

RIZOLYPTUS® NA PROTEÇÃO DE MINIESTACAS DE EUCALIPTO CONTRA *Puccinia psidii*

Livia Deice Raasch¹, Solange Maria Bonaldo², André Aparecido Fernandes de Oliveira³

¹Graduada em Engenharia Florestal da Universidade Federal de Mato Grosso – UFMT/*Campus Sinop*-MT – Brasil.

³Graduado em Agronomia da Universidade Federal de Mato Grosso – UFMT/*Campus Cuiabá*-MT – Brasil.

²Professora Doutora da Universidade Federal de Mato Grosso – UFMT/*Campus Sinop*. Avenida Alexandre Ferronato, 1.200, Reserva 35, Distrito Industrial, Cep: 78.557-267, Sinop, MT – Brasil. (sbonaldo@ufmt.br).

Recebido em: 04/05/2012 – Aprovado em: 15/06/2012 – Publicado em: 30/06/2012

RESUMO

A aplicação de rizobactérias promotoras de crescimento em plantas no controle de doenças como ferrugem do eucalipto, causada por *Puccinia psidii*, tem obtido resultados significativos, através da indução de resistência sistêmica ou ativação de mecanismos de defesa. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência do inoculante *Rizolyptus*®, que em sua formulação possui a rizobactéria *Bacillus subtilis*, na proteção de miniestacas de eucalipto, em viveiro florestal em Sinop/Mato Grosso. A inoculação do produto foi realizada de três maneiras distintas: diretamente no substrato, com veiculação na água de umedecimento do substrato; por imersão das miniestacas em suspensão de inóculo e pela combinação dos referidos métodos, sendo comparado com o tratamento padrão do viveiro. Foram avaliados dois clones de eucalipto, 1004 e H13, quanto a severidade e incidência da doença, através da Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD). Miniestacas inoculadas do clone 1004 apresentaram reduções na incidência da doença variando de 28,1 a 40,1%. A redução, quanto à severidade da doença, foi observada nos dois clones testados, 1004 (45,9%) e H13 (65,7 a 70,9%). Para avaliação da efetividade na redução das manchas foliares, além dos clones H13 e 1004, foram avaliados os clones GG100, 1277 e I144, com porcentual de reduções que variaram de 50,1% para inoculação na miniestaca e 96,9% para inoculação no substrato e na miniestaca. Essas reduções, induzida no hospedeiro, através da inoculação do produto pode constituir em um importante mecanismo de ação de controle biológico.

PALAVRAS-CHAVE: Rizobactérias, Inoculação, Doença.

RIZOLYPTUS® IN PROTECTION OF EUCALYPTUS MINI-CUTTINGS AGAINST *Puccinia psidii*

ABSTRACT

The application of growth promoting rhizobacteria on plants in the control of diseases such as eucalyptus rust caused by *Puccinia psidii* has achieved significant results through the induction of systemic resistance or activation of defense mechanisms. The objective of this study was to evaluate the effectiveness of the inoculant *Rizolyptus*®, which in its formulation has the rhizobacterium *Bacillus subtilis*, the

protection of eucalyptus cuttings in the nursery forest in Sinop/Mato Grosso. Inoculation of the product was carried out in three distinct ways: directly on the substrate, with placement in the water wetting of the substrate, by dipping the cuttings in suspension of inoculum and the combination of these methods, being compared with standard care nursery. We evaluated two eucalyptus clones, 1004 and H13, as the severity and incidence of the disease, through the Area Under the Disease Progress Curve (AUDPC). Cuttings inoculated clone 1004 showed reductions in disease incidence ranging from 28.1 to 40.1%. The reduction, and the severity of the disease was observed in two clones, 1004 (45.9%) and H13 (65.7 to 70.9%). To evaluate the effectiveness in reducing leaf spot, and H13 clones and 1004, clones were evaluated GG100, 1277 and I144, with percentage of leaf spots had reductions ranging from 50.1% in mini-cuttings for inoculation and 96.9% for inoculation substrate and mini-cuttings. These reductions, in the host induced by inoculation of a product may constitute an important mechanism of action of biological control.

KEYWORDS: Rhizobacteria, Inoculation, Disease.

INTRODUÇÃO

Com a expansão da eucaliptocultura no país, diversas doenças tem surgido nas fases de produção de mudas em viveiro e após o plantio a campo. Em viveiro, as doenças podem ocorrer nas fases de multiplicação de brotos para estaquia nos jardins e minijardins clonais, no enraizamento, aclimação à sombra e durante a aclimação a céu aberto, no crescimento e rustificação (ALFENAS *et al.*, 2009).

A ferrugem causada por *Puccinia psidii* Winter é uma das doenças mais severas na cultura do eucalipto ocorrendo principalmente na fase de muda no viveiro, em mini-jardins clonais destinados à produção de brotos para miniestaquia e até os dois primeiros anos de plantio afetando a multiplicação clonal do eucalipto (FERREIRA, 1989).

Dentre as alternativas de controle integrado desta e de outras doenças importantes do eucalipto, tem-se obtido resultados satisfatórios com o emprego de rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (PGPR) (ALFENAS & MAFIA, 2003). Como agentes de biocontrole, as PGPR, ativam mecanismos de defesa das plantas por um estímulo apropriado, seja por mecanismos de antibiose, competição, produção de compostos voláteis tóxicos e, ou, ou por indução de resistência sistêmica (LO, 1998), podendo seu efeito ser observado em locais da planta distantes do local de aplicação do indutor ou de forma localizada (TEIXEIRA *et al.*, 2005). Entre as PGPR, destacam-se espécies do gênero *Pseudomonas*, *Bacillus* e actinomicetos do gênero *Streptomyces* (MAHAFEE & KLOEPFER, 1994; LUZ, 1996).

Recentemente, através de estudos conduzidos, a equipe do professor Acelino Couto Alfenas, no Laboratório de Patologia Florestal da Universidade Federal de Viçosa (UFV) (Depósitos de Patentes PI0101400-5, 0014409 e 824921330), em cooperação com as principais empresas eucaliptocultoras nacionais, mostrou que isolados de rizobactérias selecionados, quando aplicados em minijardim, proporcionam maior produção e predisposição dos brotos de enraizamento (ALFENAS *et al.*, 2009). Além disso, certos isolados incorporados ao substrato podem estimular o enraizamento de estacas e miniestacas de eucalipto, promovendo incremento na biomassa e qualidade do sistema radicular, cujos ganhos nos índices de enraizamento podem ultrapassar 100%, dependendo do clone e do isolado de rizobactéria (MAFIA *et al.*, 2005a; TEIXEIRA *et al.*, 2007).

Obtendo também, junto aos ganhos em enraizamento, maior incremento na biomassa aérea, inclusive para mudas seminais (ALFENAS *et al.*, 2009).

Os resultados deste projeto resultaram no desenvolvimento do biofertilizante *Rizolyptus*®, a base de estirpes específicas de rizobactérias promotoras de crescimento, tendo basicamente em sua composição rizobactérias pertencentes a espécie *Bacillus subtilis*, com no mínimo 1×10^8 células viáveis/mL e agentes estabilizantes, formulado e comercializado pela Bio Soja Indústrias Químicas e Biológicas (São Joaquim da Barra, São Paulo), registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), que estimula a rizogênese de macroestacas e miniestacas de clones híbridos e espécies puras de *Eucalyptus* (informação pessoal, GONTIJO BIO SOJA, 2011). O nível de resposta varia de acordo com o clone e o tipo de manejo do viveiro (TEIXEIRA *et al.*, 2007; MAFIA *et al.*, 2009a).

MATERIAIS E MÉTODOS

Formas de veiculação e inoculação das miniestacas dos clones com o produto *Rizolyptus*®

As miniestacas utilizadas no experimento foram produzidas em um viveiro florestal localizado no município de Sinop-MT, testando dois clones de eucalipto, H13 (*Urograndis*) e 1004, híbridos das espécies *Eucalyptus urophylla* e *Eucalyptus grandis*, que foram coletados dos minijardins clonais, que continham sintomas de *Puccinia psidii*. Para avaliação na redução das manchas foliares, além dos clones H13 e 1004, foram utilizados os clones Grancan 1277 (*Grandis camaldulensis*) que é um híbrido da espécie *Eucalyptus camaldulensis* (Dehnh) e *Eucalyptus grandis*, GG 100 Gerdhau, e I144, híbridos das espécies *Eucalyptus urophylla* e *Eucalyptus grandis*, também coletados em minijardins clonais.

Os tubetes com capacidade de 50cm³ foram preenchidos com substrato contendo 50% de casca de arroz carbonizada, 50% de fibra de coco, 3kg de *Basacote*, com camada superficial de 2cm de vermiculita para cada tubete. Durante o preparo do substrato, o inoculante biológico *Rizolyptus*®, foi aplicado aos poucos, veiculado na água utilizada para umedecimento, na proporção de 2mL por 50cm³ de substrato e homogeneizado em misturador apropriado, de acordo com o protocolo utilizado pela empresa Bio Soja. O substrato padrão utilizado pelo viveiro, ou seja, sem a adição de inoculante foi utilizado como testemunha. Em todos os outros três tratamentos o inoculante foi aplicado de três maneiras distintas:

- 1 - diretamente no substrato
- 2 - por imersão das miniestacas em suspensão de inóculo
- 3 - pela combinação dos referidos métodos (MAFIA *et al.*, 2009c).

As miniestacas dos clones 1277, 1004 e I144, foram tratadas na base com ácido indolbutírico (AIB) no tratamento testemunha e no tratamento com inoculação somente no substrato, conforme tratamento padrão do viveiro.

Os experimentos foram montados, independentemente, para os clones H13 e 1004, em arranjo fatorial (4 isolados x 2 clones), em delineamento inteiramente casualizado composto de três repetições, cada uma constituída de 10 miniestacas, totalizando 24 parcelas. Para avaliação da eficiência do *Rizolyptus*® contra manchas foliares, os experimentos foram realizados também em arranjo fatorial (4 isolados x 5 clones), em delineamento inteiramente casualizado composto de três repetições, cada uma constituída de 10 miniestacas, totalizando 60 parcelas, considerando os cinco clones utilizados. Os dados de cada ensaio foram submetidos a análise de

variância (ANOVA), aplicando-se o teste F, no nível de 5% de probabilidade, e, posteriormente, as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott.

Os ensaios foram conduzidos, para cada clone, em delineamento inteiramente casualizado, de acordo com os tratamentos descritos no Quadro 1.

QUADRO 1. Descrição dos tipos de inoculação para cada tratamento.

Tratamento	Tipo de inoculação
1	Tratamento testemunha (sem inoculação do substrato e miniestaca).
2	Inoculação do substrato com <i>Rizolyptus</i> ®.
3	Inoculação da miniestaca com <i>Rizolyptus</i> ®.
4	Inoculação do substrato e da miniestaca com <i>Rizolyptus</i> ®.

Após o estaqueamento, as repetições em cada bandeja foram identificadas por clone e tratamento. As bandejas com as miniestacas estaqueadas foram transferidas para casa de enraizamento com cobertura plástica translúcida, nebulização intermitente variável de 3 a 5mL/tubete/dia e temperatura controlada (30° a 32°) durante 28 dias.

Após 15 dias de estaqueamento, na casa de enraizamento, foram observados o surgimento de sintomas de ferrugem do eucalipto nas miniestacas dos clones H13 e 1004, com esporulação de uredíniosporos, pulverulenta e de coloração amarelada sobre os órgãos afetados. As mudas de cada parcela foram numeradas e avaliadas individualmente com leituras durante o período de duas semanas, tendo início no mesmo dia de observados os sintomas, sendo feitas sete avaliações no total. Os intervalos entre as avaliações variaram de dois a três dias onde, até a 4ª avaliação houve um intervalo de dois dias entre as mesmas e a partir da 5ª até a 7ª o intervalo foi de três dias. Para determinar a incidência de doença nos indivíduos foram contabilizadas: a quantidade de folhas emitidas de cada muda e a quantidade afetada pela doença. Após a obtenção dos valores, foram feitas as percentagens de cada muda infectada e a média de cada repetição por clone e tratamento. Estimou-se a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e a análise estatística dos valores médios para cada tratamento. Para determinar a severidade, ou seja, nível de infecção da doença, as mudas infectadas foram avaliadas em uma escala de notas para avaliação da resistência do eucalipto, com quatro classes de severidade: S0 = imunidade ou reação de hipersensibilidade do tipo fleck ou necrótico; S1 = pústulas < 0,8 mm de diâmetro; S2 = pústulas de 0,8 a 1,6 de mm de diâmetro; e S3 = pústulas 1,6 mm de diâmetro (JUNGHAS *et al.*, 2003).

O cálculo da AACPD foi feito conforme equação proposta por CAMPBELL & MADDEN (1990):

$$AACPD = \sum_i^{n-1} (y_i + y_{i+1}) / 2X(t_{i+1} - t_i)$$

Onde n é o número de avaliações, y_i e y_{i+1} são os valores de incidência e severidade observadas em duas avaliações consecutivas e $t_{i+1}-t_i$, o intervalo entre duas avaliações.

Ocorrência de outras doenças causadas por agentes bióticos ou infecciosos

No mesmo período de ocorrência do patógeno *Puccinia psidii*, foram observados outros sintomas de infecção de agentes bióticos ou infecciosos (Figura

1) como, lesões foliares com manchas de coloração marrom, escurecimento do caule e progredindo para morte de algumas mudas. Para avaliação e identificação dos agentes bióticos, amostras de todos os clones e tratamentos foram coletadas para análise em laboratório.

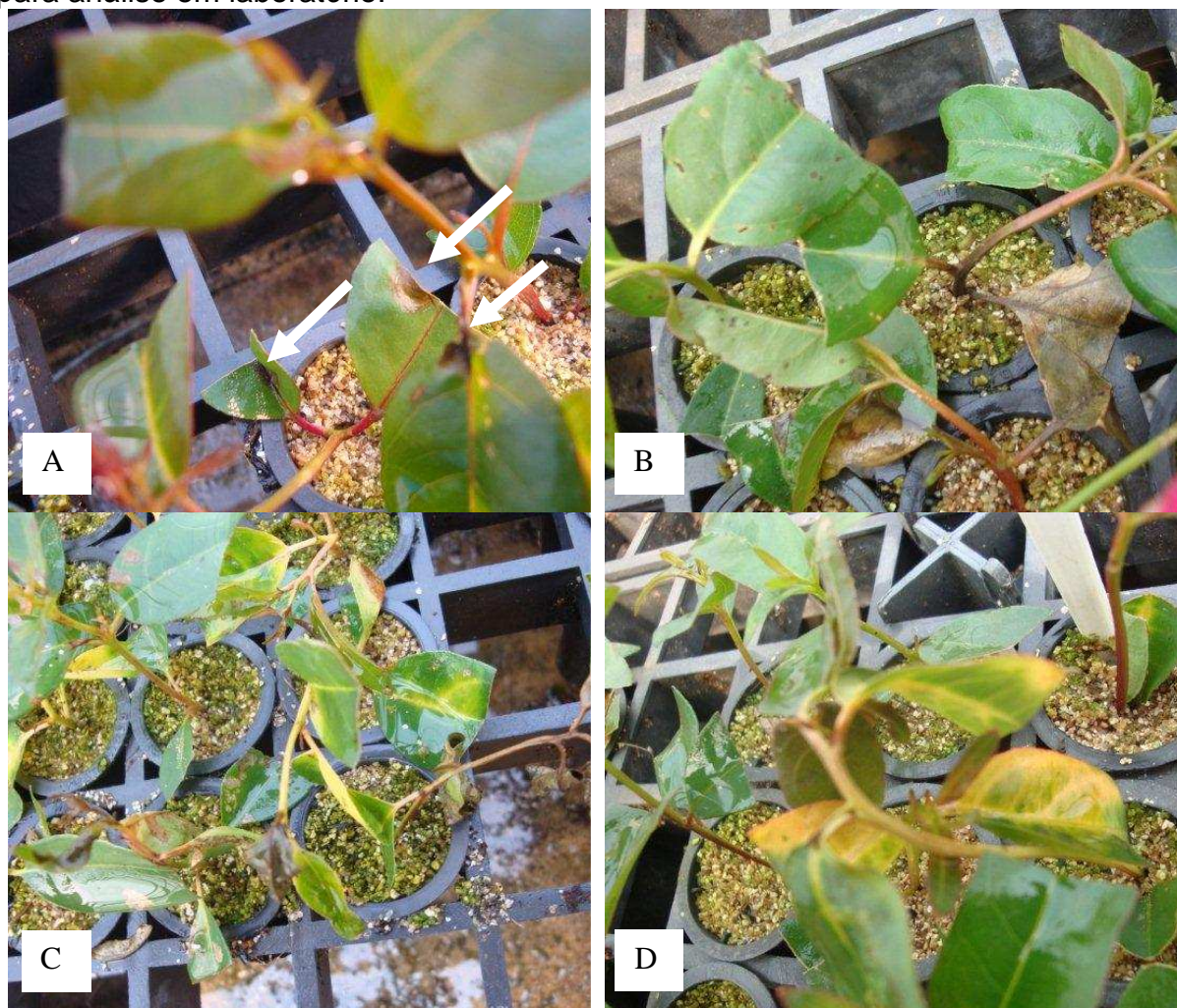


FIGURA 1. Agentes bióticos causadores de manchas foliares: **A.** Sintomas iniciais de mancha foliar; **B.** Folhas de miniestaca com 100% de infecção; **C e D.** Miniestacas com sintomas de agentes bióticos causando morte do ápice em direção a base.

Foram realizadas duas avaliações, com a retirada de folhas infectadas e miniestacas mortas. As amostras foram retiradas com o uso de luvas, acondicionadas em sacos plásticos e levadas para análises no laboratório de Fitopatologia/Microbiologia da Universidade Federal de Mato Grosso, *Campus Sinop*. No laboratório, a técnica realizada foi o método de isolamento indireto, sendo os patógenos diagnosticados através de características das colônias formadas e dos esporos.

Depois do isolamento, esperou-se que os fungos desenvolvessem frutificações para reconhecimento taxonômico por microscopia e características da colônia. Foram retiradas pequenas porções do meio de cultura contendo o fungo da placa de Petri e, colocados sobre uma lâmina, colorindo o material com azul de metileno, assentando sobre o mesmo uma lamínula, para que fossem feitas as análises diretamente sob o microscópio óptico (aumento final: 400x).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Resistência sistêmica a ferrugem (*Puccinia psidii*)

A indução de resistência a ferrugem do eucalipto *Puccinia psidii* foi obtida através do cálculo da AACPD, para os clones H13 e 1004, que foram susceptíveis a doença. A ocorrência da doença teve como principais fatores condicionantes, o fotoperíodo, temperatura e umidade. Em miniestacas produzidas com inoculação de rizobactérias, ocorreu menor incidência da doença em relação as miniestacas não inoculadas ($Pr < 0,05$).

As miniestacas do clone H13, com inoculação de *Rizolyptus*®, apresentaram redução na incidência da doença, que não diferiram significativamente do tratamento testemunha. Entretanto, como pode ser visto na Figura 2, mesmo não havendo diferença significativa, os tratamentos com inoculação no substrato e com inoculação na miniestaca e no substrato obtiveram uma redução de incidência de 32,2 e 59,9%, respectivamente. Essas reduções devem ser consideradas, uma vez que, mudas em situações de estresses tendem a reduzir seu metabolismo normal para produção de um mecanismo de defesa e proteção para superar o dano causado pela doença e sobreviver. Com a redução de seu metabolismo normal, há conseqüentemente redução e perdas no crescimento e enraizamento e até a morte do indivíduo, dependendo de sua severidade. Diante disso, pode-se sugerir a necessidade de experimentos distintos para com isso afirmar a ação dos tratamentos para individualizar as ações.

O clone de eucalipto 1004 apresentou maior incidência e severidade da doença (Figuras 2 e 3). A redução na incidência da doença foi significativa para os tratamentos com inoculação na miniestaca e inoculação no substrato e na miniestaca, comparados a testemunha com redução de 28,1 e 40,1%, respectivamente.

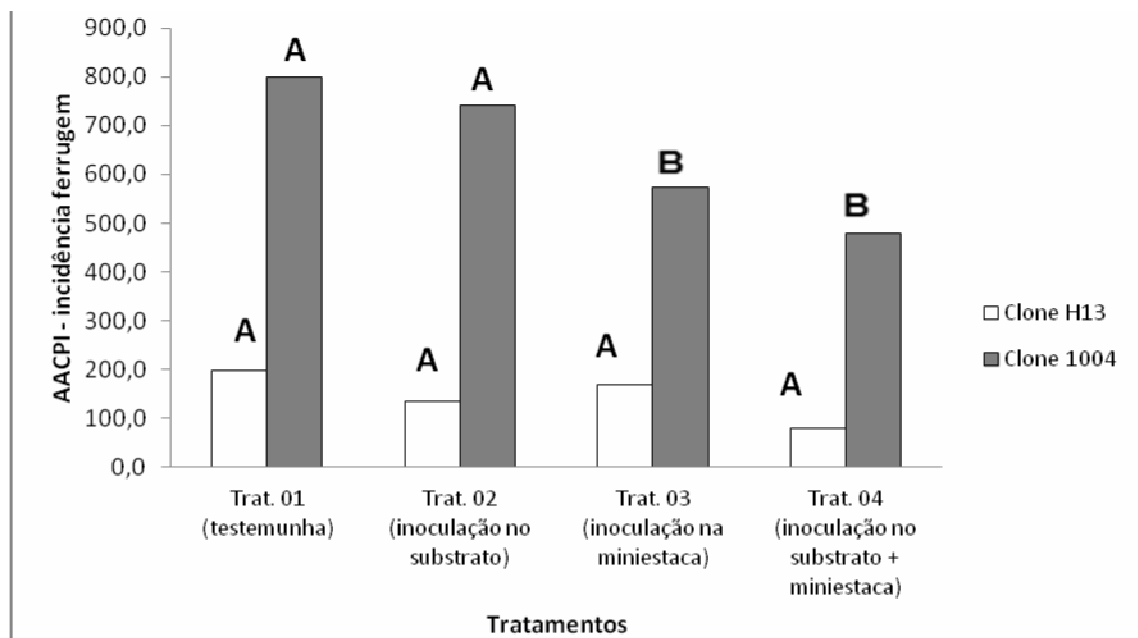


FIGURA 2. Área abaixo da curva de progresso de incidência de ferrugem (*Puccinia psidii*) (AACPI) dos clones H13 e 1004, propagados em diferentes tipos de inoculação de *Rizolyptus*® e não tratados (testemunha). Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

O efeito positivo da inoculação do produto, quanto a severidade da doença, está presente na Figura 3. A partir do cálculo da curva de AACPD, observou-se que nos dois clones em que houve sintomas da doença houve diferença significativa entre os tratamentos.

Quando se comparam a capacidade de redução dos níveis de severidade da doença, verificou-se que no clone 1004, somente o tratamento com inoculação no substrato e na miniestaca reduziu em 45,9%, nos níveis de severidade da doença, apresentando desempenho diferente a testemunha.

Em relação ao outro clone H13, os tratamentos com inoculação no substrato e com a inoculação no substrato e na miniestaca reduziram significativamente a severidade da doença quando comparados a testemunha, demonstrando que o inoculante *Rizolyptus*®, pode ser considerado agente potencial de supressão a esse patógeno. Os resultados indicaram, para o tratamento com inoculação no substrato, uma redução de 70,9%, demonstrando ser um mecanismo importante no controle da ferrugem. No tratamento com inoculação no substrato e miniestaca, a redução foi de 65,7% na severidade, comparado a testemunha.

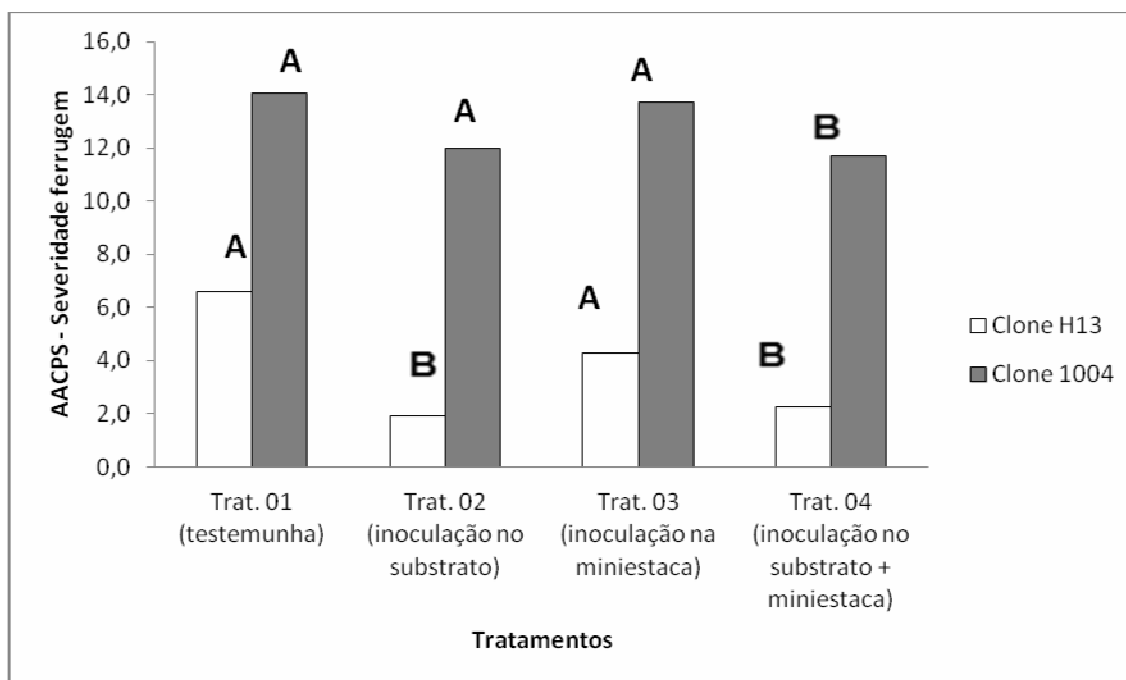


FIGURA 3. Área abaixo da curva de progresso da severidade da ferrugem (*Puccinia psidii*) (AACPS) dos clones H13 e 1004, propagados em diferentes tipos de inoculação de *Rizolyptus*® e não tratados (testemunha). Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Os resultados para o uso do *Rizolyptus*® quanto a capacidade de indução sistêmica a doenças em mudas de eucalipto, podem ser comparados com os obtidos por TEIXEIRA (2001), que ao testar 107 isolados obtidos da rizosfera de mudas de diferentes clones de eucalipto quanto ao potencial em promover enraizamento de miniestacas, observou que dois desses isolados foram bastante eficientes na redução de severidade de *P. psidii*, em relação as mudas enraizadas em substrato não-tratado com rizobactérias.

A resistência sistêmica induzida no hospedeiro com a utilização de rizobactérias pode constituir em um importante mecanismo de ação de controle biológico, permitindo reduzir a quantidade de fungicidas utilizados com consequente redução em problemas que possam surgir de isolados de patógenos resistentes a esses fungicidas.

O efeito positivo de aplicação de rizobactérias também foi verificado por TEIXEIRA *et al.*, (2005), obtendo um efeito significativo no controle da severidade da ferrugem do eucalipto através da ativação de mecanismos de defesa das plantas e induzindo a resistência sistêmica, seja por antibiose direta ou por indução de resistência, relacionado ao aumento de incremento na produção. Ainda segundo os mesmos autores, vários tipos de respostas ativas poderiam ser induzidas nas plantas para impedir o desenvolvimento do patógeno.

Segundo VAN LOON *et al.*, (1997) dentre estas respostas podem ser citadas o acúmulo de Proteínas Relacionadas com a Patogênese (PRPs) nos espaços intercelulares e nos vacúolos, lignificação e formação de papilas. No primeiro caso, no mecanismo de defesa, a ação ocorre diretamente quando o acúmulo ocorre nos espaços intercelulares ou indiretamente quando ocorre nos vacúolos (TEIXEIRA *et al.*, 2005). No mecanismo de lignificação, segundo ROMEIRO (1999), embora esse mecanismo ainda seja pouco estudado, sabe-se que a síntese de lignina é uma resposta de resistência, potencialmente induzida por agentes bióticos e abióticos, de caráter sistêmico e que pode estar intrinsecamente associada a Sistema de resistência adquirida (AR/ISR).

Isolados de rizobactérias S1 de *Bacillus subtilis* foram utilizados por CUNHA *et al.*, (2006), para estudo de efeito *in vitro* no controle de bactérias fitopatogênicas ao eucalipto, IP1-05 (*Pseudomonas chichorii* (Swingle) Stapp), RVV11 (*Rhizobium* sp.) e BSV16 (*Rhizobium* sp.), sendo este isolado de rizobactéria que promoveu maior inibição do crescimento da bactéria IP1-05.

Resistência sistêmica a manchas foliares

Os resultados dos testes da efetividade do inoculante *Rizolyptus*®, quanto a resistência sistêmica a manchas foliares, demonstraram a ocorrência de menor incidência de manchas foliares em substrato rizobacterizado. Nos clones H13, 1004, GG100 e 1277, as mudas produzidas com inoculação do produto *Rizolyptus*®, não diferiram da testemunha. Mas, em relação ao clone I144, a inibição dos patógenos das miniestacas tratadas com rizobactérias em todos os métodos de inoculação, apresentou resposta significativa. A efetividade da redução das manchas foliares variou conforme a veiculação de *Rizolyptus*® utilizada, tendo porcentual de reduções que variaram de 50,1% para inoculação na miniestaca e 96,9% para inoculação no substrato e na miniestaca.

O tratamento com inoculação do substrato e inoculação na miniestaca do clone 1004 teve comportamento diferenciado quanto a inibição dos patógenos, pois, não foi observada a incidência de manchas foliares mesmo sendo estatisticamente igual a testemunha (Figura 4).

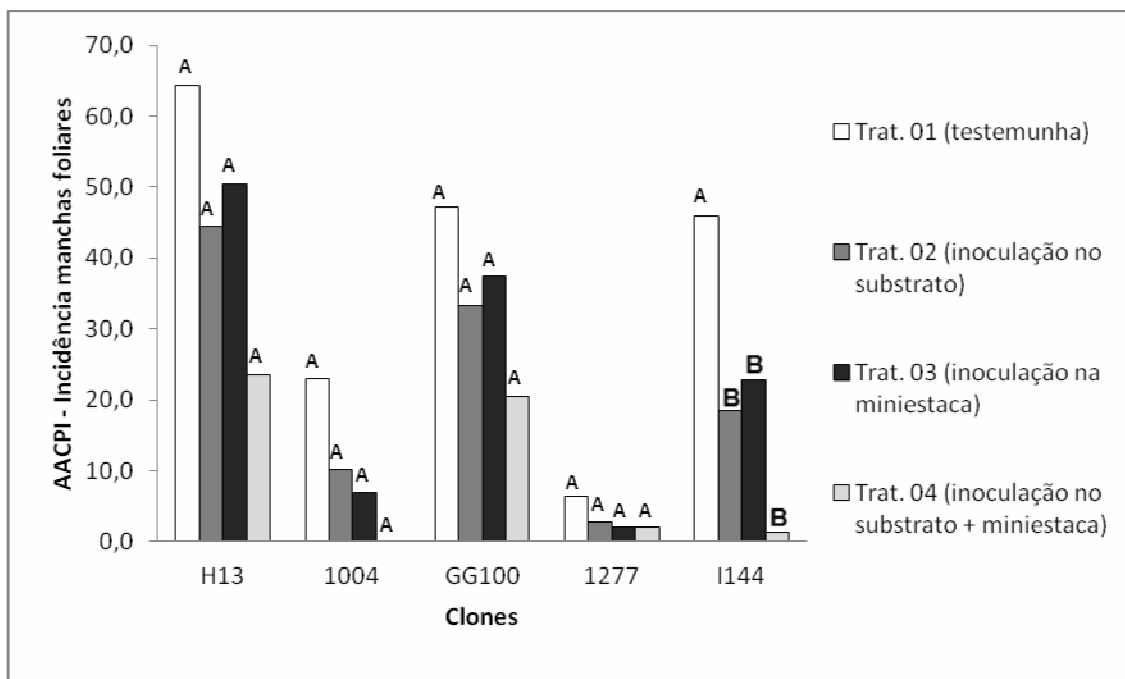


FIGURA 4. Área abaixo da curva de progresso de incidência das manchas foliares de todos os clones, propagados em diferentes tipos de inoculação de *Rizolyptus*® e não tratados (testemunha). Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

O efeito benéfico em mudas de eucalipto em substrato rizobacterizado no presente estudo, também foi observado por LADEIRA (2004) sobre a severidade da mancha foliar de *Q. eucalypti*, com redução de 73,4 a 74,5%. MAFIA (2004) ao empregar isolados pré-selecionados de rizobactérias obteve respostas significativas para controle de *C. candelabrum* (Viégas), propiciando de 61,0 a 70,7% de inibição ao patógeno para o isolado S2 (*B. subtilis*).

A determinação do modo de ação de *Bacillus* spp. no controle de doenças tem sido avaliada para diversas culturas agrônomicas. FERRO *et al.*, (2008) avaliaram o controle da mancha angular do algodoeiro, *Xanthomonas axonopodis* (Starr & Garces) mediado por isolados dessa bactéria, garantindo o controle de 3,09 a 67,36%, em relação a testemunha não tratada, por diferentes mecanismos de atuação, por maior parte dos isolados testados.

Os mecanismos utilizados por rizobactérias promotoras de crescimento em plantas são numerosos e, provavelmente mais de um modo de ação deve estar ativo nas associações entre plantas e rizobactérias; sendo certas rizobactérias, capazes de atuar como agentes indutores de resistência sistêmica, no sentido em que a planta fica protegida contra mais de um patógeno (HARTMANN, 2009).

CONCLUSÃO

A interação entre o inoculante biológico *Rizolyptus*® e os clones de eucalipto no controle de *Puccinia psidii* para os clones H13 e 1004 e, de fitopatógenos causadores de manchas foliares em todos os clones, apresentou potencial nos resultados, promovendo resistência sistêmica induzida no hospedeiro, diminuindo a severidade e incidência das doenças.

AGRADECIMENTOS

À empresa Bio Soja Indústrias Químicas e Biológicas pelo fornecimento do produto à pesquisa.

Ao Viveiro Flora Sinop/Sinop-MT, por disponibilizar a estrutura necessária a condução dos experimentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFENAS, A.C.; MAFIA, R.G. Controle integrado de doenças em viveiros clonais e aspectos relativos a ferrugem (*Puccinia psidii*) do eucalipto. **Fitopatologia Brasileira**, v.28, p.156-163, 2003.

ALFENAS, A.C.; ZAUZA, E.A.V.; MAFIA, R.G.; ASSIS, T.F. **Clonagem e doenças do eucalipto**. 2 ed. Ed. UFV. Viçosa, MG: UFV, 2009. 500p.

CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. **Introduction to Plant Disease Epidemiology**. New York. John Wiley & Sons. 1990.

CUNHA, J.F.; PICOLI, E.A.T; ALFENAS, A.C.; GONÇALVES, R.C. Efeito “in vitro” de antibióticos e rizobactérias no controle de bactérias fitopatogênicas ao *Eucalyptus* spp. **Revista Árvore**, Viçosa, MG. v.30, n.6, p.871-876, 2006.

FERREIRA, F.A. Ferrugem do eucalipto. In: **Patologia florestal** – principais doenças florestais no Brasil. Viçosa, MG, Sociedade de Investigações Florestais/Universidade Federal de Viçosa, p.129-146, 1989.

FERRO, H.M; SOUZA, R.M.; MEDEIROS, F.H.V; SANTOS NETO, H.; ZANOTTO E.; MARTINS, S.J.; XIMENES, M.C. Modos de ação de *Bacillus* spp. no controle da mancha angular do algodoeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, Lavras, MG, 2008. **Resumos expendidos...**Lavras: SBF, p.132, 2008.

HARTHMANN, O.E.L. **Microbiolização de sementes com rizobactérias na produção de cebola**. 2009. 117f. Dissertação (Doutorado em Produção Vegetal). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2009.

JUNGHANS, D.T., ALFENAS, A.C.; MAFFIA, L.A. Escala de notas para quantificação da ferrugem em *Eucalyptus*. **Fitopatologia Brasileira**, v.28, p.184-188. 2003.

LADEIRA, M.C.G. **Biocontrole de *Quambalaria eucalypti* por meio de rizobactérias**. 2004, 46f. Tese (Pós-Graduação em Fitopatologia). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2004.

LO, C.T. General mechanisms of action microbial biocontrol agents. **Plant Pathology Bull**, v.7, p.155-166, 1998.

LUZ, W.C. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e bioproteção. **Revisão Anual de Patologia de plantas**, v.1, p.1-50, 1996.

MAFIA, R.G. **Rizobactérias como promotoras do enraizamento, crescimento e como agentes de biocontrole de doenças na propagação clonal do eucalipto**.

2004. 105f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2004.

MAFIA, R.G.; ALFENAS, A.C.; FERREIRA, E.M.; BINOTI, D.H.B.; MAFIA, G.M.V.; MOUNTEER, A.H. Root colonization and interaction among growth promoting rhizobacteria isolates and eucalypts species. **Revista Árvore**, Viçosa, MG. v. 33, n.1, p.1-9, 2009a.

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**, Viçosa, MG. v.35, n.5, p.789-797, 2009c.

MAFIA, R.G.; ALFENAS, A.C.; FERREIRA, E.M.; ZARPELON, T.G.; SIQUEIRA, L. Crescimento de mudas e produtividade de minijardins clonais de eucalipto tratados com rizobactérias selecionadas. **Revista Árvore**, Viçosa, MG. v.29, n.6, p.843-851, 2005a.

MAHAFEE, W.F.; KLOEPPER, J.W. Application of plant growth promoting rhizobacteria in sustainable agriculture. In: PANKHURST, C.E.; DOUBE, B.M.; GUPTA, V.V.S.R.; GRACE, P.R. (Eds.). **Soil biota: management in sustainable farming systems**. Victoria, Australia: CSIRO, p.23-31, 1994.

ROMEIRO, R.S. Indução de Resistência em plantas a patógenos. Viçosa, UFV. **Cadernos didáticos**, v.56, 1999, 46p.

TEIXEIRA, D. A. **Promoção de enraizamento e indução de resistência sistêmica à ferrugem e a mancha-de-Cylindrocladium, mediadas por rizobactérias em clones de *Eucalyptus* spp.** Viçosa, MG, UFV, 2001. 67f. Tese (Doutorado em Fitopatologia). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2001.

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

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

VAN LOON, L.C.; BAKKER, P.A.H.M.; PIETERSE, C.M.J. **Mechanisms of PGPR-induced resistance against pathogens**. In: Proc. of Fourth Int. workshop on plant-growth-promoting rhizobacteria. Sapporo, Japan, p.50-57, 1997.