- SHAHROKHI S; BONJAR GHS; & SAADOUN; I. 2005. Biological control of potato isolate of *Rhizoctonia solani* by *Streptomyces olivaceus* strain 115. *Biotechnology* 4: 132-138.
- SILVA HSA, ROMEIRO RS; MOUNTEER A. 2003. Development of a root colonization bioassay for rapid screening of rhizobacteria for potential biocontrol agents. *Journal of Phytopathology* 151: 42-46.
- SILVA HSA; ROMEIRO RS; CARRER FILHO R; PEREIRA JLA; MIZUBUTI ESG; MOUNTEER A. 2004a. Induction of systemic resistance by *Bacillus cereus* against tomato foliar diseases under field conditions. *Journal of Phytopathology* 152: 371-375.
- SILVA HSA; ROMEIRO RS; MACAGNAN D; HALFELD-VIEIRA BA; PEREIRA MCB; MOUNTEER A. 2004b. Rhizobacterial induction of systemic resistance in tomato plants: non-specific protection and increase in enzyme activities. *Biological Control* 29: 288-295.
- SOARES ACF; SOUSA CS; GARRIDO MS; PEREZ JO; ALMEIDA NS. 2006. Soil streptomycetes with in vitro activity against the yam pathogens *Curvularia eragrostides* and *Colletotrichum gloeosporioides*. *Brazilian Journal of Microbiology* 37: 456-461.
- TUITE J. *Plant Pathological Methods*. 1969. Minneapolis: Burgess Pub. Company. 239p.
- UYKHEDE RS. 1996. Potential and problems of developing bacterial biocontrol agents. *Canadian Journal of Plant Pathology* 18: 455-462.
- VAN LOON LC; BAKKER PAHM; PIETERSE, CMJ; DUFFY B; ROSENBERGER U; DEFAGO G. 1998. Induction and expression of PGPR-mediated induced resistance against pathogens. *Molecular Approaches in Biological Control* 21: 103-110.
- WEI G, KLOPPER JW; TUZUN S. 1991. Induction of systemic resistance with seed treatment by PGPR strains. *Bulletin SROP* 14: 191-194.
- YAN X; LIN M; LIU L. 2004. Screening of antagonistic streptomycete from soils against *Meloidogyne incognita*. *Chinese Journal of Biological Control* 20: 202-205.