

EFEITO DA MICROBIOLIZAÇÃO DE SEMENTES COM RIZOBACTÉRIAS FLUORESCENTES DO GÊNERO *Pseudomonas* SOBRE A “MURCHA FUSARIANA” DO FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.)¹

²ARMANDO MARTINS; [†]OSAMU KIMURA; ³RAUL DE LUCENA DUARTE RIBEIRO; ⁴JOSÉ IVO BALDANI

²Mestrado, Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, UFRuralRJ; ³Instituto de Agronomia, UFRuralRJ; BR465, Km 07, 23851-970- Seropédica, RJ, Brasil; ⁴Embrapa Agrobiologia, BR465, Km 07, 23851-970- Seropédica, RJ, Brasil.
Correspondência: Fax: 2682-1230, e-mail: ibaldani@cnpab.embrapa.br; [†]*In memoriam*.

RESUMO

Foram selecionadas rizobactérias do gênero *Pseudomonas*, grupo fluorescente, visando ao controle de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). Quarenta isolados obtidos de rizosfera, raízes e nódulos de feijoeiro foram testados, *in vitro*, quanto à capacidade de inibir seis isolados do fungo, procedentes de regiões onde ocorre a “murcha fusariana”. As avaliações (medições dos halos de inibição) foram efetuadas de 7 a 14 dias após a transferência de discos veiculando culturas puras do patógeno para placas de Petri, contendo meio B de King ou BDA, previamente inoculadas com as rizobactérias. Sementes da cultivar de feijoeiro Rosinha, suscetível ao patógeno, foram microbiolizadas com as rizobactérias ENA 4413, ENA 4419 e ENA 4414, que apresentaram maior antagonismo ao *F.oxysporum* f.sp. *phaseoli* nos testes *in vitro*, e plantadas em potes com solo artificialmente infestado com *F.oxysporum* para avaliar a eficácia dos isolados bacterianos na proteção das plantas contra a doença. O isolado ENA 4413 apresentou alto potencial de controle, garantindo a sobrevivência de cerca de 80% das plantas crescendo em solo infestado com o agente causal da “murcha fusariana”. De modo geral, isolados que produziram pigmentos fluorescentes com maior intensidade também apresentaram maior antagonismo a *F.oxysporum* f.sp. *phaseoli*, tanto *in vitro* quanto na casa-de-vegetação. Os resultados indicaram que o uso de rizobactérias do gênero *Pseudomonas* para o biocontrole de *F.oxysporum* f.sp. *phaseoli* pode vir a representar uma alternativa viável, principalmente em áreas onde variedades de feijoeiro geneticamente resistentes não sejam disponíveis.

Palavras chave: biocontrole, rizosfera, *Fusarium*.

ABSTRACT

EFFECTS OF SEED MICROBIOLIZATION WITH FLUORESCENT RHIZOBACTERIA OF THE *Pseudomonas* GENUS ON THE CONTROL OF FUSARIUM YELLOWS IN COMMON BEANS (*Phaseolus vulgaris* L.)

Rhizobacteria belonging to the fluorescent group of the genus *Pseudomonas* were screened for the control of *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*. Forty isolates of fluorescent pseudomonads, obtained from bean rhizosphere, roots and nodules were tested for their ability to inhibit growth of six isolates of *F.o. f.sp.phaseoli* *in vitro*. Such fungal isolates came from bean growing areas where “Fusarium yellows” had been detected. Evaluations took place 7 to 14 days after transfer to Petri dishes of discs with pure cultures of the pathogen. Those dishes containing King’s B or PDA medium had been previously inoculated with the rhizobacterial isolates. Diameters of inhibition haloes were determined and used as a guide for selecting antagonistic pseudomonads. Subsequently, greenhouse experiments with the “yellows”- susceptible Rosinha bean cultivar were carried out to detect bacterial isolates efficient against *F.o. f.sp.phaseoli* *in situ*. The isolates ENA 4413 and ENA 4419 showed the most striking antagonistic effect toward the pathogen both *in vitro* and in greenhouse tests. Isolate ENA 4413 was able to account for the survival of about 80% of the plants growing in pots with *F.oxysporum* f.sp. *phaseoli* infested soil. In general, bacterial isolates which produced stronger fluorescent pigmentation in culture also showed the highest inhibition effect on the fungus. These results indicate the potential of fluorescent *Pseudomonas* spp. rhizobacteria as an alternative for the biocontrol of “bean yellows” causal agent.

Key words: biocontrol, rhizosphere, *Fusarium*.

¹Parte da tese do primeiro autor apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia da UFRuralRJ para obtenção do título de Mestrado.

INTRODUÇÃO

As doenças infecciosas constituem um dos fatores que mais interferem no baixo rendimento da cultura do feijoeiro no Brasil (Zambolim *et al.*, 1982). Dentre elas, destaca-se a “murcha fusariana”, causada por *Fusarium oxysporum* Schlecht f.sp. *phaseoli* Kendrik & Snyder, que foi relatada pela primeira vez na Califórnia, EUA, em 1928. No Brasil, entretanto, somente foi assinalada em 1966, sendo possível que já ocorresse muito antes em nosso meio (Kimati, 1980). A doença foi constatada inicialmente em feijão-vagem, cultura na qual provoca sérios danos, determinando mudanças periódicas das áreas de plantio. O mesmo vem ocorrendo com o feijão seco em regiões produtivas do estado de Minas Gerais (Vieira *et al.*, 1998). O fungo causador da doença, atuando no sistema vascular, chega a ser de caráter letal, principalmente naquelas cultivares de mais alta suscetibilidade (Kimati, 1980; Vargas, 1980; Kraft *et al.*, 1981; Vielra, 1983, Hagedorn, 1991). O emprego de variedades resistentes é a prática mais eficaz e econômica contra a “murcha fusariana” do feijoeiro (Zambolim *et al.*, 1982; Lanza *et al.*, 1997). As práticas culturais são de eficiência duvidosa e a aplicação de fungicidas pode não ser viável devido ao alto custo (Kimati, 1980), além de riscos de natureza ecotoxicológica.

Rizobactérias do grupo fluorescente das pseudomonas têm mostrado capacidade de bioproteção contra patógenos que sobrevivem no solo e infectam plantas através do sistema vascular (Luz, 1996). Em relação às leguminosas cultivadas, *Pseudomonas fluorescens* foi eficiente no controle de *Aphanomyces euteiches* em ervilha (Parke *et al.*, 1991) e de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* em grão-de-bico (Vidhyasekaran & Muthamllan, 1995; Dileep Kumar, 1999). Resultados promissores no controle de “damping-off” causado por *Pythium ultimum* ou *Rhizoctonia solani* foram observados através da inoculação da leguminosa forrageira cornichão (*Lotus corniculatus* L.) com estirpes nativas de *P. fluorescens* isoladas no Uruguai (Bagnasco *et al.*, 1998). No Brasil, Reis & Mariano (1996) apontaram perspectivas do controle de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* por *P. fluorescens*, que demonstrou alto potencial de antagonismo mediante testes *in vitro*.

O objetivo do presente estudo foi de selecionar *in vitro*, isolados do grupo fluorescente do gênero *Pseudomonas*, obtidos de rizosfera, raízes e nódulos do feijoeiro, quanto a capacidade de inibir o crescimento do fungo, bem como de avaliar sua eficiência na proteção de plantas cultivadas em solo artificialmente infestado com o agente da “murcha fusariana”.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Obtenção dos isolados

Foram usados 40 isolados de espécies do grupo

fluorescente do gênero *Pseudomonas* obtidos de nódulos, raízes e, principalmente, da rizosfera de feijoeiro, a partir de amostras coletadas em diferentes regiões do estado do Rio de Janeiro. Os isolados de *F. oxysporum* f.sp. *phaseoli* foram provenientes das micotecas da Área de Fitopatologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (ENA 563 e ENA 2358) da ESALQ, Universidade de São Paulo (ESALQ 4 e ESALQ 5) e da Embrapa Arroz e Feijão (CNPAF46 e CNPAF53).

2. Testes de antagonismo *in vitro*.

Inicialmente foram testados os métodos de riscagem associada à camada dupla de ágar, camada dupla com ponto único ou com três pontos equidistantes (Araújo, 1995) e de cultura pareada, optando-se por este último. Dois discos de 5 mm de diâmetro foram removidos de colônias de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, com sete dias de idade em BDA, e transferidos para pontos equidistantes (70 mm) em placas de Petri contendo meio de cultura. Após 48 h de incubação a 30°C, suspensões de células bacterianas foram riscadas entre os discos, exceto nas placas-testemunha. As avaliações consistiram de medições do crescimento linear das colônias do fungo. Foram usadas três repetições para cada rizobactéria.

3. Preparo das suspensões bacterianas

As suspensões de *Pseudomonas* spp. fluorescentes foram preparadas a partir de culturas com 48 h de crescimento em meio B de King (King *et al.*, 1954), sendo as células transferidas para tubos de ensaio com 10 ml com MgSO₄ na concentração de 0,1 M, posteriormente submetidos a agitação mecânica por 1 min. A concentração dessas suspensões foi ajustada para densidade óptica de 0,2 (aproximadamente 1,1x10⁸ufc/ml) a 660 nm. A cada suspensão, foi adicionado o espalhante adesivo Tween 80 (monolaureato de polietileno sorbitol) na concentração de 0,05 %.

4. Teste de antagonismo na casa-de-vegetação.

Sementes de feijão da cv. Rosinha, suscetível ao patógeno, foram desinfestadas em álcool 96° (30 seg.), H₂O₂ (32 %) por 1½ min., sendo então lavadas (10 vezes) em água destilada e esterilizada. Após secagem por 45 min. à temperatura de 25°C, as sementes foram microbiolizadas mediante imersão por 2 h. nas suspensões bacterianas. O tratamento testemunha foi constituído de sementes imersas em solução de MgSO₄ (0,1 M) + Tween 80 (0,05 %). Após secagem por 2 h., as sementes foram plantadas em potes contendo 3 kg de solo esterilizado e previamente infestado com cada isolado de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Para o preparo do inóculo, os isolados do fungo foram cultivados em arroz esterilizado com 50 % de água destilada, durante oito dias sob luz intermitente (12 h. de luz/dia), à temperatura de 24°C e 60 % de umidade relativa do ar. Após esse período, as culturas foram transferidas para sacos de papel, onde permaneceram, sob ventilação constante, até secagem. Depois de seco, o substrato

contendo o patógeno foi triturado em liquidificador e peneirado (40 mesh), obtendo-se um pó fino usado para adicionar aos potes, na proporção de 10 g/kg de solo.

5. Amostragem das plantas.

As amostras foram coletadas em dias alternados, após surgimento dos primeiros sintomas da doença, o que ocorreu 20 dias após a emergência das plântulas. O período total das amostragens durou 12 dias quando as plantas do tratamento controle positivo (solo infestado somente com o fungo ESALQ4) secaram totalmente. Determinaram-se: número de folhas murchas, de plantas mortas, de plantas assintomáticas e a presença do patógeno e das rizobactérias nas plantas. O experimento foi montado segundo delineamento experimental

inteiramente casualizado, com três repetições para cada época de coleta.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. Ensaio *in vitro*

Foram testadas 40 rizobactérias, as quais apresentaram acentuada variação quanto à produção de pigmento fluorescente no meio B de King (Figs. 1A e 1B). Esses isolados foram também diferenciados quanto à indução de halos de inibição do crescimento do patógeno em meio B de King (Fig. 1C), sendo separados em três grupos: 1 - indutores de halos maiores que 10 mm; 2 - indutores de halos entre 5 e 10 mm e, 3 - indutores de halos inferiores a 5 mm.

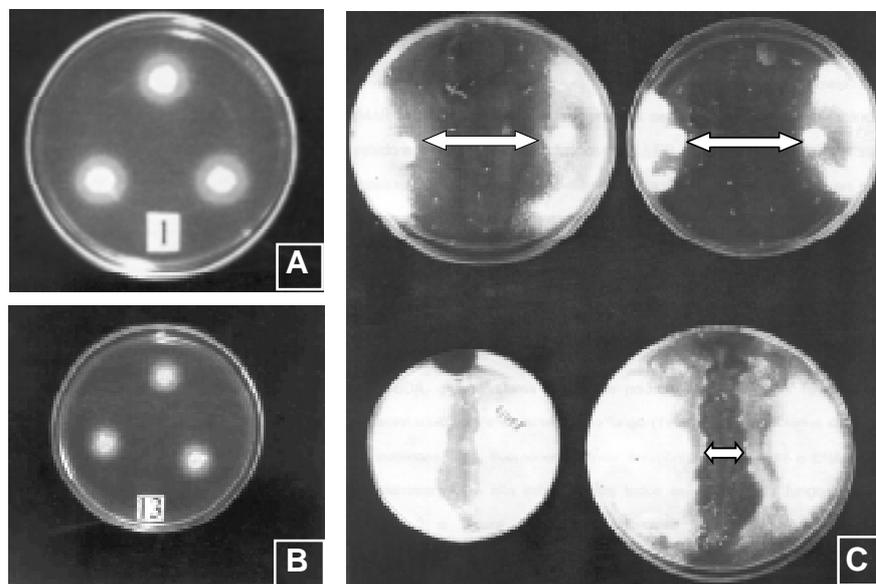


Figura 1- Produção de fluorescência por rizobactérias do gênero *Pseudomonas* crescidas em meio B de King (Figs. A e B) e inibição do crescimento de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* induzida por isolados rizobacterianos com diferentes graus de antagonismo (Fig. C). As setas indicam o grau de antagonismo promovido pelas rizobactérias no crescimento do fungo.

Das rizobactérias testadas, cerca de 5% foram consideradas altamente eficazes (grupo 1), a grande maioria (87,5%) de antagonismo intermediário (grupo 2) e somente 7,5% (grupo 3) de baixo antagonismo (Tabela 1). Os mesmos isolados foram avaliados em meio BDA, onde somente ENA 4419 induziu halos superiores a 10 mm para todos os isolados do patógeno; cerca de 25% dos isolados bacterianos acarretaram halos inferiores a 5 mm e a grande maioria deles (72,5%) induziu halos entre 5 e 10 mm. A diferença no grau de antagonismo entre os meios BDA e B de King pode ser em parte devida à baixa produção de pigmentos fluorescentes no BDA, pigmentos estes que teriam em sua composição substâncias inibidoras do crescimento de fungos (Weller, 1988; Thomashow *et al.*, 1990).

Com relação ao comportamento dos isolados de *F.oxysporum* f.sp. *phaseoli* frente aos 40 isolados

rizobacterianos, verificou-se, de maneira geral, pequena variabilidade, a julgar pelos halos de inibição formados em meio B de King (Tabela 1). Os isolados de *Pseudomonas* spp (ENA 4413 e ENA 4419), apresentaram alto grau de inibição para todos os isolados do fitopatógeno testados (Tabela 1, Fig. 2). É oportuno salientar que as bactérias que induziram maior inibição foram aquelas de mais pronunciada fluorescência, como as estirpes ENA 4413, isolada da rizosfera, e ENA 4419 originária de nódulos radiculares de feijoeiro. De uma maneira geral, as bactérias oriundas de nódulos foram aquelas que promoveram maior antagonismo aos isolados do fungo (Fig. 3). Alguns autores relataram que maior ou menor antagonismo a agentes fitopatogênicos relaciona-se à produção de pigmentos esverdeados em cultura, principalmente substâncias do grupo das fenazinas, caracterizadas por um alto efeito

inibidor sobre diversos gêneros de fungos que habitam o solo, tais como: *Pythium*, *Rizoctonia*, *Sclerotium*, *Sclerotinia* e *Fusarium* (Norris & Rouse, 1985). Essa amplitude de antagonismo pode ser atribuída a uma série de propriedades das rizobactérias, em especial aquelas do grupo presentemente pesquisado. O ácido hidrociânico (Bagnasco *et al.*, 1998) e/ou outros produtos do metabolismo poderiam estar atuando, tendo em vista que mesmo com as rizobactérias mortas, halos de inibição foram detectados, como já havia sido relatado por outros autores (Luz, 1991; 1993). Em experimentos utilizando rizobactérias produtoras de pirolnitrina, eficiente contra *Rizoctonia solani*, e de pioluteorina contra *Pythium ultimum*, o mesmo fenômeno foi constatado (Howell & Stipanovic, 1980). Outro possível

envolvimento com o antagonismo encontrado é a produção de fenazina 1- carboxilato, substância que, segundo Brisbane & Rovira (1988) e Thomashow & Weller (1988), apresenta-se ativa contra *Gaeumannomyces graminis* e outros patógenos de raízes. Adicionalmente, pode ter havido competição por elementos requeridos ao desenvolvimento do patógeno, por exemplo o Fe⁺³, como já registrado por Luz (1996). Deve-se ainda considerar a exclusão de nichos de colonização devido à rápida multiplicação das rizobactérias, conforme discutido por Kloepper *et al.* (1980) e por Suslow & Schroth (1982), assim como o próprio parasitismo através da degradação da parede celular dos fungos fitopatogênicos.

Tabela 1- Halos de inibição do crescimento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em meio B de King induzidos por rizobactérias fluorescentes do gênero *Pseudomonas*.

Rizobactéria	Isolado de <i>Fusarium</i>						Halo médio(mm)
	ESALQ 4	ESALQ 5	CNPAF 46	CNPAF 53	ENA 563	ENA 2358	
ENA.4399	5	6	7	3	5	7	5.5 ab
ENA.4400	6	3	5	7	4	5	5.0 ab
ENA.4401	4	4	5	7	5	7	5.3 ab
ENA.4402	3	5	4	5	5	6	4.7 c
ENA.4403	4	5	6	4	5	7	5.2 ab
ENA.4404	6	5	4	8	6	6	5.8 ab
ENA.4405	8	7	5	8	9	3	6.7 ab
ENA.4406	4	5	4	6	7	8	5.7 ab
ENA.4407	6	8	7	4	2	1	4.7 c
ENA.4408	8	7	5	6	3	4	5.5 abc
ENA.4410	5	6	7	5	4	3	5.0 abc
ENA.4411	7	5	4	3	8	7	5.7 abc
ENA.4412	5	7	6	4	2	5	4.8 bc
ENA.4413	11	10	9	7	11	13	12.2 a
ENA.4414	9	7	8	5	10	12	8.5 ab
ENA.4415	8	8	5	6	8	11	7.7 ab
ENA.4416	7	7	7	7	7	10	6.4 abc
ENA.4417	5	5	8	5	5	8	6.0 abc
ENA.4418	8	8	6	9	11	7	8.5 ab
ENA.4419	10	11	13	12	14	15	12.5 a
ENA.4429	9	7	5	6	7	5	6.5 abc
ENA.4430	5	8	6	4	5	8	6.0 abc
ENA.4431	7	5	5	9	7	5	6.4 abc
ENA.4432	4	4	8	2	8	7	5.5 abc
ENA.4433	8	7	5	5	5	8	6.4 abc
ENA.4434	6	9	4	7	4	7	6.2 abc
ENA.4435	3	2	7	9	5	5	5.2 abc
ENA.4437	7	5	9	2	7	5	5.8 abc
ENA.4438	8	8	2	5	6	8	6.2 abc
ENA.4439	5	7	4	8	8	7	6.5 abc
ENA.4440	4	5	8	7	8	5	6.2 abc
ENA.4441	7	6	5	5	7	6	6.0 abc
ENA.4442	9	5	4	5	5	5	5.5 abc
ENA.4443	2	9	7	8	6	7	6.5 abc
ENA.4444	5	7	8	7	5	8	6.7 abc
ENA.4446	8	5	5	5	4	5	5.4 abc
ENA.4447	7	7	7	6	7	4	6.4 abc
ENA.4448	5	9	8	5	9	7	7.2 ab
ENA.4449	6	2	7	6	2	9	5.4 abc
ENA.4450	5	5	5	8	7	2	5.4 abc
Média	5.9 A	6.3 A	6.0 A	5.7 A	6.3 A	6.7 A	

Os valores representam médias de 3 repetições; médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

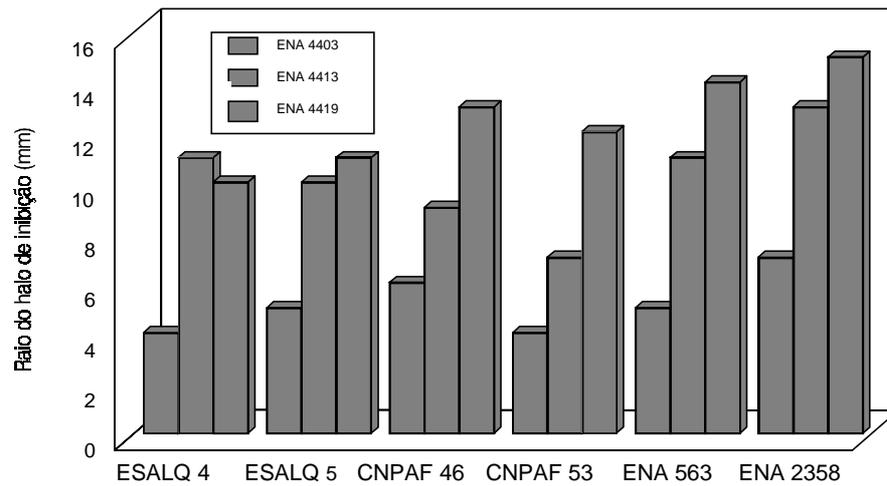


Figura 2- Antagonismo *in vitro* de três rizobactérias fluorescentes do gênero *Pseudomonas* sobre seis isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*.

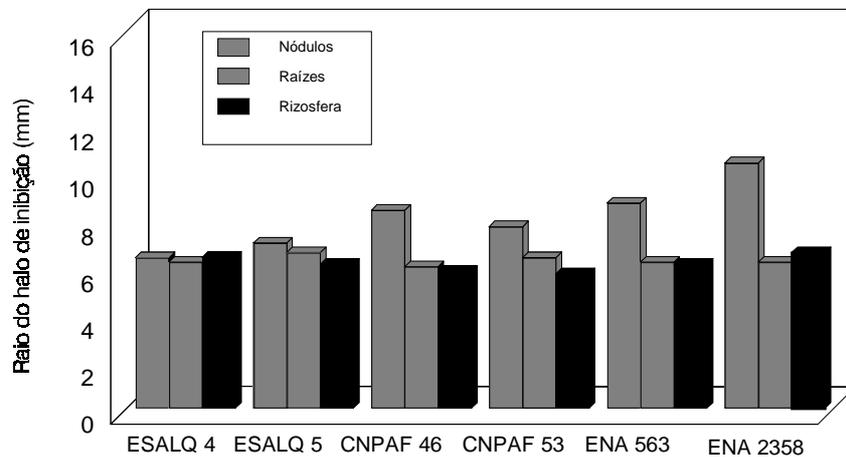


Figura 3- Antagonismo de bactérias fluorescentes do gênero *Pseudomonas*, provenientes de nódulos radiculares, raízes e rizosfera de feijoeiro, sobre seis isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*.

Com base nos resultados *in vitro*, foram selecionadas duas rizobactérias mais antagonistas (ENA 4413 e ENA 4419) e uma de menor antagonismo (ENA 4414) para um estudo subsequente em casa-de-vegetação.

2. Experimento em casa-de-vegetação

As plantas originadas de sementes não microbiolizadas e crescendo em solo infestado com o isolado ESALQ 4 de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* desenvolveram sintomas severos da “murcha fusariana”. Com 32 dias, a contar da semeadura, 100% das plantas já haviam perecido. O isolado ENA 4413 foi o que mostrou maior nível de proteção do feijoeiro contra o patógeno (Fig. 4). Mesmo assim, cerca de 10% das folhas apresentaram sintomas da doença (amarelecimento e murcha), embora só tenham sido observados a partir da terceira avaliação (Fig. 4).

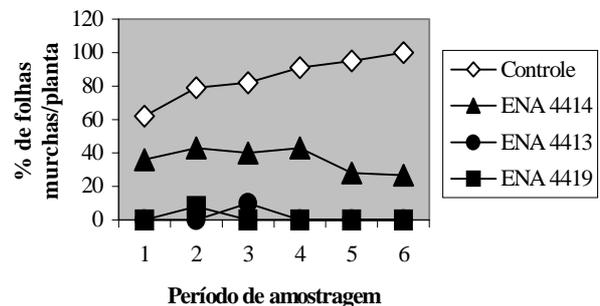


Figura 4- Efeito da microbiolização de sementes com isolados rizobacterianos de *Pseudomonas* spp. do grupo fluorescente (ENA 4413, ENA 4414 e ENA 4419) no percentual de folhas murchas em plantas de feijoeiro (cv. Rosinha) crescendo em solo artificialmente infestado com *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*.

O isolado ENA 4419 também foi eficiente, porém sintomas foliares foram detectados na segunda data de amostragem. Já o isolado ENA 4414 apresentou nível de proteção mais baixo contra o patógeno, que chegou a causar murchamento em até 40% das folhas. De modo geral, os isolados apresentaram elevado índice de proteção, constatando-se, ao final do ensaio, 50, 65 e 80% de plantas sem sintomas de murcha em decorrência da microbiolização das sementes com ENA 4414, ENA 4419 e ENA 4413, respectivamente (Fig. 5). Assim, os resultados do estudo na casa-de-vegetação refletiram aqueles obtidos nos testes *in vitro*, onde os isolados rizobacterianos ENA 4413 e ENA 4419 apresentaram maior antagonismo ao patógeno (Tabela 1).

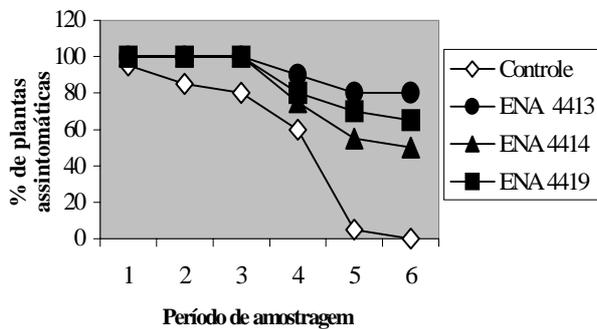


Figura 5- Efeito da microbiolização de sementes com isolados rizobacterianos de *Pseudomonas* spp. do grupo fluorescente (ENA 4413, ENA 4414 e ENA 4419) no percentual de plantas assintomáticas de feijoeiro (cv. Rosinha) crescendo em solo artificialmente infestado com *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*.

A proteção proporcionada pelos isolados rizobacterianos pode estar também ligada à resistência induzida, mecanismo já descrito para o feijoeiro e para outras espécies cultivadas (Van Loon *et al.*, 1998). Dessa forma, apesar de as plantas originadas de sementes microbiolizadas com rizobactérias apresentarem-se assintomáticas ou com sintomas muito brandos da doença, verificou-se a presença de sinais do agente causal em tecidos vasculares, desde o sistema radicular até as ramificações. Outro aspecto relevante desse estudo é que foram obtidos, a partir de seções de ramos, isolados de bactérias com todas as características daquelas inoculadas às sementes, indicando que poderiam estar atuando no xilema, como já demonstrado por Siddiqui & Shaukat (2002) em pesquisa sobre o modelo *Rhizoctonia solani* versus *Pseudomonas aeruginosa* (IE-6S+) em tomateiro. O isolado ENA 4413 foi aquele que mais apareceu em todas as seções histológicas examinadas. Nas plantas-controle, *Pseudomonas* spp. não estavam presentes, o que reforça o papel das mesmas na proteção contra o patógeno sob as condições estudadas.

Os resultados aqui obtidos sinalizam como

promissores e indicam a importância de pesquisas futuras, que viabilizem o uso de rizobactérias fluorescentes do gênero das *Pseudomonas* no biocontrole da “murcha fusariana” do feijoeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, J.S. de P. Produção de bacteriocinas por estirpes brasileiras de *Pseudomonas solanacearum* E.F.SMITH e perspectivas de sua utilização no controle biológico da murcha bacteriana. Seropédica. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 1995. Tese de Mestrado.
- BAGNASCO, P.; DE LA FUENTE, L.; GUALTIERI, G.; NOYA, F. & ARIAS, A. Fluorescent *Pseudomonas* spp. as biocontrol agents against forage legume root pathogenic fungi. *Soil Biological and Biochemistry*, v. 30, p.1317-1322, 1998.
- BRISBANE, P.G. & ROVIRA, A. D. Mechanism of inhibition of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* by fluorescent pseudomonads. *Plant Pathology*, v. 37, p. 104-111, 1988.
- DILEEP KUMAR, B. S. Fusarial wilt suppression and crop improvement through two rhizobacterial strains in chick pea growing in soils infested with *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Biology and Fertility of Soils*, v. 29, p.87-91, (1999).
- HAGEDORN, D.J. *Fusarium* yellows. In: HALL, R.(ed.). *Compendium of bean diseases*. St. Paul, APS Press, 1991. 71p.
- HOWELL, C.R. & STIPANOVIC, R.D. Suppression of *Phytophthora ultimum* -induced damping-off of cotton seedlings by *Pseudomonas fluorescens* and its antibiotic, pyoluteorin. *Phytopathology*, v. 70:712-715, 1980.
- KIMATI, H. Doenças do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). In: Galli, F. (ed.) *Manual de Fitopatologia*, 2a ed. SP. Ceres, cap.19, p. 297-318, 1980.
- KING, E.O.; WARD, M.K. & RANEY, O.E. Two simple media for the demonstration of pyocinin and fluorescein. *Journal of Laboratorial Clinical Medicine Veterinary*. v. 44, p.301-307, 1954.
- KLOPPER, J.W.; LEONS, J.; TEINZE, M. & SCHROTH, M.N. *Pseudomonas* siderophores: a mechanism explaining disease suppressive soil. *Current Microbiology*, New York, v.4, p.317-320, 1980.
- KRAFT, J.M.; BURKE, D.W. & HAGLUND, W.A. *Fusarium* diseases of beans, peas and lentils. In:

- NELSON, P.E.; TOUSSOUN, T.A.; COOK, R.J., (eds.) *Fusarium: diseases, biology, and taxonomy*. Pensilvania: *The Pensilvania State University*, p.142-156, 1981.
- LANZA, M. A.; PAULA, JR., T. J.; BARROS, E.G. & MOREIRA, M. A. Avaliação da resistência de cultivares de feijão recomendados para Minas Gerais à murcha de *Fusarium*. *Fitopatologia Brasileira*. v. 22, p.274. 1997.
- LUZ, W. C. da. Controle biológico das doenças na espermosfera. In: EMBRAPA CNPDA. Controle biológico de doenças de plantas. Jaguariúna, EMBRAPA CNPDA, p.25-31, 1991.
- LUZ, W. C. da. Microbiolização de sementes para o controle de doenças de plantas. In: Luz, W.C. da; Fernandes, J.M.; Prestes, A. M.; E.C. Picinini (eds). Revisão Anual de Patologia de Plantas (RAPP), Passo Fundo, RS-Brasil, v.1, p.37-77, 1993.
- LUZ, W. C. da. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e de bioproteção. Revisão Anual de Patologia de Plantas (RAPP), Passo Fundo, RS-Brasil, v.4, p.01-49, 1996.
- NORRIS, G. G. & ROUSSE, D. I. Diversity of epiphytic bacterial communities on bean (*Phaseolus vulgaris* L.) leaves and pods based on nutrient utilization. *Phytopathology*, St. Paul, v.72, 9-36. 1985.
- PARKE, J. I.; RAND, R. E.; JOY, A. E. & KING, E.B. Biological control of *Pythium* damping-off and *Aphanomyces* root rot of peas by application of *Pseudomonas cepacia* or *P. fluorescens* to seed. *Plant Disease*, v. 75, p. 987-982. 1991.
- REIS, A. & MARIANO, R. L. R. Seleção de isolados de rizobactérias fluorescentes para o controle da murcha fusariana do feijoeiro. V SINCONBIOL. Anais: Simpósio de Controle Biológico, p.37, 1996.
- SIDDIQUI, I. A. & SHAUKAT, S. S. Resistance against the damping-off fungus *Rhizoctonia solani* sistematically induced by the plant-growth-promoting rhizobacteria *Pseudomonas aeruginosa* (IE-6S+) and *P. fluorescens* (CHA0). *Journal Phytopathology*, v. 150, p. 500-506, 2002.
- SUSLOW, T. V. & SCHROTH, M. N. Role of deleterious rhizobacteria as minor pathogens in reducing crop growth. *Phytopathology*, v. 72, p. 111-115, 1982.
- THOMASHOW, L. S., WELLER, D. M., BONSAI, R. F., & PERSON III, I. S. Production of the antibiotic phenazine-1-carboxylic acid by fluorescent *Pseudomonas* species in the rhizosphere of wheat. *Applied Environmental Microbiology*, v. 56, p. 908-912. 1990.
- THOMASHOW, L. S. & WELLER, D. M. Role of phenazine antibiotic from *Pseudomonas fluorescens* in biological control of *Gaumannomyces graminis* var. *tritici*. *Journal Bacteriology*, v. 170, p. 3499-3508. 1988.
- VAN LOON, I. C., BAKKER, P. A. H. M. & PIETERSE, C. M. J. Systematic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annual Review Phytopathology*, v. 36, p.453-483, 1998.
- VARGAS, I. La soya. In: SCHWARTZ, W.F.; GAIVES, C.E. (eds.). Problemas de production del frijol. Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical, p.17-36, 1980.
- VIEIRA, C. Doenças e pragas do feijoeiro. Viçosa. Imprensa Universitária, Universidade Federal de Viçosa, 231p., 1983.
- VIEIRA, C., PAULA, JR., T. J. & BORÉM, A. Feijão: aspectos gerais e cultura no estado de Minas Gerais. Ed. UFV, Viçosa. 59p., 1998.
- WELLER, D. M. Biological control of soil-borne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annual Review Phytopathology*, Palo Alto, v.26, p.379-407, 1988.
- WIDHYASEIARAN, P. & MUTHAMILAN, M. Development of formulations of *Pseudomonas fluorescens* for control of chickpea wilt. *Plant Disease*, v. 79, p.782-786, 1995.
- ZAMBOLIM, L.; CHAVES, G.M. & MARTINS, M.C.P. Aspectos das principais doenças do feijão no Estado de Minas Gerais. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.8, n.90, p.20-29, 1982.