



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA
MESTRADO EM FITOTECNIA

LUIZ FERNANDO BEZERRA EVANGELISTA

**USO DE MICRORGANISMOS ANTAGONISTAS NO MANEJO DE *Macrophomina*
phaseolina E NO DESENVOLVIMENTO DO MELOEIRO**

MOSSORÓ - RN

2023

LUIZ FERNANDO BEZERRA EVANGELISTA

USO DE MICRORGANISMOS ANTAGONISTAS NO MANEJO DE *Macrophomina phaseolina* E NO DESENVOLVIMENTO DO MELOEIRO

Dissertação apresentada ao Mestrado em Fitotecnia do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Mestre em Fitotecnia.

Linha de Pesquisa: Fitopatologia

Orientadora: Professora Dra. Márcia Michelle de Queiroz Ambrósio

MOSSORÓ - RN

2023

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

E92u Evangelista, Luiz Fernando Bezerra.
USO DE MICROORGANISMOS ANTAGONISTAS NO MANEJO
DE *Macrophomina phaseolina* E NO DESENVOLVIMENTO
DO MELOEIRO / Luiz Fernando Bezerra Evangelista. -
2023.
61 f. : il.

Orientadora: Márcia Michelle de Queiroz
Ambrósio.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal
Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em
Fitotecnia, 2023.

1. Cucumis melo. 2. Doenças Radiculares. 3.
Controle Biológico. 4. Antagonismo. I. Ambrósio,
Márcia Michelle de Queiroz, orient. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada por sistema gerador automático em conformidade
com AACR2 e os dados fornecidos pelo autor(a).
Biblioteca Campus Mossoró / Setor de Informação e Referência
Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva
CRB: 15/120

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

LUIZ FERNANDO BEZERRA EVANGELISTA

USO DE MICRORGANISMOS ANTAGONISTAS NO MANEJO DE *Macrophomina phaseolina* E NO DESENVOLVIMENTO DO MELOEIRO

Dissertação apresentada ao Mestrado em Fitotecnia do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Mestre em Fitotecnia.

Linha de Pesquisa: Fitopatologia

Defendida em: 28 / 02 / 2023

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Márcia Michelle de Queiroz Ambrósio (UFERSA)
Presidente

Profa. Dra. Jailma Suerda Silva De Lima (UFERSA)
Membro Examinador Interno

Prof. Dr. Darlan Ferreira Borges (Unifucamp)
Membro Examinador Externo

Prof^ª. Dra. Gardênia Silvana de Oliveira Rodrigues (UFERSA)
Membro Examinador Externo

*A minha avó Maria Luiza Fernandes
Evangelista e meu avô Pedro Ventura Bezerra
(Ofereço).*

*Aos meus pais,
Esmerina Fernandes Bezerra Evangelista e José
Luiz Fernandes Evangelista e a minha irmã
Fernanda Bezerra Evangelista*

Dedico

AGRADECIMENTOS

A minha família em especial a minha mãe Esmerina Fernandes Bezerra Evangelista, meu pai José Luiz Fernandes Evangelista, e a minha irmã Fernanda Bezerra Evangelista, que sempre me proporcionaram o melhor, sendo fonte de força sempre. Muito obrigado pelo amor, carinho e incentivo ao longo dessa jornada.

À Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) e ao programa de Pós-graduação em Fitotecnia pela oportunidade de cursar o mestrado e me proporcionar tanta vivência e conhecimento desde a graduação.

Aos professores que me transmitiram seus conhecimentos e experiências ao longo do curso.

A minha orientadora, professora Dra. Márcia Michelle de Queiroz Ambrósio, por ter aceitado me orientar, estimular a busca sempre do conhecimento e do crescimento profissional de cada um que por ela passa. Obrigado por ter proporcionado todo o suporte necessário. Meu eterno obrigado!

Aos membros da Banca Examinadora, Jailma Suerda Silva de Lima, Gardênia Silvana de Oliveira Rodrigues e Darlan Ferreira Borges, pela participação e contribuições para o aperfeiçoamento deste trabalho.

Aos meus amigos que fiz no grupo de pesquisa do Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia, onde conheci pessoas que me ajudaram grandemente não só de forma profissional e institucional, mas também de forma pessoal, as quais foram: Jarlan, Louise, Tatianne, Janderson, Vinícius, Romário, Ana Paula, Ana Santana, Elissadra, Vitória, Silvan, Diogo, Atarissis, Mateus e Daniela Almeida.

Aos meus amigos de graduação e de vida: Francilane, Darliane e Kewen pela amizade e apoio nessa jornada.

Agradeço em especial ao amigo Breno de Holanda Almeida por todo apoio e ajuda necessária para a realização desse trabalho, meu muito obrigado.

*“Do you feel cold and lost in desperation?
You build up hope but failure's all you've
known. Remember all the sadness and
frustration. And let it go, Let it go.”*

Linkin Park

RESUMO

O meloeiro (*Cucumis melo* L.) é uma cucurbitácea bastante adaptada ao clima do Nordeste brasileiro, mas, vem sendo infectada por muitos patógenos, entre eles o fungo habitante do solo *Macrophomina phaseolina* Tassi (Goid.), responsável pela podridão cinzenta do caule, e que causa perdas significativas em muitas culturas. Devido à ampla gama de hospedeiros, produção de estruturas de resistência, e ausência de um fungicida registrado para utilização em campo, o manejo desse patógeno se torna difícil. Desta forma cresce a procura por formas alternativas para o manejo desse fitopatógeno. O trabalho teve como objetivo verificar o efeito de isolados bacterianos de solo oriundos de três áreas distintas do Rio Grande do Norte, Brasil, e produtos comerciais à base de microrganismos (Biotrio[®], Compost-Aid[®] e Serenade[®]) no manejo de *M. phaseolina*, e no potencial de promover o crescimento do meloeiro. Inicialmente foram realizados ensaios *in vitro* de cultura dupla com 18 isolados e três produtos comerciais para identificar os microrganismos que apresentassem efeito antagonista sobre o fitopatógeno. Dos 18 isolados testados, cinco apresentaram ação antagonista, sendo ISO 11, ISO 13, ISO 15, ISO 16, ISO 18, e o produto Serenade[®], apresentaram Porcentagem de Inibição de Crescimento, %PIC, superior a 90%, enquanto os produtos Compost-Aid[®] e Biotrio[®] apresentaram PIC acima de 80%. Para os ensaios *in vivo* foram utilizados os cinco isolados que apresentaram ação antagonista *in vitro*, e os produtos comerciais. Para avaliar a possível atividade promotora de crescimento dos isolados foram realizados ensaios para verificar a produção de Ácido Indol-Acético (AIA), solubilização de fósforo e produção de biofilme. A maioria dos isolados foram capazes de produzir biofilme, exceto o exceto o ISO 18. Nenhum dos isolados foram capazes de produzir AIA e de solubilizar fósforo. Para avaliar *in vitro* a capacidade promotora de crescimento de plantas, os microrganismos selecionados foram utilizados para testes em casa de vegetação pelo tratamento das sementes de melão cv. “Goldex” que foram semeadas em substrato autoclavado contido em badejas. Utilizou-se a concentração de 10⁸ UFC/mL de cada isolado bacteriano, e a dose dos produtos comerciais indicados pelos fabricantes. 12 dias após a semeadura não houve diferença estatística entre os tratamentos no crescimento das mudas de meloeiro. Para avaliação do controle do patógeno *in vivo* foi realizado dois ensaios em vasos, em casa de vegetação. Os vasos (15 L) com substrato esterilizado e posteriormente infestado com *M. phaseolina* receberam doses semanais dos isolados (14 mL/vaso) e dos produtos comerciais de acordo com a bula, e os controles com e sem inóculo receberam apenas água durante 60 dias. As avaliações com 30 e 60 dias não mostraram diferenças estatística entre os tratamentos em relação à altura de parte aérea e raiz, diâmetro do caule, volume de raiz e massa seca de parte aérea e raiz. No entanto, a incidência e a severidade da doença foram reduzidas nos tratamentos com o isolado ISO 18 e os produtos Compost-Aid[®] e Serenade[®], que proporcionaram redução de 40% (ISO 18 e Compost-Aid[®]) e 50% para o Serenade[®] na incidência da doença, e 53,4; 46,7 e 63,4% na severidade, respectivamente sendo que o ISO B2 foi estatisticamente igual aos produtos Compost-Aid[®] e Serenade[®], tanto na incidência quanto na severidade da doença. Com esse estudo pode-se concluir que os produtos Compost-Aid[®] e Serenade[®] e o isolado ISO 18 reduziram a podridão cinzenta do caule, mas não foram capazes de promover o crescimento do meloeiro.

Palavras-chave: *Cucumis melo*. Doenças Radiculares. Controle Biológico. Antagonismo.

ABSTRACT

Melon (*Cucumis melo* L.) is a cucurbit that is well adapted to the climate of Northeastern Brazil, but has been infected by many pathogens, including the soil-born fungus like *Macrophomina phaseolina* Tassi (Goid.), responsible for gray stem rot, and that causes significant losses in many cultures. Due to the wide range of hosts, production of resistance structures, and the absence of a registered fungicide for use in the field, the management of this pathogen becomes difficult. In this way, the search for alternative ways to manage this phytopathogen grows. The objective of this work was to verify the effect of soil bacterial isolates from three different areas of Rio Grande do Norte, Brazil, and commercial products based on microorganisms (Biotrio[®], Compost-Aid[®] and Serenade[®]) on the management of *M. phaseolina*, and the potential to promote melon growth. Initially, *in vitro* double culture assays were carried out with 18 isolates and three commercial products to identify microorganisms that had an antagonistic effect on the phytopathogen. Of the 18 isolates tested, five showed antagonistic action, ISO 11, ISO 13, ISO 15, ISO 16, ISO 18, and the Serenade[®] product, all showed a Percentage of Growth Inhibition, PGI, greater than 90%, while the products Compost-Aid[®] and Biotrio[®] presented PGI above 80%. For the *in vivo* assays, the five isolates that showed antagonistic action *in vitro* and the commercial products were used. To evaluate the possible growth promoting activity of the isolates, assays were carried out to verify the production of indole-acetic acid (IAA), phosphorus solubilization and biofilm production. Most isolates were able to produce biofilm, except ISO 18. None of the isolates were able to produce IAA and to solubilize phosphorus. To evaluate, *in vitro*, the capacity to promote plant growth, the selected microorganisms were used for tests in a “greenhouse” by treating the seeds of melon cv. “Goldex” that were sown in autoclaved substrate contained in trays. A concentration of 10⁸ CFU/mL of each bacterial isolate was used, and the dose of commercial products indicated by the manufacturers. 12 days after sowing, there was no statistical difference between treatments in the growth of melon seedlings. To evaluate the *in vivo* control of the pathogen, two tests were carried out in vases, in a greenhouse. The pots (15 L) with sterilized substrate and later infested with *M. phaseolina* received weekly doses of the isolates (14 mL/pot) and commercial products according to the package leaflet, and the controls with and without inoculum received only water for 60 days. Evaluations at 30 and 60 days did not show statistical differences between treatments in relation to shoot and root weight, stem diameter, root volume and shoot and root dry mass. However, the incidence and severity of the disease were reduced in treatments with the ISO 18 isolate and the Compost-Aid[®] and Serenade[®] products, which provided a reduction of 40% (ISO 18 and Compost-Aid[®]) and 50% for the Serenade[®] in disease incidence, and 53.4, 46.7 and 63.4% in severity, respectively, with ISO 18 statistically equal to Compost-Aid[®] and Serenade[®] products, both in disease incidence and severity. With this study it can be concluded that the Compost-Aid[®] and Serenade[®] products and the ISO 18 isolate reduced gray stem rot, but were not able to promote melon growth.

Keywords: *Cucumis melo*. Root Diseases. Biological Control. Antagonism.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Ensaio *in vitro* do antagonismo de isolados bacterianos sobre *Macrophomina phaseolina*: **a** - ISO 11; **b** – ISO 13, **c** – ISO 15, **d** – ISO 16; **e** - ISO 18; **f** - Compost-Aid®; **g** - Biotrio®; **h** - Serenade® e **i** – Controle..... 35
- Figura 2.** Porcentagem de Inibição de Crescimento (PIC) de inoculantes bacterianos sobre *M. phaseolina*. Barras seguidas pela mesma letra, não diferem estatisticamente entre si pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). Os dados são valores médios \pm erro padrão de dois experimentos, cada experimento com cinco repetições por tratamento. Isolados (ISO), Compost-Aid® (CPA), Biotrio® (BT), Serenade® (SE), Controle com inóculo (CCI). CV (%) = 3,2..... 36
- Figura 3.** Ensaio *in vivo* de promoção de crescimento de mudas de meloeiro pelo tratamento de sementes com inoculantes bacterianos: **a** - ISO 11; **b** – ISO 13, **c** – ISO 15, **d** – ISO 16; **e** - ISO 18; **f** - Compost-Aid®; **g** - Biotrio®; **h** - Serenade® e **i** – Controle..... 37
- Figura 4.** Amostras representativas das raízes de meloeiro nos diferentes tratamentos. **a** - ISO 11; **b** – ISO 13, **c** – ISO 15, **d** – ISO 16; **e** - ISO 18; **f** - Compost-Aid®; **g** - Biotrio®; **h** - Serenade®; **i** – Controle com inóculo e **j** – Controle sem inóculo..... 39
- Figura 5.** Estruturas de *M. phaseolina* visualizadas após o isolamento em plantas sintomáticas obtidas nos ensaios *in vivo* realizados em casa de vegetação. **a** = raiz de melão amarelo ‘Goldex’ colonizados com picnídios de *M. phaseolina*. **b** = visualização de picnídios de *M. phaseolina* em objetiva de 10x. **c** = Picnídios e esporos de *M. phaseolina* em raízes de melão amarelo ‘Goldex’ visualizados na objetiva de 10x **d** = Picnídios e esporos de *M. Phaseolina* observados na objetiva de 40x. **e** = Crescimento micelial de *M. phaseolina* reisolada de raízes de melão amarelo ‘Goldex’. **f** = Microescleródios e hifas de *M. phaseolina* obtidos em meio BDA e observados em objetiva de 40x..... 39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Composição e doses de produtos utilizados no estudo.....	25
Tabela 2.	Atributos químicos de amostras de solo e composto areno-orgânico, Mossoró-RN, UFERSA, 2023.....	29
Tabela 3.	Locais de onde foram obtidos os isolados no estudo.....	32
Tabela 4.	Isolados obtidos no estudo e seus respectivos gêneros.....	33
Tabela 5.	Caracterização morfológica e bioquímica dos isolados (+: reação positiva; -: reação negativa; O: metabolismo oxidativo; F: metabolismo fermentativo; A: metabolismo assacarolítico; VM: Vermelho de Metila; VP: Voges-Proskauer; Lis: Lisina; Fen: Fenilalanina; Arg: Arginina)	34
Tabela 6.	Características relevantes dos isolados bacterianos relacionadas com seu potencial promotor de crescimento vegetal. ISO=isolado.....	36
Tabela 7.	Efeito do tratamento de sementes com isolados bacterianos e produtos comerciais sobre o Comprimento Aéreo (CA), e de Raiz (CR), Massa Seca da Parte Aérea (MSA) e da Raiz (MSR), em meloeiro <i>Cucumis melo</i> cv. ‘Goldex’.....	37
Tabela 8.	Incidência e severidade da podridão cinzenta do caule em meloeiro cv. ‘Goldex’.....	38
Tabela 9.	Efeito dos diferentes tratamentos no Comprimento da Parte Aérea (CA), Diâmetro do Caule (DC), Volume da Raiz (VR), Massa Seca da Parte Aérea (MSA) e da Raiz (MSR) do meloeiro cv. ‘Goldex’	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIA – Ácido Indol-Aético

BDA - Agar Batata Dextrose

BOD - *Biochemical Oxygen Demand*

BT – Biotrio[®]

CPA – Compost-Aid[®]

CV – Coeficiente de Variação

DAT – Dias Após Transplântio

DIC – Delineamento Inteiramente Casualizado

ISO – Isolado

LB – Luria Bertane

M. phaseolina - *Macrophomina phaseolina*

O.D – Densidade Ótica

O/F – Oxidativo/Fermentativo

PHS - Patógenos Habitantes do Solo

RPCP – Rizobactéria Promotora de Crescimento de Planta

SE – Serenade[®]

UFC - Unidade Formadora de Colônia

UV – Ultravioleta

VM – Vermelho de Metila

VP – Vorges-Proskauer

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	15
2.	REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1	Cultura do meloeiro.....	16
2.2	Patógenos Habitantes do Solo – PHS.....	18
2.2.1	<i>Macrophomina phaseolina</i>	18
2.3	Controle biológico.....	20
2.4	Uso de inoculante microbiano na agricultura.....	21
3.	MATERIAL E MÉTODOS.....	25
3.1	Obtenção dos isolados.....	25
3.2	Identificação bioquímica e morfológica dos isolados bacterianos.....	26
3.3	Antagonismo <i>in vitro</i> de isolados bacterianos sobre <i>M. phaseolina</i>	26
3.4	Avaliação de características de promoção de crescimento de plantas.....	27
3.4.1	Solubilização de fosfato inorgânico.....	27
3.4.2	Produção de Ácido Indol-Acético (AIA).....	27
3.4.3	Produção de biofilme.....	27
3.4.4	Promoção de crescimento em mudas de meloeiro.....	28
3.5	Controle biológico <i>in vivo</i> de <i>M. phaseolina</i>	28
3.5.1	Produção do inóculo de <i>M. phaseolina</i> e infestação do solo.....	29
3.5.2	Produção, transplântio das mudas e práticas culturais.....	29
3.5.3	Aplicação dos inóculos bacterianos.....	30
3.6	Incidência e severidade da doença	30
3.7	Análise de crescimento e desenvolvimento do meloeiro.....	31
3.8	Análise estatística.....	31
4.	RESULTADOS.....	32
4.1	Obtenção e caracterização dos isolados.....	32
4.2	Atividade antagônica dos isolados bacterianos testados sobre <i>M. phaseolina</i>	35
4.3	Avaliação <i>in vitro</i> de parâmetros de promoção do crescimento vegetal.....	36
4.4	Avaliação <i>in vivo</i> do crescimento das mudas de meloeiro.....	37
4.5	Ensaio <i>in vivo</i> em casa de vegetação.....	38
4.5.1	Incidência e severidade da doença.....	38

4.5.2	Avaliação de crescimento de meloeiro.....	40
5.	DISCUSSÃO.....	42
6.	CONCLUSÕES.....	50
	REFERÊNCIAS.....	51

1 INTRODUÇÃO

O meloeiro (*Cucumis melo* L.) é uma cultura de grande importância econômica para o mundo, inclusive o Brasil, que possui condições geográficas e edafoclimáticas favoráveis ao seu cultivo, principalmente a região Nordeste que se destaca por ser a maior produtora dessa olerícola no país (95%), com destaque para os estados do Rio Grande do Norte e Ceará, que juntos são responsáveis por mais de 70% da produção nacional (KIST, CARVALHO, BELING, 2022).

Devido a adoção de práticas de cultivo intensivo, e do sistema de exploração do solo por monoculturas tem se observado o aumento na incidência e severidade de diversas doenças, dentre elas, as promovidas pelos patógenos habitantes do solo, como *Macrophomina phaseolina*, causando perdas econômicas para os produtores da região (SANTOS et al., 2000; SALES JUNIOR et al., 2012).

Os fungos do gênero *Macrophomina* Tassi (Goid.) são membros da família Botryosphaeriaceae, pertencentes à classe Dothideomycetes, e é relatado como um importante patógeno habitante do solo afetando diversas cucurbitáceas pelo mundo (COHEN et al., 2022). Esse fungo é responsável pela doença denominada “podridão-cinzenta” que pode afetar raízes e caule de plantas causando o *damping-off* das mesmas, e podridão no sistema radicular, no qual os sintomas são mais evidentes próximo a colheita.

Regiões com temperaturas elevadas (30 – 35 °C) e baixa umidade do solo (abaixo de 60%) contribuem para o aumento da severidade da doença; (AKHTAR et al., 2011; KAUR et al., 2012; MARQUEZ et al., 2021). Devido a formação de estruturas de resistência (microescleródios) (GUPTA et al., 2012; SHARMA et al., 2016) que permitem esse patógeno permanecer por anos no local, e a falta de produtos registrados para o seu controle no Brasil a nível de campo (MAPA, 2023) além do apelo internacional para a redução de defensivos químico, esforços têm sido realizados para encontrar métodos alternativos para o seu controle, dentre eles, destaca-se o controle biológico por meio de microrganismos antagonistas (RAYMAEKERS et al., 2020).

O controle biológico é uma prática antiga e consiste na utilização intencional de microrganismos que apresentem ação antagonista, impedindo ou suprimindo determinadas populações de patógenos (PAL, GARDENER, 2006). Vários microrganismos já foram relatados apresentando ação antagonista sobre diversos patógenos de plantas, com destaque para os fungos do gênero *Trichoderma*, e bactérias dos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas* (CAO et al., 2018; SUNPAPAO et al., 2018; CHANDRA et al., 2020).

A ação antagonista está relacionada com variados mecanismos, como: competição, parasitismo, indução de resistência e antibiose (BERDY, 2005; CHOUDHARY, et al., 2009; MEENA et al., 2020). No mercado existem muitos produtos comerciais baseados em microrganismos que são utilizados em diferentes culturas para controle de patógenos, melhoramento da fertilidade do solo e na promoção de crescimento vegetal. Normalmente eles são registrados como biocontroladores ou como fertilizantes.

Outra atividade relacionada ao controle biológico está a capacidade de alguns desses organismos de promoverem o crescimento de plantas (RAI et al., 2020). Estes microrganismos são facilmente encontrados na região da rizosfera onde encontra-se a maior quantidade de matéria orgânica, e conseqüentemente nutrientes para o seu estabelecimento e sobrevivência, e conseqüentemente promovendo o crescimento da planta (KUMAR et al., 2019; KOUR et al., 2020).

A promoção no crescimento da planta e sua produtividade está relacionada a mecanismos como: tolerância ao estresse; absorção de minerais e nutrientes; produção de reguladores de crescimento da planta e produção de sideróforos (CHOUDHARY et al., 2011; GARCÍA-FRAILE et al., 2015). No entanto, quando os microrganismos são adaptados as condições do ambiente, o resultado é mais evidente, e a multiplicação desses microrganismos ocorrem com mais eficiência, favorecendo a diversidade desses no solo.

Diante disto, esse trabalho teve como objetivo verificar o efeito de isolados bacterianos de solo oriundos de três áreas distintas do Rio Grande do Norte, Brasil, e produtos comerciais à base de microrganismos (Biotrio[®], Compost-Aid[®] e Serenade[®]) no manejo de *M. phaseolina*, e no potencial de promover o crescimento do meloeiro.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cultura do meloeiro

O meloeiro é uma planta que pertence à família Curcubitaceae, classificada taxonomicamente como *Cucumis melo* L., com classificação sugerida por Robinson e Decker-Walters (1997), sendo a espécie dividida em seis variedades ou grupos botânicos: *inodorus*, *cantaloupensis*, *conomon*, *dudaim*, *flexuosus* e *momordica*. É uma planta polimórfica com origem genética relacionada à África, entretanto, foi na Índia onde ocorreu sua dispersão, e hoje, são encontradas cultivares em diversas regiões do mundo desde os países mediterrâneos, centro e leste da Ásia, sul e centro da América, e também o centro e sul da África (DIAS; TERAO, 2006).

A cultura possui mais de um milhão de hectares plantadas no mundo e uma produção de aproximadamente 32 milhões de toneladas anuais, sendo uma das hortaliças mais popularmente conhecida e apreciada, o que a torna de grande expressão econômica em virtude de seu alto índice de exportação para União Europeia, Ásia e América do Norte (KIST et al., 2021).

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 2021 o Brasil produziu 627.047 toneladas do fruto (IBGE, 2023), e segundo as projeções do relatório do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), até o ano de 2030 a produção de melão deve aumentar em 30,6 % (MAPA, 2021). A região Nordeste é a maior produtora de melão do país, com ênfase aos estados do Rio Grande do Norte, Ceará, Bahia e Pernambuco que, em conjunto, produzem cerca de 95% de todo o melão nacional e desses, apenas o estado Potiguar abrange 70% da produção (HORTIFRUT BRASIL, 2022; IBGE, 2023).

A região do semiárido brasileiro se destaca na produção de melão devido as suas condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento dessa cultura, como elevado nível de radiação solar, altas temperaturas (28 - 35 °C) e baixo índice pluviométrico anual (700 a 800 mm), que se concentram em 4 meses do ano. Todos estes fatores contribuem para que o melão apresente maior qualidade, além de redução do ciclo da cultura (em torno de 60 dias) tornando um produto competitivo, já que é possível cultivar até 3 ciclos por ano, diferente de outros países como França e Espanha, que possuem ciclos mais longos (em torno de 120 dias), diminuindo a sazonalidade do melão. Em virtude disto, muitos países importam melões brasileiros para abastecer os mercados internos (FIGUEIREDO et al., 2017). Porém, tal cultura está cada vez mais afetada por diversos fitopatógenos que atacam tanto a parte aérea,

quanto a radicular, sendo os patógenos habitantes do solo (PHS) responsáveis por atacarem as raízes e em casos mais severos levando a morte da planta (MICHEREFF et al., 2005).

2.2 Patógenos Habitantes do Solo - PHS

Patógenos de plantas que são transmitidos pelo solo são responsáveis por causar algumas doenças como: podridão de raízes e copas, murcha e tombamento, e por isso, são os principais fatores de limitação do sistema produtivo agrícola de alimentos, fibras e ornamentais no mundo (MICHEREFF et al., 2005).

A maioria dos PHS são difíceis de controlar por estratégias convencionais, como o uso de cultivares resistentes e fungicidas sintéticos pois desenvolveram estruturas de resistência que garantem a sobrevivência dos mesmos, frente a situações adversas, tais como ausência do hospedeiro e/ou condições climáticas desfavoráveis (BUENO et al., 2007), que mantém o patógeno viável por vários anos no solo.

Um outro fator que favorece os PHS é a prática de cultivos contínuos, associados a monoculturas, que são práticas comuns realizadas na agricultura (ALTIERI, 2009; ARAFAT et al., 2019), essa prática favorece a incidência de doenças em diversas culturas, incluindo o meloeiro.

Comumente, os fitopatógenos podem aparecer de forma isolada, ou associada a outros. Em áreas produtoras do Rio Grande do Norte e Ceará, os fungos do gênero *Fusarium* sp. e *Macrophomina* sp. são os fungos mais frequentes nos isolamentos das plantas sintomáticas e, pode ocorrer em associação com outros patógenos como: *Fusarium solani* (Mart.), *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid., *Monosporascus cannonballus* Pollack e Uecker, *Didymella bryoniae* (Auersw.) Rehm, *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Grif. e Maubl, *Myrothecium roridum* Tode, e *Rhizoctonia solani* Kühn (ANDRADE et al., 2005; PORTO et al., 2016).

2.2.1 *Macrophomina phaseolina*

Macrophomina phaseolina Tassi (Goid.) é um fungo filamentosos pertencente à família Botryosphaeriaceae, classe Dothideomycetes (SARR et al., 2014), e está relacionada a doenças de plantas como podridão da raiz, podridão do carvão, ferrugem das folhas, ferrugem das mudas, *damping-off* em mudas em pré e pós-emergência, além da podridão do caule e de vagem em mais de 750 espécies de plantas (FARR, ROSSMAN, 2023).

Este fungo possui uma ampla distribuição geográfica em diferentes tipos de solo, sendo responsável por afetar diversas culturas de importância comercial, principalmente em países tropicais e subtropicais (LODHA, MAWAR, 2020). As condições de clima, solo seco e quente, e baixa umidade tornam os sintomas da doença mais graves, causando o colapso da planta (KAUR et al., 2012; SOUSA LINHARES et al., 2020; COHEN et al., 2022), no qual estão associados a presença de estruturas de resistência produzidas pelo gênero, os microescleródios, que são formadas quando o fungo é submetido a condições desfavoráveis ao seu desenvolvimento e liberadas no solo durante a desintegração dos tecidos infectados (COHEN et al., 2016) podendo permanecer no solo em restos culturais por mais de 12 anos (GUPTA et al., 2012; SHARMA et al., 2016), a ação desse fungo pode resultar em abandono de áreas.

M. phaseolina já foi relatado afetando diversas culturas de grande interesse econômico pelo mundo, entre elas estão: soja, algodão, milho, feijão, gergelim e o meloeiro (GUPTA et al., 2012; MOURA et al., 2022). Em meloeiro, a infecção ocorre principalmente após o plantio, no entanto os sintomas mais severos são perceptíveis no final do ciclo da cultura (WATSON, NAPIER, 2009).

Negreiros et al. (2019), através de análises filogenéticas de isolados de *Macrophomina* retiradas de plantas daninhas presentes em plantações de meloeiro na região Nordeste do Brasil identificou 94 isolados, sendo que 32 isolados foram identificados como *M. phaseolina* e 62 como *M. pseudophaseolina*. O teste de patogenicidade em meloeiro cv. "Gladial" revelou que todos os isolados de *M. phaseolina* inoculados causaram doenças em mudas de melão, mas apenas alguns isolados de *M. pseudophaseolina* foram capazes de infectar o melão.

Em campo infestado com *Macrophomina*, assim como com outros fitopatógenos se torna difícil o manejo devido a produção de estruturas de resistência característica aos gêneros, em que a falta de controles químicos efetivos e ocorrência de resistência adquirida estão entre os principais fatores estimulantes para explorar outras medidas de controle (PARREIRA et al., 2009). No Brasil, não há fungicida registrado para o gênero *Macrophomina* na cultura do meloeiro (MAPA, 2023), e os cultivares apresentam baixa ou nenhuma resistência ao fitopatógeno (NEGREIROS et al., 2019).

Diversas abordagens de manejo foram estudadas em diferentes partes do mundo onde as doenças induzidas por *Macrophomina* são prevalentes, como solarização, biofumigação, tratamento de sementes com produtos químicos comerciais, incorporação de matéria orgânica no solo e o controle biológico (MOURA et al., 2022). No entanto, olhando para as dificuldades de controle, uma abordagem integrada é necessária para gerenciar eficazmente

esta doença para culturas economicamente valiosas no campo e em condições de estufa (LODHA, MAWAR, 2020).

Entre as estratégias estudadas, o controle biológico de *Macrophomina* com uso de microrganismos antagonistas a base de bactérias é um dos mais estudados na atualidade, e onde já se vê comercialmente, em áreas de produção de melão no Brasil, a produção de microrganismos *on farm*, com um dos objetivos o controle de PHS.

2.3 Controle biológico

Entre os métodos alternativos de controle de fitopatógenos e proteção das plantas, o controle biológico vem sendo bastante estudado e aplicado em diversas culturas de interesse comercial, pois apresenta menor impacto sobre o ambiente, atuação para uma grande variedade de patógenos, além de contribuir significativamente na redução de gastos com agrotóxicos (FREITAS, AGUILAR-VILDOSO, 2004).

O controle biológico pode ser definido como a utilização intencional de organismos vivos, indígenas, introduzidos no local ou planta hospedeira, que apresentem atividade antagonista ou supressora a determinada população de patógeno (PAL, GARDENER, 2006).

Os mecanismos de ação com os quais esses biocontroladores atuam são os mais variados, sendo os mais descritos: competição, caracterizado pela disputa pelo mesmo espaço e/ou nutrientes em um mesmo nicho ecológico (PAL, GARDENER, 2006; DJONOVIC et al., 2007), o parasitismo pela degradação da parede celular, por ação de enzimas que confere o controle de fungos fitopatogênicos (CASTALDI et al., 2021), a indução de resistência pelos organismos com capacidade antagonista, que quando aplicada sobre a planta ou nas raízes podem atuar como indutores de resistência sobre a planta hospedeira (CHOUDHARY et al., 2009; MEENA et al., 2020), e antibiose, pela inibição do crescimento microbiano induzido pela ação de compostos bioativos proveniente do metabolismo secundário (TORRES et al., 2016; MEENA et al., 2020; CASTALDI et al., 2021).

Esses diversos mecanismos de ação geralmente não atuam separadamente sobre o fitopatógeno, mas de forma integrada no ambiente onde está introduzido o hospedeiro durante a interação antagônica (PUNJA, UTKHEDE, 2003; PAL, GARDENER, 2006).

Entre os principais grupos de bactérias que se destacam no controle biológico de fitopatógenos está o grupo das Actinobactérias (ARAÚJO, 1998), que são bactérias gram-positivas, constituídas por micélios com organização filamentosa, muitas vezes ramificada, encontradas facilmente no solo, principalmente na rizosfera, sendo conhecida pela ampla

variedade de compostos bioativos produzidos, e pela diversidade funcional como: produção de quitinase (FLEURI, SATO, 2005), celulase (LIMA et al., 2000), fitohormônios (SHRIVASTAVA et al., 2008), substâncias que estimulam o crescimento vegetal e a colonização em ectomicorrizas (RIEDLINGER et al., 2006).

Além das actinobactérias, as bactérias dos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas* são utilizadas para controle biológico de diferentes patógenos (CAO et al., 2018; CHANDRA et al., 2020), sendo que o gênero *Bacillus* apresentam certas vantagens em relação às do gênero *Pseudomonas*, principalmente em relação a resistência à dessecação, devido à formação de endósporos, que confere a ela uma maior capacidade de sobrevivência em condições adversas do ambiente (LANNA FILHO et al., 2010; PESCE et al., 2014).

O uso de práticas que beneficiem o desenvolvimento de microrganismos antagonistas nativos ou introduzidos, são abordagens que podem beneficiar a saúde de diferentes culturas agrícolas (BETTIOL et al., 2009). Diversos esforços têm sido realizados com a finalidade de isolar microrganismos da rizosfera de diversas culturas que apresentem capacidade de biocontrole, e que sejam adaptadas a sua região de origem para melhor atividade contra os PHS.

O controle biológico é uma abordagem eficaz e sustentável para proteger as plantas e preservar o meio ambiente. É importante continuar explorando novas formas de controle biológico e integrá-lo às práticas agrícolas para garantir a saúde das culturas e o equilíbrio do ecossistema. Outra atividade que está intrinsecamente relacionada a esses inoculantes a base de microrganismos antagonistas é a atividade que alguns apresentam de contribuir na promoção do crescimento da planta (PIETERSE et al., 2012).

2.4 Uso de inoculante microbiano na agricultura

A busca por métodos alternativos com abordagens que visam a produção agrícola intensiva e ao mesmo tempo sustentável, tem cada vez mais ganhado o cenário agrícola atual. A utilização de inoculantes a base de microrganismos que promovam o crescimento de plantas, a tolerância aos estresses bióticos e abióticos e que seja menos agressivo ao meio ambiente em relação aos fertilizantes químicos, vêm cada vez mais aumentando no mundo (HUNGRIA, 2011; SCHOEBITZ et al., 2013).

O registro de produtos de origem biológica vem crescendo a cada ano. No ano de 2022 um total de 504 ingredientes ativos de agrotóxicos foram registrados para uso no país, desses, 107 (21,2%) eram agentes obtidos de fontes biológicas (microrganismos, semioquímicos,

feromônios, entre outros) (ANVISA, 2023). Entre os ingredientes ativos à base de microrganismos destaca-se a utilização dos gêneros bacterianos *Bacillus* e *Pseudomonas* presente em várias formulações desses produtos.

Alguns produtos já se encontram no mercado nacional, é o caso do Serenade[®], um fungicida e bactericida microbiológico que possui diferentes mecanismos de atuação frente a bactérias e fungos fitopatogênicos. Ele contém lipopeptídeos produzidos pelo *Bacillus subtilis* QST713, que atuam na membrana celular das estruturas reprodutivas dos fungos. Esses lipopeptídeos provocam a deformação e ruptura dessas estruturas, inibindo o crescimento e a reprodução dos fungos (MARRONE, 2002).

Além disso, o *Bacillus subtilis* QST713 também age por competição de espaço e nutrientes na superfície vegetal da planta e no solo junto ao sistema radicular. Ele coloniza esses locais, competindo com os fungos patogênicos por nutrientes e espaço, além de impedir seu crescimento e desenvolvimento (LAHLALI et al., 2011).

O Biotrio[®] é um inoculante promotor de crescimento que contém cepas exclusivas de *Bacillus subtilis*, *B. amyloliquefaciens* e *B. pumilus*. Tais cepas trabalham em sinergia para melhorar a saúde das plantas e do solo, aumentar a disponibilidade de nutrientes para as plantas, melhorar a estrutura do solo e proteger as plantas contra patógenos do solo (BIOTROP, 2023).

O Compost-Aid[®] é um aditivo para compostagem a base de enzimas e bactérias (*Lactobacillus plantarum*, *Bacillus subtilis* e *Enterococcus faecium*) que ajudam a acelerar o processo de decomposição de matéria orgânica, além de atuarem no controle de fitopatógenos de solo (MOURA et al., 2022). Cada um desses agentes biológicos vai atuar de forma específica no ambiente e nas plantas.

A atuação desses microrganismos acontece mais precisamente na região da rizosfera, devido a grande quantidade de matéria orgânica que pode ser encontrada nessas regiões, favorecendo tanto o crescimento das plantas como a sobrevivência dos microrganismos que se comunicam por quimiotaxia através de sinais químicos liberados pelos exsudados das raízes das plantas, desenvolvendo, assim, uma relação planta-microrganismo (CAFFARO et al., 2011).

Por colonizarem exatamente a região da planta responsável pela assimilação de nutrientes do solo, essa relação pode contribuir aumentando a produtividade dos cultivos agrícolas, o conteúdo nutricional das plantas, e além disso, suprimirem o crescimento de PHS (RAMAKRISHNA; YADAV; LI, 2019).

Podem ser encontrados na literatura vários gêneros de Bactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (BPCP), como: *Azotobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Burkholderia* e *Azospirillum* (KHALID; ARSHAD; ZAHIR, 2004; BENIZRI et al., 2001).

Além das bactérias, os fungos também podem atuar como promotores do crescimento de plantas, o gênero *Trichoderma* é o mais estudado e utilizado; além de serem comuns na rizosfera, possuem a capacidade de colonizar e crescer associados às raízes das plantas (endofíticos), aumentando significativamente o seu desenvolvimento (HARMAN et al., 2008). Para que os microrganismos promotores de crescimento possam desempenhar seu papel, quando introduzidos num micro-habitat, eles devem ter a capacidade de sobreviver e se multiplicar, mesmo em competição com a microbiota nativa, pelo menos, o tempo necessário para expressar as atividades benéficas de promoção do crescimento vegetal (MARTÍNEZ-VIVEROS et al., 2010).

A forma como esses microrganismos vão atuar sobre o crescimento da planta podem ser de forma direta ou indireta. A forma direta está mais relacionada com a modulação interna dos níveis de fitormônio como o Ácido Indol-Acético (AIA), citocinina e giberelinas envolvidos no crescimento, expansão celular, alongamento do caule, sinalização nutricional, expansão foliar, crescimento radicular, ramificação, floração e fixação de frutos, ou atuar de forma indireta, através de antagonismo impedindo ou dificultando a infecção por fitopatógenos que podem afetar negativamente o desenvolvimento da planta (PATEL et al., 2015; GOSWAMI et al., 2016).

Além da produção de hormônios, esses microrganismos já foram relatados como indutores de resistência ao estresse oxidativo através da biossíntese de enzimas antioxidantes eliminadoras de espécies reativas de oxigênio (EROs), que incluem a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POX), glutathione redutase (GR) e ascorbato peroxidase (APX) (WANG et al., 2012).

As BPCPs já foram relatadas como sendo responsáveis pelo acúmulo de compostos osmoprotetores como glicina, betaína, açúcares (sacarose), polióis (manitol), ácidos orgânicos (malato), íons inorgânicos (cálcio) e aminoácidos (prolina) (ZHANG et al., 2010; BANO et al., 2013) que são responsáveis pela tolerância ao estresse por seca e salinidade. Esses osmoprotetores atuam através da manutenção do turgor celular, ajudando a planta na redução do seu potencial hídrico sem que afete o conteúdo relativo de água (CRA) das células (SERRAJ; SINCLAIR, 2002).

A produção de biofilmes por BPCPs é constituída de agregados de células bacterianas envoltos de uma matriz de exopolissacarídeos que conferem as células uma série de vantagens, como: adesão a superfícies, proteção contra variações do ambiente, aumento da variabilidade antigênica, retenção de íons e nutrientes, resistência à dessecação (ROBERSON; FIRESTONE, 1992) e nas plantas essa formação de biofilme pode conferir proteção das raízes, além de estabelecer gradientes de potencial hídrico sob condição de baixa disponibilidade de água, aliviando a deficiência hídrica e o estresse salino (PAUL; LADE, 2014).

Outra forma de ação dos microrganismos promotores de crescimento de plantas é através da otimização de absorção de macronutrientes pelas plantas como o nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S), e micronutrientes como o boro (B), manganês (Mn), cloro (Cl), ferro (Fe), zinco (Zn), molibdênio (Mo) e cobre (Cu), através da fixação biológica de nitrogênio, produção de sideróforos, aceleração da mineralização da matéria orgânica e solubilização de nutrientes do solo (AZARMI et al., 2011; GOSWAMI; THAKKER; DHANDHUKIA et al., 2016).

Assim, os microrganismos protetores e promotores de crescimento de plantas são uma alternativa ecológica para a obtenção de plantas mais desenvolvidas devido a ação que esses organismos promovem sobre elas, como expansão do sistema radicular que permite maior absorção de água e nutrientes, fixação de nitrogênio, resistência a patógenos, e consequentemente aumento da biomassa vegetal (COMPANT et al., 2010; SHAFI et al., 2017). Neste sentido estudos sobre novos microrganismos adaptados a mais diversas culturas são necessários já que a cada ano mais produtos à base de biológicos são inseridos no mercado.

Diante disso, o objetivo desse trabalho foi verificar o efeito de isolados bacterianos de solo oriundos de três áreas distintas do Rio Grande do Norte, Brasil, e analisar produtos comerciais à base de microrganismos (Biotrio[®], Compost-Aid[®] e Serenade[®]) no manejo de *M. phaseolina*, e seu efeito na promoção do crescimento do meloeiro.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Obtenção dos isolados

O isolado de *M. phaseolina* CMM1531 depositado na Coleção de Culturas de Fungos Fitopatogênicos “Prof. Maria Menezes”, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil, código GenBank MN136199, foi obtido de raízes de meloeiro com sintomas de podridão cinzenta do caule. Os 18 isolados bacterianos foram obtidos de solos da Horta didática da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) (latitude 5°12'26,122" Sul; longitude 37°19'7,979" Oeste), da Fazenda Barrocas (latitude 5°34'57,695" Sul; longitude 37°16'37.668" Oeste), e da Fazenda de melão Agrícola Bom Jesus – RN (latitude 5°0'26,54" Sul; longitude 37° 23' 53,16" Oeste), e estão preservados no Laboratório de Fitopatologia e Microbiologia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA).

Os bioprodutos comerciais utilizados foram: Serenade® a base de *Bacillus subtilis* linhagem QTS713; Biotrio® a base de *B. pumilus* CCTB05, *B. subtilis* CCTB04, *B. amyloliquefaciens* CCTB09 e Compost-Aid® a base de *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus subtilis* e *Enterococcus faecium*. Os tratamentos com os produtos comerciais foram realizados de acordo com as especificações de cada fabricante como disposta na Tabela 1.

Tabela 1. Composição e doses de produtos utilizados no estudo.

Produto Comercial	Empresa	Concentração	Tipo de Formulação	Princípio Ativo	Dosagem Recomendada **	Tratamento de semente**
Compost-Aid®	Alltech Crop Science®	1,25 x 10 ⁸ *	Pó Dispersível	Enzimas e bactérias (<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Bacillus subtilis</i> e <i>Enterococcus faecium</i>)	2 – 3 kg/ha	1g/1mL de água/Kg de sementes
Biotrio®	Biotrop	1 x 10 ¹¹ *	Suspensão Concentrada	<i>Bacillus pumilus</i> CCTB05, <i>B. subtilis</i> CCTB04, <i>B. amyloliquefaciens</i> CCTB09	100 - 900 mL/ha	30 – 100 mL/ha
Serenade®	Bayer	1 x 10 ⁹ *	Suspensão Concentrada	<i>Bacillus subtilis</i> linhagem QTS 713	4 – 6 L/ha	4 mL/Kg de sementes

Dados - *UFC/g ou mL; **Recomendações técnicas dos fabricantes.

3.2 Identificação bioquímica e morfológica dos isolados bacterianos

Para a identificação bacteriana, foram feitos testes bioquímicos e morfológicos para a caracterização de gênero. Foram analisadas a morfologia das colônias, coloração pelo método de Gram, produção de endósporos, motilidade, teste da catalase, teste da citocromo-oxidase, via metabólica da glicose O/F, fermentação da lactose, teste do vermelho de metila (VM), teste de Voges-Proskauer (VP), utilização do citrato como fonte única de carbono, descarboxilação da arginina (arg), descarboxilação da ornitina, descarboxilação da lisina (lis), desaminação da fenilalanina (fen), produção de indol, produção de sulfeto de hidrogênio, produção de pioverdina e produção de piocianina (PROCOP et al., 2018).

3.3 Antagonismo *in vitro* de isolados bacterianos sobre *M. phaseolina*

Os 18 isolados bacterianos foram multiplicados durante 24 horas em caldo LB (Luria Bertani), com concentração final de 1×10^8 UFC/mL. O fungo *M. phaseolina* foi repicado para meio Agar Batata Dextrose (BDA), e as placas foram mantidas por 5 dias em estufa tipo BOD (Biochemical Oxygen Demand). Os isolados bacterianos foram incorporados ao meio BDA quando o mesmo atingiu a temperatura de aproximadamente 50 °C na concentração de 30 mL dos isolados para um litro de meio. Os produtos comerciais Serenade® e Biotrio® seguiram as doses recomendadas pelos fabricantes, já o Compost-Aid® foi utilizado a dose de 5g/L definida em teste de bancada. Discos de 6 mm de diâmetro do patógeno foram colocados no centro das placas de Petri de 90 mm com BDA já solidificada com os tratamentos. O controle foi composto por cultivo único do fitopatógeno. As placas foram mantidas à 28 °C por 5 dias (NASCIMENTO et al. 2016). A Porcentagem de Inibição do Crescimento (%PIC) do fungo foi calculada usando a seguinte fórmula:

$$\%PIC = [(Rc - Rt)/Rc] \times 100$$

No qual, “Rc” é o crescimento radial do patógeno de teste nas placas de controle (mm) e “Rt” é o crescimento radial do patógeno de teste nas placas de teste (mm). O delineamento foi inteiramente casualizado, composto de 19 tratamentos e 5 repetições, o ensaio foi repetido.

Os isolados que apresentaram atividade antagonista foram submetidos a ensaios *in vitro* e *in vivo* de promoção de crescimento.

3.4 Avaliação de características de promoção de crescimento de plantas

3.4.1 Solubilização de fosfato inorgânico

As bactérias que apresentaram atividade antagonista foram repicadas para meio de cultura sólido composto por: glicose - 10 g; ágar - 20 g; asparagina - 2 g; $MgSO_4$ - 0,5 g; NaCl - 0,1 g; KCl - 0,1 g; extrato de levedura - 0,5 g; água destilada - 1000 mL e pH ajustado para 7,0 com NaOH 1N, e depois de passar pelo processo de esterilização é necessário a adição asséptica de mais 50 mL de solução esterilizada de K_2HPO_4 (10%) e 100 mL de solução esterilizada de $CaCl_2$ (10%) para a formação do $CaHPO_4$ no meio (KATZNELSON; BOSE, 1959). A formação de halo claro no meio de cultura significa que as bactérias foram capazes de solubilizar o fósforo inorgânico.

3.4.2 Produção de Ácido Indol-Acético (AIA)

As bactérias foram cultivadas em caldo LB suplementado com L-triptofano (200 mg/L) por 72 horas a 28 °C, centrifugado (12,850 x g por 10 min). Em seguida, 2 mL de sobrenadante das bactérias foram misturados com 4 mL de Reagente de Salkowski ($FeCl_3$ 0,5 M em solução de $HClO_4$ a 35%) e 2 gotas de solução ortofosfórica ácida, incubado por 30 min a 25 °C. O desenvolvimento da cor rosa indica produção AIA de acordo com Damodaran et al., (2013), adaptado.

3.4.3 Produção de biofilme

Foram pegos 10 μ L de uma cultura noturna de cada isolado bacteriano e adicionado em 9 mL de meio LB estéril, e os tubos foram incubados a 37 °C por 48 h, após esse período foi descartado cuidadosamente o meio de cultura e os tubos foram corados com cristal violeta por 30 segundos, e lavados cuidadosamente para melhor visualização do biofilme (HANEY et al. 2018), adaptado.

3.4.4 Promoção de crescimento em mudas de meloeiro

A avaliação da capacidade promotora de crescimento em mudas de melão amarelo ‘Goldex’ foi realizada pelo tratamento das sementes. Os tratamentos foram realizados com as doses dos produtos recomendadas pelos fabricantes (Tabela 1), para os isolados que apresentaram atividade antagônica, os mesmos foram multiplicados em meio LB por 48 h, e a concentração foi corrigida para a densidade ótica (O.D.) de 0,32 a 650 nm, usando espectrofotômetro UV/VIS (KOWALCZYK et al., 2016), e a dose aplicada foi de 4 mL/Kg de sementes.

O tratamento das sementes foi realizado pela adição dos volumes sobre as sementes e homogeneizadas em sacos plásticos para sua completa cobertura pelos inóculos e deixadas até a completa secagem das sementes. Em seguida, foram semeadas em bandejas de polietileno com substrato previamente autoclavado durante uma hora a 120 °C, duas vezes, em intervalos de 24 horas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 9 tratamentos (3 produtos, 5 isolados bacterianos e uma testemunha tratada apenas com água destilada esterilizada) composto de 3 repetições, sendo cada repetição composta por 25 sementes. Para a análise da promoção do crescimento, 12 dias após a semeadura, as plântulas foram levadas ao laboratório onde foram avaliados os comprimentos das partes: aérea e raiz, em seguida, foram secas em estufa de circulação de ar a 60 °C até atingir massa constante, para avaliação de massa seca.

3.5 Controle biológico *in vivo* de *M. phaseolina*

Os ensaios foram conduzidos em casa de vegetação, na UFERSA (5°12’48’’S/37°18’44’’W), em delineamento inteiramente casualizado (DIC), sendo os tratamentos compostos por 5 isolados bacterianos, 3 produtos comerciais (Serenade[®], Biotrio[®] e Compost-Aid[®]), e os controles, com e sem inóculo de *M. phaseolina*, totalizando 10 tratamentos, com 5 repetições cada. O ensaio foi repetido. A unidade experimental foi constituída de uma planta de melão amarelo ‘Goldex’ por vaso de capacidade de 15 litros de solo esterilizado. O solo e o composto areno-orgânico foram adquiridos na Fazenda Agrícola Famosa, localizada em Icapuí - CE. Estes foram esterilizados em autoclave, à 120 °C, durante dois dias, sendo uma hora por dia, com intervalo de 24 horas. O solo utilizado foi coletado na camada de 0-20 cm de profundidade onde encontra-se a maior comunidade de PHS. Uma amostra homogênea foi coletada para a realização da análise química do solo, que foi

realizada no laboratório de fertilidade do solo e nutrição de plantas da UFERSA, obtendo os resultados contidos na tabela 2.

Tabela 2. Atributos químicos de amostras de solo e composto areno-orgânico. Mossoró-RN, UFERSA, 2023.

Amostras	N g/Kg	pH H ₂ O	CE dS/m ⁻¹	P -----mg/dm ³ -----	K ⁺	Na ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al -----cmol _e /dm ³ -----	SB	CTC	PST %
Solo	-	7,1	0,08	99,2	54,4	14,8	2,40	1,10	0,00	0,00	3,70	3,70	2
Composto	-	7,1	3,13	243,3	2.904,0	420,0	14,1	4,26	0,00	0,00	27,62	27,62	7

N: Nitrogênio; pH: Potencial hidrogeniônico; P: Fósforo; K⁺: Potássio; Na⁺: Sódio; Ca²⁺: Cálcio; Mg²⁺: Magnésio; Al³⁺: Alumínio; H+Al: Hidrogênio + Alumínio; SB: Saturação de Bases; CTC: Capacidade de Troca Catiônica; PST: Percentagem de Sódio Trocável; CE: Condutividade Elétrica.

3.5.1 Produção do inóculo de *M. phaseolina* e infestação do solo

O fungo foi cultivado em sacos de polipropileno (PP) contendo composto areno-orgânico (LEFÈVRE; SOUZA, 1993), composto de três partes de esterco curtido, uma parte de areia lavada e 2% de aveia (v/m), no qual foram adicionados 20 mL de água destilada para cada 100 mL de substrato. O composto foi previamente esterilizado em autoclave, à 120 °C durante dois dias, sendo uma hora por dia, com intervalo de 24 horas. Posteriormente, em câmara asséptica, foram transferidos 8 discos de 5 mm de diâmetro retirados das bordas das colônias em crescimento para sacos contendo composto areno-orgânico.

Os sacos foram mantidos em estufa incubadora BOD, a 28 ± 2 °C, por quinze dias, sendo periodicamente agitados com o objetivo de homogeneizar a infestação. Um saco sem o inóculo, foi mantido nas mesmas condições dos sacos com o micélio, servindo como referencial de possíveis contaminações. Vasos de 15 L foram preenchidos com solo + composto areno-orgânico na proporção de 2:1 (solo/composto) e devidamente esterilizados conforme descrito anteriormente. O solo dos vasos foi infestado com o referido patógeno, na camada de 10 cm de profundidade, na dosagem de 18 g/L de solo.

3.5.2 Produção, transplântio das mudas e práticas culturais

Sementes do melão amarelo cv. ‘Goldex’ (Topseed™) foram semeadas em bandejas de polietileno, contendo substrato autoclavado. As bandejas foram irrigadas de forma manual, duas vezes ao dia. O transplântio das mudas foi realizado 10 dias após a semeadura quando

estavam com uma folha definitiva, sendo uma muda por vaso. Os vasos foram irrigados de forma manual e as adubações foram feitas conforme a análise do solo e a necessidade da cultura.

3.5.3 Aplicação dos inóculos bacterianos

As suspensões bacterianas foram cultivadas em caldo LB, a 28 °C por 48 h, as concentrações foram ajustadas para a densidade óptica (O.D.) de 0,24 a 650 nm usando espectrofotômetro UV/VIS (KOWALCZYK et al., 2016). Os produtos comerciais Serenade® e Biotrio® foram formulados de acordo com as concentrações de calda dos fabricantes (Tabela 1). O produto Compos-Aid® foi utilizado na concentração de 5 g/L. Os volumes aplicados por planta foram de 14 mL para os isolados e Serenade®; 7,14 mL de Biotrio® e 28,5 mL de Compos-Aid® foram determinados levando em consideração o volume de calda aplicada por hectare. A aplicação dos inóculos e produtos foram feitas uma vez por semana durante 60 dias.

3.6 Incidência e severidade da doença

As avaliações de incidência e severidade de doenças foram realizadas aos 60 dias após transplante. A incidência foi estimada pelo percentual de plantas sintomáticas em cada tratamento. A severidade da doença foi avaliada utilizando-se a escala de notas descrita por Ambrósio et al. (2015), em que 0 = assintomático, 1 = menos de 3% dos tecidos infectados, 2 = 3-10% dos tecidos infectados, 3 = 11-25% dos tecidos infectados, 4 = 26-50% dos tecidos infectados, 5 = mais de 50% dos tecidos infectados e plantas mortas.

As plantas sintomáticas foram isoladas para confirmação do agente causal. Para isso, fragmentos da área limítrofe foram retirados de todas as plantas sintomáticas, e passaram por um processo de desinfestação superficial (BUENO et al., 2007). Foram colocados quatro fragmentos de cada planta em placas de Petri contendo meio de cultura batata (BDA + antibiótico (tetraciclina 0,05 g/L). Após os procedimentos, as placas foram mantidas em BOD a 28 ± 2 °C, por cinco dias. O patógeno foi identificado utilizando chaves de identificação (BARNETT; HUNTER, 1998), de acordo com as características morfológicas observadas.

3.7 Análise de crescimento e desenvolvimento do meloeiro

A análise do crescimento foi realizada, com auxílio de uma fita métrica, aos 30 e 60 dias para avaliação da altura das plantas, o diâmetro do caule foi avaliado com auxílio de um paquímetro digital (CARBOGRAFITE®). No fim do experimento (60 dias) foi avaliado a massa seca da parte aérea e raiz e volume de raiz.

3.8 Análise estatística

Para verificar o efeito dos tratamentos, foram avaliados os pressupostos da análise de variância da normalidade (Shapiro-Wilk) e homogeneidade a 5% de significância.

Para as variáveis que apresentaram distribuição normal, foi utilizada análise de variância (ANAVA), complementada com teste de Tukey ($p < 0,05$). Para as variáveis que não atenderam às pressuposições, foi realizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). Todas as análises foram realizadas no *software* R, versão 4.02 (R CORE TEAM, 2020).

4. RESULTADOS

4.1 Obtenção e caracterização dos isolados

Inicialmente foram obtidos 18 isolados bacterianos sendo 5 da Horta Didática da UFERSA, 6 da Fazenda Barrocas, e 7 da Fazenda Agrícola Bom Jesus, totalizando 18 isolados (Tabela 3).

Tabela 3. Locais de onde foram obtidos os isolados no estudo.

Locais onde foram isoladas as bactérias		
Horta Didática da UFERSA	Fazenda Barrocas (RN)	Fazenda Agrícola Bom Jesus (RN)
ISO 1	ISO 6	ISO 12
ISO 2	ISO 7	ISO 13
ISO 3	ISO 8	ISO 14
ISO 4	ISO 9	ISO 15
ISO 5	ISO 10	ISO 16
	ISO 11	ISO 17
		ISO 18

Os 18 isolados apresentaram colônias redondas, translúcidas, com bordas suaves e elevação convexa. As análises morfológicas identificaram 15 dos isolados com características de bacilos móveis, Gram-negativos e não produtores de endósporos. Os demais isolados ISO 6, ISO 8 e ISO 18, foram caracterizados como bacilos Gram-positivos, produtores de endósporo, sendo o ISO 6 caracterizado como não móvel por ausência de flagelo.

Todos os isolados bacterianos apresentaram respostas positivas para os testes de catalase e oxidase. A maioria dos isolados apresentaram metabolismo oxidativo, sendo capazes de utilizar a glicose apenas em condições de aerobiose, no entanto, os isolados ISO 6 e ISO 18 apresentaram metabolismo assacarolítico para a glicose, enquanto o ISO 8 apresentou a via fermentativa.

Na avaliação da utilização do citrato como fonte de carbono, apenas os isolados ISO 6 e ISO 18 não foram capazes de utilizá-lo. A maioria dos isolados foram capazes de realizar descarboxilação da arginina, com exceção do ISO 6 e ISO 18, também, a maioria dos isolados, com exceção dos: ISO 6, ISO 8 e ISO B2 produziram pioverdina em meio de cultura, dentre estes, os isolados ISO 9, ISO 10, ISO 11, ISO 12, ISO 14, ISO 15, ISO 16 e ISO 17 foram também capazes de produzir o pigmento piocianina.

Foram negativos os resultados de todos os isolados para fermentação da lactose, testes do vermelho de metila (VM) e Voges-Proskauer (VP), produção de indol, sulfeto de hidrogênio, descarboxilação da lisina, ornitina e desaminação da fenilalanina. Com tais informações, foi possível classificar os isolados bacterianos a nível de gênero, conforme descrito na Tabela 4.

Tabela 4. Isolados obtidos no estudo e seus respectivos gêneros.

Isolado	Gênero bacteriano	Isolado	Gênero bacteriano
ISO 1	<i>Pseudomonas</i> sp.	ISO 10	<i>Pseudomonas</i> sp.
ISO 2	<i>Pseudomonas</i> sp.	ISO 11	<i>Pseudomonas</i> sp.
ISO 3	<i>Pseudomonas</i> sp.	ISO 12	<i>Pseudomonas</i> sp.
ISO 4	<i>Pseudomonas</i> sp.	ISO 13	<i>Pseudomonas</i> sp.
ISO 5	<i>Pseudomonas</i> sp.	ISO 14	<i>Pseudomonas</i> sp.
ISO 6	<i>Bacillus</i> sp.	ISO 15	<i>Pseudomonas</i> sp.
ISO 7	<i>Pseudomonas</i> sp.	ISO 16	<i>Pseudomonas</i> sp.
ISO 8	<i>Bacillus</i> sp.	ISO 17	<i>Pseudomonas</i> sp.
ISO 9	<i>Pseudomonas</i> sp.	ISO 18	<i>Bacillus</i> sp.

O perfil morfológico e bioquímico de todos os isolados do estudo pode ser visualizado na Tabela 5.

4.2 Atividade antagônica dos isolados bacterianos testados sobre *M. phaseolina*

A atividade antagonista dos 18 isolados foram avaliadas contra *M. phaseolina* pelo ensaio de cultura dupla pelo cálculo da porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) (Figura 1).

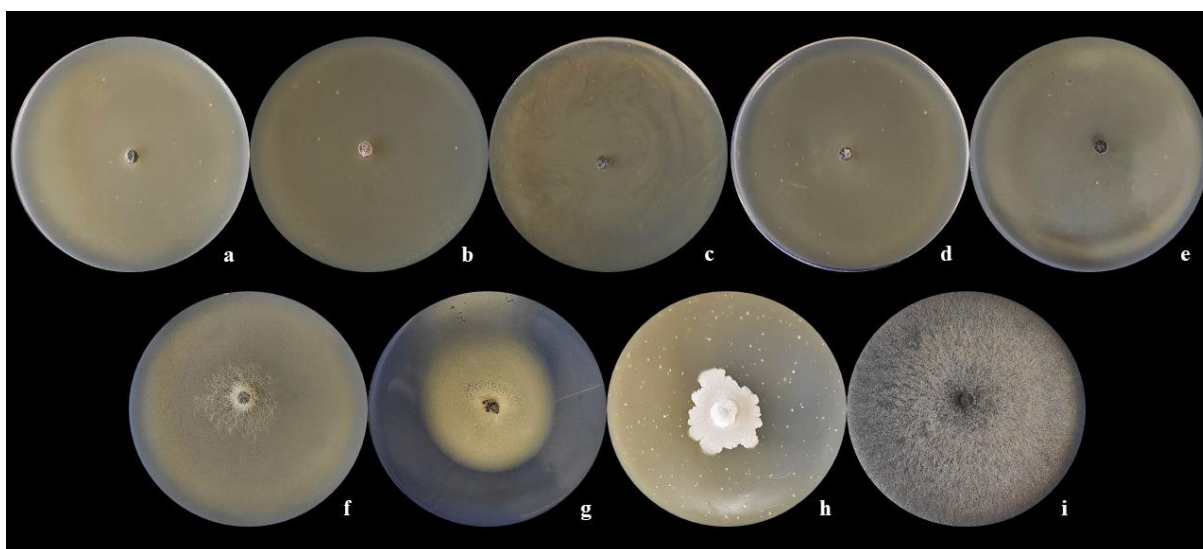


Figura 1. Ensaio *in vitro* do antagonismo de isolados bacterianos sobre *Macrophomina phaseolina*: **a** - ISO 11; **b** - ISO 13, **c** - ISO 15, **d** - ISO 16; **e** - ISO 18; **f** - Compost-Aid[®]; **g** - Biotrio[®]; **h** - Serenade[®] e **i** - Controle.

Dos 18 isolados testados, cinco demonstraram atividade antagônica, dentre esses, os isolados ISO 11, ISO 13, ISO 15, ISO 16, ISO 18, e o produto Serenade[®] apresentaram PIC superior a 90%, enquanto os produtos Compost-Aid[®] e Biotrio[®] apresentaram PIC superior a 80% (Figura 2).

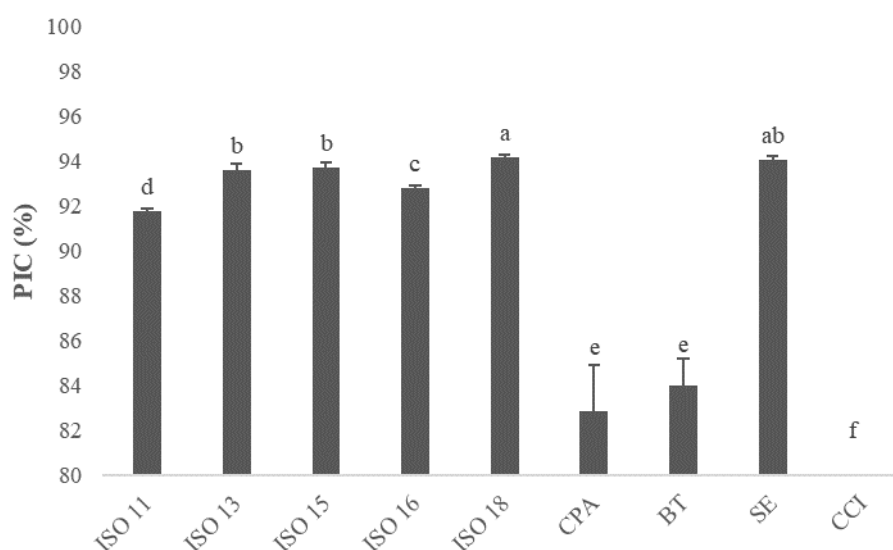


Figura 2. Porcentagem de Inibição de Crescimento (PIC) de inoculantes bacterianos sobre *Macrophomina phaseolina*. Barras seguidas pela mesma letra, não diferem estatisticamente entre si pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). Os dados são valores médios \pm erro padrão de dois experimentos, cada experimento com cinco repetições por tratamento. Isolados (ISO), Compost-Aid® (CPA), Biotrio® (BT), Serenade® (SE), Controle com inóculo (CCI). CV (%) = 3,2.

4.3 Avaliação *in vitro* de parâmetros de promoção do crescimento vegetal

A atividade promotora do crescimento vegetal por bactérias é caracterizada pela capacidade de alguns isolados serem capazes de produzirem hormônios de crescimento vegetal e também ajudem na assimilação de nutrientes e proteção da mesma. A produção de biofilme foi observada nos isolados ISO 11, ISO 13, ISO 15 e ISO 16. A capacidade de produzir auxina e solubilizar fósforo inorgânico não foi observada nos isolados testados (Tabela 6).

Tabela 6. Características relevantes dos isolados bacterianos relacionadas com seu potencial promotor de crescimento vegetal. ISO=isolado.

Isolados	Produção de biofilme	Produção de AIA	Solubilização de fósforo
ISO 11	+	-	-
ISO 13	+	-	-
ISO 15	+	-	-
ISO 16	+	-	-
ISO 18	-	-	-

Os resultados de cada teste foram avaliados de acordo com uma escala relativa: +, atividade detectada; e -, nenhuma atividade detectada.

4.4 Avaliação *in vivo* do crescimento das mudas de meloeiro

Doze dias após a semeadura, as mudas de meloeiro foram avaliadas através das leituras do comprimento da parte aérea e da raiz, e massa seca. No período avaliado não foi verificado diferença estatística entre os tratamentos testados no crescimento das mudas de meloeiro, pelo método de tratamento das sementes (Tabela 7 e Figura 3).

Tabela 7. Efeito do tratamento de sementes com isolados bacterianos e produtos comerciais sobre o Comprimento Aéreo (CA), e de Raiz (CR), Massa Seca da Parte Aérea (MSA) e da Raiz (MSR), em meloeiro *Cucumis melo* cv. ‘Goldex’.

Tratamentos	CA (cm)*	CR (cm)*	MSA (g)*	MSR (g)*
ISO 11	12,48 ± 0,17 a	6,41 ± 0,06 a	0,07 ± 0,00 a	0,01 ± 0,00 a
ISO 13	12,98 ± 0,23 a	6,48 ± 0,09 a	0,07 ± 0,00 a	0,01 ± 0,00 a
ISO 15	12,55 ± 0,18 a	6,40 ± 0,08 a	0,07 ± 0,00 a	0,01 ± 0,00 a
ISO 16	12,78 ± 0,09 a	6,32 ± 0,04 a	0,07 ± 0,00 a	0,01 ± 0,00 a
ISO 18	12,87 ± 0,24 a	6,40 ± 0,05 a	0,07 ± 0,00 a	0,01 ± 0,00 a
CPA	12,56 ± 0,18 a	6,45 ± 0,13 a	0,07 ± 0,00 a	0,01 ± 0,00 a
BT	12,47 ± 0,11 a	6,36 ± 0,03 a	0,07 ± 0,00 a	0,01 ± 0,00 a
SE	12,70 ± 0,28 a	6,30 ± 0,04 a	0,07 ± 0,00 a	0,01 ± 0,00 a
CTL	12,63 ± 0,05 a	6,43 ± 0,17 a	0,07 ± 0,00 a	0,01 ± 0,00 a
CV (%)	2,51	2,36	9,23	14,26

Valores seguidos da mesma letra na coluna não apresentam diferença estatística entre si. *Teste de Tukey ($p < 0,05$). Os dados são valores médios ± erro padrão, cada tratamento composto de três repetições sendo cada repetição composta por 25 mudas de meloeiro. Isolados (ISO), Compost-Aid® (CPA), Biotrio® (BT), Serenade® (SE), Controle (CTL).



Figura 3. Ensaio *in vivo* de promoção de crescimento de mudas de meloeiro pelo tratamento de sementes com inoculantes bacterianos: **a** - ISO 11; **b** - ISO 13, **c** - ISO 15, **d** - ISO 16; **e** - ISO 18; **f** - Compost-Aid®; **g** - Biotrio®; **h** - Serenade® e **i** - Controle.

4.5. Ensaio *in vivo* em casa de vegetação

4.5.1. Incidência e Severidade da doença

Os isolados ISO 11 e ISO 18 proporcionaram menor incidência da doença em relação ao controle, com incidência de 60 e 50%, respectivamente. Já com relação aos produtos comerciais, Compost-Aid® e Serenade® apresentaram incidência de 60%. Os demais tratamentos não apresentaram diferença estatística em relação ao controle (Tabela 8). A severidade da doença foi menor para o isolado ISO 18 e para os produtos Compost-Aid® e Serenade® apresentando a média de notas de 1,4; 1,6 e 1,1 respectivamente, em relação ao controle (com inóculo), que apresentou média 3,0. Os demais tratamentos não diferiram do controle (com inóculo) (Tabela 8 e Figura 4). *M. phaseolina* como agente causal da doença foi confirmado pelo reisolamento do inóculo das plantas que apresentaram sintomas da doença onde com isso foi confirmado (Figura 5).

Tabela 8. Incidência e severidade da podridão cinzenta do caule em meloeiro cv. ‘Goldex’.

Tratamentos	Incidência (%)		Severidade	
	Rank	Média (%)	Rank	Média
ISO 11	49 b	60,0 ± 16,3	53,2 abc	2,1 ± 16,3
ISO 13	59 ab	80,0 ± 13,3	63,0 ab	2,7 ± 13,3
ISO 15	54 ab	70,0 ± 15,2	57,6 abc	2,4 ± 15,2
ISO 16	54 ab	70,0 ± 15,2	54,4 abc	2,1 ± 15,2
ISO 18	44 b	50,0 ± 16,6	43,2 bc	1,4 ± 16,6
CPA	49 b	60,0 ± 16,3	46,9 bc	1,6 ± 16,3
BT	59 ab	80,0 ± 13,3	57,5 abc	2,2 ± 13,3
SE	49 b	60,0 ± 16,3	40,0 cd	1,1 ± 16,3
CCI	69 a	100,0 ± 0,0	70,0 a	3,0 ± 00,0
CSI	19 c	0,0 ± 0,0	19,0 d	0,0 ± 00,0
χ^2	26,37		23,21	

χ^2 = valores significativos de qui-quadrado pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$); Valores seguidos da mesma letra na coluna não apresentam diferença estatística entre si. Os dados são valores médios ± erro padrão. Isolados (ISO), Compost-Aid® (CPA), Biotrio® (BT), Serenade® (SE), Controle com inóculo (CCI), Controle sem inóculo (CSI).

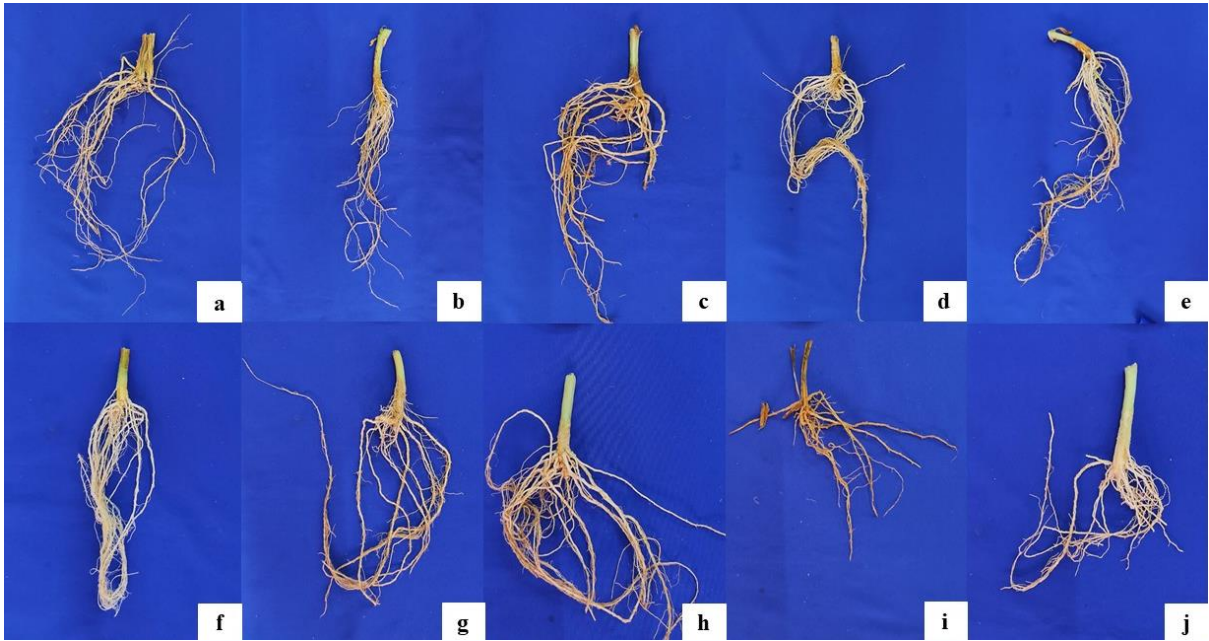


Figura 4. Amostras representativas das raízes de meloeiro nos diferentes tratamentos. **a** - ISO 11; **b** - ISO 13, **c** - ISO 15, **d** - ISO 16; **e** - ISO 18; **f** - Compost-Aid®; **g** - Biotrio®; **h** - Serenade®; **i** - Controle com inóculo e **j** - Controle sem inóculo.

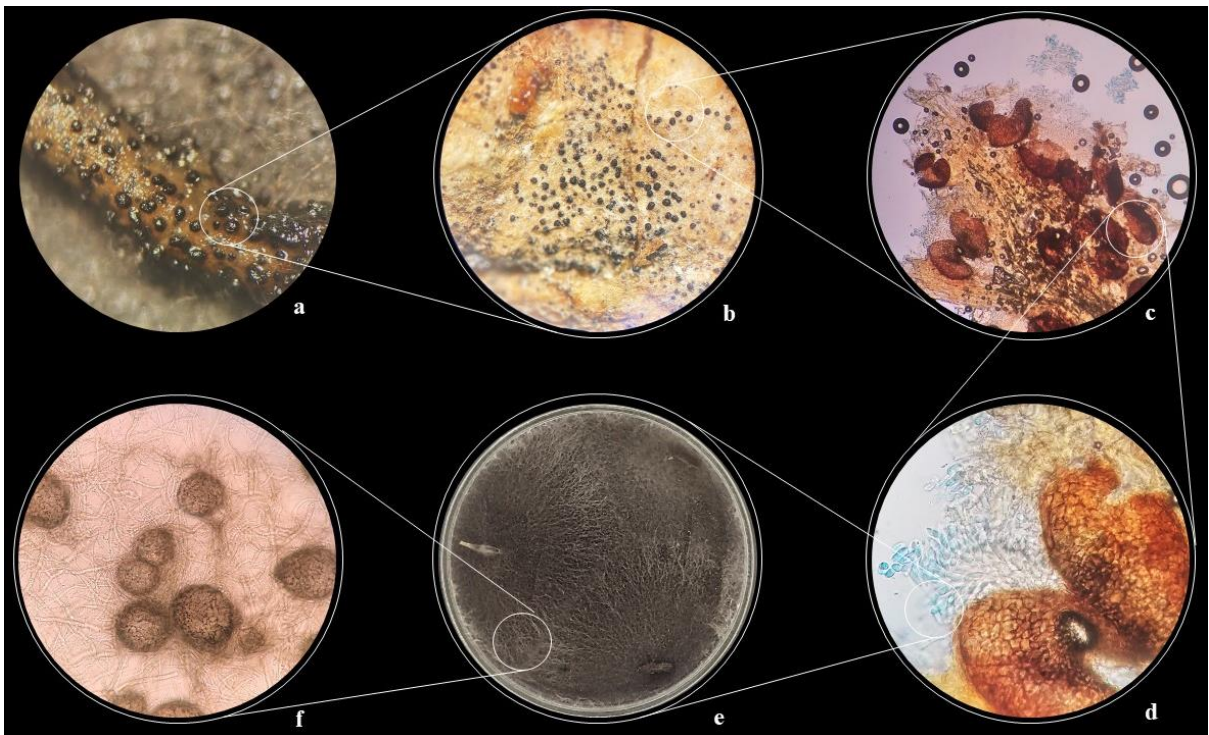


Figura 5. Estruturas de *M. phaseolina* visualizadas após o isolamento em plantas sintomáticas obtidas nos ensaios *in vivo* realizados em casa de vegetação. **a** = raiz de melão amarelo 'Goldex' colonizada com picnídios de *M. phaseolina*. **b** = visualização de picnídios de *M. phaseolina* em objetiva de 10x. **c** = Picnídios e esporos de *M. phaseolina* em raízes de melão amarelo 'Goldex' visualizados na objetiva de 10x **d** = Picnídios e esporos de *M. phaseolina* observados na objetiva de 40x. **e** = Crescimento micelial de *M. phaseolina* reisolada de raízes de melão amarelo 'Goldex'. **f** = Microescleródios e hifas de *M. phaseolina* obtidos em meio BDA e observados em objetiva de 40x.

4.5.2 Avaliação de crescimento de meloeiro

Com 30 DAT apenas o Serenade[®] apresentou diferença estatística em relação ao controle (com inóculo), porém, esse tratamento não diferiu dos demais. Aos 60 DAT não foram observadas diferenças estatísticas entre os tratamentos e o controle (com inóculo).

No diâmetro do caule, aos 30 e 60 DAT não houve diferença estatística entre os tratamentos. Aos 60 DAT também não foi observado diferença entre os tratamentos no volume radicular e massa seca da parte aérea e raiz (Tabela 9).

Tabela 9. Efeito dos diferentes tratamentos no Comprimento da Parte Aérea (CA), Diâmetro do Caule (DC), Volume da Raiz (VR), Massa Seca da Parte Aérea (MSA) e da Raiz (MSR) do meloeiro cv. ‘Goldex’.

Tratamentos	CA (m)		DC (mm)		VR (mL)*	MSA (g)**	MSR (g)*
	30 dias*	60 dias**	30 dias*	60 dias*			
ISO 11	1,56 ± 0,02 ab	3,09 ± 0,17 ab	7,27 ± 0,14 a	7,71 ± 2,22 a	3,60 ± 0,43 a	44,30 ± 2,64 ab	0,58 ± 0,04 a
ISO 13	1,55 ± 0,03 ab	3,41 ± 0,20 ab	6,97 ± 0,18 a	7,28 ± 0,16 a	3,80 ± 0,29 a	42,30 ± 3,49 b	0,48 ± 0,03 a
ISO 15	1,57 ± 0,04 ab	3,52 ± 0,27 a	6,95 ± 0,19 a	7,37 ± 0,23 a	4,70 ± 0,52 a	43,40 ± 2,42 ab	0,45 ± 0,08 a
ISO 16	1,47 ± 0,03 ab	2,95 ± 0,24 b	6,82 ± 0,18 a	7,23 ± 0,19 a	4,90 ± 0,57 a	46,80 ± 1,86 a	0,64 ± 0,04 a
ISO 18	1,51 ± 0,04 ab	3,38 ± 0,15 ab	7,21 ± 0,20 a	7,47 ± 0,15 a	4,50 ± 0,62 a	44,20 ± 1,97 ab	0,56 ± 0,05 a
CPA	1,55 ± 0,04 ab	3,33 ± 0,13 ab	6,83 ± 0,10 a	7,28 ± 0,12 a	5,60 ± 0,48 a	42,30 ± 1,15 ab	0,53 ± 0,04 a
BT	1,48 ± 0,04 ab	3,18 ± 0,23 ab	6,74 ± 0,17 a	7,20 ± 0,15 a	5,60 ± 0,64 a	40,60 ± 3,45 ab	0,48 ± 0,04 a
SE	1,61 ± 0,05 a	3,13 ± 0,18 ab	7,33 ± 0,29 a	7,61 ± 0,25 a	5,40 ± 0,50 a	44,50 ± 1,18 ab	0,49 ± 0,06 a
CCI	1,43 ± 0,03 b	3,26 ± 0,14 ab	7,11 ± 0,11 a	7,34 ± 0,13 a	3,90 ± 0,28 a	45,30 ± 1,70 ab	0,54 ± 0,02 a
CSI	1,42 ± 0,03 b	3,04 ± 0,21 ab	7,05 ± 0,13 a	7,24 ± 0,21 a	4,40 ± 0,40 a	42,60 ± 2,53 ab	0,47 ± 0,04 a
CV (%)	7,75	19,24	7,94	7,96	33,08	17,51	28,07

Valores seguidos da mesma letra nas colunas não apresentam diferença estatística entre eles. Os dados são valores médios ± erro padrão de dois experimentos independentes, cada experimento com cinco repetições (vasos) por tratamento. *Teste de Tukey ($p < 0,05$). ** Teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). Isolados (ISO), Compost-Aid® (CPA), Biotrio® (BT), Serenade® (SE), Controle com inóculo (CCI), Controle sem inóculo (CSI).

5 DISCUSSÃO

As análises dos perfis bioquímicos e morfológicos dos isolados demonstraram ser pertencentes aos gêneros *Pseudomonas* e *Bacillus*. A diferenciação de bactérias é predominantemente baseada na presença ou ausência de várias enzimas codificadas pelo material genético do cromossomo bacteriano. Por meio de uma série de testes que avaliam as características metabólicas dos microrganismos em estudo, é possível estabelecer um perfil bioquímico que pode levar à identificação do gênero e/ou espécie bacteriana (PROCOP et al., 2018).

A técnica de coloração de Gram é amplamente utilizada na microbiologia para separar as bactérias em dois grandes grupos com base na estrutura e composição da parede celular: Gram-positivas e Gram-negativas (PROCOP et al., 2018). As estruturas denominadas endósporos, com características morfológicas esféricas ou ovais, são formadas dentro de algumas espécies de bactérias em resposta à escassez de nutrientes ou condições adversas no ambiente, e seu tamanho, forma e localização nas células ajudam a caracterizar e identificar alguns gêneros, como *Clostridium*, *Bacillus* e outros gêneros menos relevantes (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017; PROCOP et al., 2018).

Relacionado a motilidade bacteriana, são avaliadas as estruturas denominadas flagelos, no qual é outra característica utilizada na identificação presuntiva, e sua quantidade e localização variam dependendo da espécie (PROCOP et al., 2018). O teste de catalase detecta a presença dessa enzima, que converte o peróxido de hidrogênio em água e gás oxigênio, e é importante na diferenciação de *Staphylococcus* (catalase positiva) e *Streptococcus* (catalase negativa) (ZAVALETA-MANCERA et al., 2007; OKURA; RENDE, 2008; PROCOP et al., 2018).

O teste de citocromo-oxidase é uma chave para diferenciar as famílias Pseudomonadaceae (positivas para oxidase) e Enterobacteriaceae (negativas para oxidase), e é útil para a especificação e identificação de outros gêneros de bactérias (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017; PROCOP et al., 2018).

A utilização da glicose, principal fonte de carboidratos para as bactérias, possui sua metabolização por vias oxidativa ou fermentativa, permitindo a diferenciação dos microrganismos. Alguns gêneros, como *Moraxella*, não são capazes de metabolizar carboidratos, mas obtêm energia a partir da decomposição de outros compostos orgânicos, como aminoácidos, álcoois e ácidos orgânicos (PROCOP et al., 2018). Os testes de vermelho (VM) de metila e Voges-Proskauer (VP) diferenciam as espécies bacterianas com base nas

vias metabólicas da glicose. Bactérias que utilizam preferencialmente a via de fermentação ácida mista, produzem ácidos suficientes para manter o pH abaixo de 4,4 (ponto de mudança de cor do indicador vermelho de metila), já o teste de VP detecta bactérias que utilizam a via do acetilmetilcarbinol (acetoína), normalmente são cepas do grupo *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* e *Hafnia* (MCDEVITT, 2009; PROCOP et al., 2018).

O teste de citrato diferencia as bactérias capazes de metabolizar esse composto como única fonte de carbono das que não possuem essa capacidade (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017; PROCOP et al., 2018). Algumas espécies de bactérias metabolizam enzimas que removem uma molécula de CO₂, formando aminas alcalinas que variam dependendo do aminoácido, permitindo a diferenciação dessas espécies (ANVISA, 2004). A produção de fenilalanina-desaminase é uma ferramenta útil para diferenciar inicialmente entre as espécies de *Proteus*, *Morganella* e *Providencia* e outras bactérias Gram-negativas. Isso ocorre porque apenas os membros desses gêneros e algumas cepas muito raras possuem a enzima responsável pela desaminação oxidativa da fenilalanina, como afirmado por PROCOP et al. (2018).

O gênero *Pseudomonas* é conhecido por englobar uma diversidade de espécies, descritas principalmente com forma de bastonetes móveis, Gram-negativos e aeróbicos. No entanto, sabe-se que algumas espécies como *P. aeruginosa* e *P. denitrificans* são capazes de crescer em ambiente anaeróbico devido sua capacidade de obterem elétrons por vias bioquímicas alternativas (PROCOP, 2018; AL-DHABAAN, 2019; KOLBECK et al., 2021).

O gênero *Bacillus* é caracterizado pelo grupo de bactérias com formato de bastonete, geralmente móveis e Gram-positivas, podendo apresentar metabolismo aeróbico ou anaeróbico facultativo, catalase positiva e oxidase variável de acordo com a espécie. Este gênero de bactérias produz endósporos, caracterizado como estruturas de resistência que possibilita as células a permanência de viabilidade em condições desfavoráveis por longos períodos (AMIN et al., 2015; ABEDINZADEH et al., 2019; AL-DHABAAN, 2019; CHENG et al., 2019).

A capacidade de algumas bactérias produzirem pigmentos é uma forma bastante utilizada para fins de classificação. Nesse estudo foram observados a produção dos pigmentos pioverdina e piocianina, ou ambos, na maioria dos isolados. A pioverdina é um pigmento de coloração amarelo esverdeado, e quando exposta a luz ultravioleta produz fluorescência, esse pigmento tem função de sideróforo, moléculas quelantes de ligação de ferro envolvidos no transporte desse elemento para dentro das células (RINGEL, BRÜSER, 2018).

A piocianina é uma fenazina de coloração azul-esverdeada produzida por *Pseudomonas aeruginosa* e bastante utilizada na diferenciação dessa espécie em relação a outras do gênero *Pseudomonas*. Algumas cepas de *Pseudomonas* podem apresentar produção de ambos os pigmentos (pioverdina e piocianina), outras podem produzir apenas um dos pigmentos, como também não serem produtoras de ambos. (PROCOP, 2018; SILVA et al., 2021).

Os resultados de todos os isolados para fermentação da lactose, VM, VP, produção de indol, sulfeto de hidrogênio, descarboxilação da lisina, ornitina e desaminação da fenilalanina foram negativos. Os mesmos resultados foram relatados em estudos que realizaram tais ensaios na caracterização dos gêneros *Pseudomonas* e *Bacillus* (ABEDINZADEH et al., 2019; AL-DHABAAN, 2019; CHENG et al., 2019; WANG et al., 2021; GUZMÁN-MORENO et al., 2022).

Os resultados obtidos nos dois ensaios *in vitro*, confirmaram a ação supressora das bactérias sobre o fitopatógeno. Os agentes de biocontrole podem apresentar variadas formas de ação sobre os fitopatógenos, podendo ter ação direta, com interações sobre o patógeno, e ação indireta, com a indução de resistência do hospedeiro.

Dentre os mecanismos antagônicos de agentes de biocontrole, é possível encontrar a competição, que se dá pela relação entre dois ou mais organismos competindo pelo mesmo objetivo, sendo por espaço, nutrientes e/ou oxigênio; a produção de enzimas degradadoras de parede celular, como quitinase, glucanase e protease (PAL; GARDENER, 2006; CASTALDI et al., 2021), compostos voláteis e sideróforos (MILJAKOVIĆ et al., 2020; CASTALDI et al., 2021), antibiose pela produção de compostos antimicrobianos podem ser derivados do metabolismo primário, do metabolismo secundário ou de polipeptídeos de baixo peso molecular, como antibióticos, bacteriocinas, sideróforos e secreção de enzimas hidrolíticas (BULGARELLI et al., 2013) ou indução de resistência sistêmica das plantas (MEENA et al., 2020).

Segundo Junaid et al. (2013), a maioria dos compostos antimicrobianos disponíveis comercialmente para controle biológico é composta por bactérias dos gêneros *Pseudomonas* e *Bacillus*, além de fungos do gênero *Trichoderma*. Haas e Défago (2005) afirmam que as principais classes de compostos antibióticos utilizados no controle de fitopatógenos são as fenazinas, 2,4-diacetilfloroglucinol (2,4-DAPG), pioluteorina, pirrolnitrina e glitoxina. Conforme descrito por Raaijmakers et al. (2010), os biosurfactantes lipopeptídicos produzidos por espécies de *Pseudomonas* e *Bacillus* são compostos com ação de biocontrole

devido ao seu potencial efeito em outros organismos, tais como bactérias, fungos, oomicetos, protozoários, nematoides e plantas.

Em estudo, Castaldi et al. (2021), constataram a ação antagônica sobre *M. phaseolina* de isolados do gênero *Bacillus* obtidos em área de salinas, no qual dos 22 isolados analisados, 11 apresentaram atividade antagônica, variando de 15 a 60 %. Já Torres et al. (2016), verificaram inibição do crescimento micelial sobre três cepas de *M. phaseolina* por *B. subtilis* subsp. *subtilis* e *B. amyloliquefaciens*, avaliando três frações dos inóculos bacterianos, suspensão celular (SC), sobrenadante livre de células (SLC) e a fração lipopeptídica (FL), onde SC exibiu o maior efeito inibitório (cerca de 50%) quando comparado aos de SLC e FL, independentemente da cepa fúngica estudada.

Neste estudo, os ensaios realizados que avaliaram *in vitro* as características de promoção de crescimento mostraram que a maioria dos isolados, com exceção do ISO 18, foram capazes de sintetizar biofilme, mas nenhum foi capaz de produzir ácido indol-acético (AIA) e solubilizar fósforo. Essa característica de produzir biofilme pode ser uma característica positiva para as bactérias como também para as plantas.

Os biofilmes bacterianos são compostos de forma majoritária por exopolissacarídeos (EPS) que são polímeros altamente hidratados sintetizados pelas bactérias com o intuito de garantir sobrevivência em condições adversas (COSTA et al., 2018).

Estas substâncias desempenham funções importantes no ambiente da rizosfera, como adesão, agregação do solo, coesão, retenção de água, barreira protetora, absorção de compostos orgânicos, absorção de íons inorgânicos, fonte de nutrientes, troca de informações genéticas, doador de elétrons ou aceitador, exportação de componentes celulares e ligação de enzimas (FLEMMING, WINGENDER, 2010).

Os biofilmes bacterianos são compostos importantes para o crescimento e preservação da rizosfera das plantas. Haque et al., (2020) observaram que as matrizes de biofilme são esponjosas e fibrosas, dessa forma elas aumentam a capacidade de retenção de água no solo para ajudar as bactérias e as raízes da planta sob o estresse do déficit hídrico.

Dessa forma, os biofilmes são compostos chaves para a sobrevivência dos cultivares agrícolas frente às adversidades. A produção desses compostos encontrada nos isolados desta pesquisa é um indicativo promissor de que essas cepas poderiam ser aplicadas em plantações não somente com o intuito de inibir o crescimento de *M. phaseolina*, mas também possivelmente poderiam regular o déficit hídrico na rizosfera do meloeiro (BERLANGA-CLAVERO et al., 2022).

Apesar da existência de produção de biofilmes, os isolados estudados neste trabalho não apresentaram produção de outros compostos de interesse agrícola como a solubilização de fósforo e produção de AIA.

Segundo Hajiboland (2018), o fósforo é o segundo nutriente mais limitante para o crescimento das plantas. Ele desempenha um papel fundamental em vários processos fisiológicos primários, incluindo a fotossíntese, respiração e formação da membrana celular, devido ao seu papel como componente estrutural de muitas coenzimas, fosfoproteínas, fosfolipídeos e ácidos nucleicos (BABY; KUMAR; MALLICK, 2016). Sendo que, de acordo com Bhattacharyya e Jha (2012), existem vários gêneros bacterianos que são capazes de solubilizar fósforo não-lábil, incluindo *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Microbacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rhodococcus* e *Serratia*.

A produção de substâncias quelantes como sideróforos ou de ácidos inorgânicos e orgânicos como, por exemplo, o ácido glucônico pelos microrganismos, são mecanismos alternativos utilizados na solubilização de fosfatos inorgânicos pelo processo de acidificação do meio, pela liberação de prótons H^+ , que quelam as ligações do fósforo (P) de moléculas de oxi-hidróxidos de ferro (Fe) e alumínio (Al), onde são liberados para serem utilizadas pelas plantas (FERNÁNDEZ et al., 2008; SABER et al. 2009; GUPTA et al., 2015; FABIANSKA et al., 2019).

Outro fator observado neste estudo foi a capacidade desse isolados em não serem capazes de produzirem auxina, em especial o AIA. Os microrganismos, como bactérias e fungos, são capazes de produzir uma variedade de hormônios vegetais, incluindo auxinas, citocininas, giberelinas, ácido abscísico e etileno (SANTNER; ESTELLE, 2009).

Em estudo Pieterse et al. (2012), avaliaram que os fitormônios são moléculas que desempenham um papel direto na promoção do crescimento das plantas, incluindo o alongamento celular, a tolerância a estresses abióticos, a estimulação da reprodução e a colonização de microrganismos benéficos. Além disso, os fitormônios podem ter um papel indireto no desenvolvimento vegetal, regulando a resposta imune da planta contra patógenos e insetos herbívoros.

Conforme descrito por WOODWARD e BARTEL (2005), as rizobactérias têm a capacidade de sintetizar AIA a partir do triptofano, que é encontrado em diferentes concentrações nos exsudatos radiculares, variando de acordo com o genótipo da planta. O AIA é um fitormônio que possui efeito acentuado no crescimento e desenvolvimento vegetal, podendo atuar na divisão celular, iniciação e diferenciação das raízes, diferenciação dos

tecidos vasculares em floema e xilema, promoção do florescimento e auxílio na formação e crescimento dos frutos, como apontado por Korasick et al. (2013). Dessa forma, a produção de AIA por rizobactérias pode ser uma estratégia interessante para aumentar a produtividade e a qualidade das culturas agrícolas, além de contribuir para a redução do uso de fertilizantes químicos e outros agroquímicos.

Nesse estudo o ensaio de tratamento das sementes com os isolados bacterianos e produtos comerciais não promoveram crescimento das plântulas de meloeiro.

A capacidade de promover o crescimento vegetal varia de acordo com os isolados utilizados e sua capacidade de produzirem fatores que estimulem a germinação e crescimento da plântula, além do método de inoculação dos agentes biológicos empregado. Em estudo, García-Gutiérrez et al. (2012), observaram o crescimento radicular do meloeiro e pepino com o tratamento das sementes com isolados de *Bacillus* e *Pseudomonas*, que germinaram em placas de Petri sete dias após a semeadura, além disso, os autores observaram por meio do ensaio de bacterização das raízes do meloeiro, que após 15 dias do processo houve aumento da massa fresca em 30% em relação ao controle, sendo correlacionado tal capacidade promotora de crescimento a habilidade de alguns isolados produzirem auxina, sideróforos e biofilme, como metabólitos naturais de seu crescimento.

O tratamento de sementes com inoculantes bacterianos podem ter algumas desvantagens. Segundo Bashan et al. (2014), o tamanho da semente, a capacidade de adesão do inóculo na semente, a liberação de agentes antibacterianos compostos nas sementes, alguns fungicidas e inseticidas aplicados as sementes podem ser prejudiciais aos inoculantes.

Os ensaios em casa de vegetação com meloeiro em solo artificialmente infestado com *M. phaseolina* demonstrou que o isolado ISO 18 e os produtos comerciais: Compost-Aid® e Serenade® foram capazes de reduzir a severidade da doença em meloeiro em 53,4%; 46,7% e 63,4% respectivamente. Esses três tratamentos possuem em comum a presença do gênero *Bacillus*, já descrito como excelentes controladores biológicos devido suas diferentes formas de mecanismos de ação contra fitopatógenos, além disso, o Compost-Aid® possui também em sua composição as bactérias *Lactobacillus plantarum* e *Enterococcus faecium*, e enzimas (proteases, celulase e xilanase) que atuam no processo de decomposição da matéria orgânica no meio ambiente onde é utilizado.

O gênero *Bacillus* é bastante conhecido como agente de biocontrole de diversos fitopatógenos, tanto de patógenos de parte aérea, como radicular. A espécie *B. subtilis*, por exemplo, é relatada por possuir em seus mecanismos de ação a capacidade de síntese de metabólitos secundários, hormônios, enzimas degradativas, e apresentarem a produção e

excreção de antioxidantes, que auxiliam a planta em sua defesa contra doenças causadas por inúmeros fitopatógenos (HASHEM et al., 2019; CASTALDI et al., 2021).

A incidência do patógeno também foi menor nos tratamentos que tiveram menor severidade da doença (ISO 18, Compost-Aid[®] e Serenade[®]), e no tratamento com o ISO 11 que foi caracterizado bioquimicamente como do gênero *Pseudomonas*. Devido aos mais variados mecanismos já descritos para o gênero *Bacillus*, tais tratamentos favoreceram a redução de incidência e severidade da podridão cinzenta do caule causada por *M. phaseolina*, corroborando com os resultados da pesquisa.

O gênero *Bacillus* pode ser descrito como biofertilizantes, devido sua aplicação possuir pouco ou nenhum efeito na composição das comunidades microbianas do solo, sendo membros comuns da microflora das raízes de plantas (RABBEE et al., 2019); além de produzir endósporos, sobrevivendo a altas temperaturas e desidratação, ainda facilitando a formulação de produtos comerciais (PESCE et al., 2014); e por possuírem habilidade de atuarem bem em diferentes condições ambientais (GARDNER, 2004).

A promoção do crescimento das plantas de melão aos 60 DAT não foi observada em nenhum tratamento. A ação não promotora de crescimento dos tratamentos com os isolados nesse estudo podem ser explicadas pela ausência da produção de alguns mecanismos, como produção de AIA e solubilização de fósforo.

O pleno crescimento das culturas agrícolas está associado diretamente a variados fatores bióticos e abióticos que vão atuar sobre o crescimento da planta. Entre um dos mecanismos de crescimento da planta está à produção de AIA endógeno ou por microrganismos presentes principalmente na sua rizosfera.

A produção deste fitormônio pelas bactérias associadas à rizosfera aumenta o número de pêlos radiculares e raízes laterais, modificando a arquitetura do sistema radicular sob estresse da seca e aumentando o número de pontas de raiz e a área de superfície do vegetal, promovendo assim a captação eficiente de minerais e água pelas plantas (HAQUE et al., 2010; OJUEDERIE et al., 2019). Porém, vários fatores fisiológicos, como presença ou ausência de precursor, a disponibilidade de substâncias, agentes que afetam a célula e fontes de carbono podem afetar a síntese de AIA bacteriano (WAGI; AHMED, 2019).

A solubilização microbiana aplica a capacidade natural de um microrganismo de liberar o fósforo de estruturas indisponíveis. Um dos principais mecanismos reconhecidos como responsáveis pela liberação de formas disponíveis de fósforo para plantas no solo é a produção de ácidos orgânicos e o aumento da atividade de fosfatases ácidas. Os ácidos

orgânicos convertem fosfatos em formas solúveis, quelando os cátions ligados a fosfato através de seus grupos hidroxila e carboxila (SAEID et al., 2018). A produção de fosfatases ácidas e de ácidos orgânicos está diretamente relacionada com a disponibilização do fósforo para as plantas melhorando o desempenho fisiológico das culturas agrícolas (RIBEIRO et al., 2022).

A ausência de produção de solubilizadores de fósforo nos isolados estudados pode também estar correlacionada com fatores fisiológicos. Upadhyay et al., (2011) identificaram que a presença de sais é capaz de modificar a secreção de metabólitos bacterianos importantes, como ácido indol acético e a capacidade de solubilização de fosfato.

No entanto, outros pesquisadores já relataram a promoção do crescimento de mudas de meloeiro com uso de *Bacillus* pelo aumento da massa fresca do caule, comprimento do caule, diâmetro do caule e massa seca do caule e raiz com seis semanas de desenvolvimento (KOKALIS-BURELLE et al., 2003).

Vejan et al. (2016), aponta algumas características que as BPCP devem apresentar para serem consideradas como excelentes bioinóculos como: serem altamente compatível com a rizosfera e ecologicamente correto, deve colonizar as raízes das plantas em número significativo após a inoculação, ser capaz de promover o crescimento das plantas, exibir um amplo espectro de ação, ser compatível com outras bactérias da rizosfera, ser tolerante a fatores físico-químicos como calor, dessecação, radiações e oxidantes e deve demonstrar melhores habilidades competitivas sobre as comunidades de rizobactérias existentes.

Os resultados destacam fortemente a necessidade de realizar mais pesquisas sobre a eficácia de tais cepas em condições de campo, além de avaliar outros métodos de aplicação dos inoculantes e dosagens.

6. CONCLUSÕES

O uso de inoculantes a base de bactérias dos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas* são eficientes no manejo alternativo de *M. phaseolina* na cultura do meloeiro.

Os produtos comerciais e 5 dos isolados bacterianos (ISO 11, ISO13, ISO 15, ISO 16 e ISO 18) de solos foram capazes de inibir o crescimento de *M. phaseolina* em ensaio *in vitro*.

Os produtos comerciais Compost-Aid® e Serenade® e o isolado ISO 18 reduziram a podridão cinzenta do caule.

Os tratamentos não foram capazes de promover o crescimento do meloeiro em plântulas com o tratamento das sementes, assim como em ensaio em casa de vegetação após 60 dias pós transplântio com aplicações diárias dos tratamentos.

REFERÊNCIAS

- ABEDINZADEH, M.; ETESAMI, H.; ALIKHANI, H. A. Characterization of rhizosphere and endophytic bacteria from roots of maize (*Zea mays* L.) plant irrigated with wastewater with biotechnological potential in agriculture. **Biotechnology Reports**, v. 21, p. 1 - 12, 2019.
- AKHTAR, K. P.; SARWAR, G.; ARSHAD, H. M. I. Temperature response, pathogenicity, seed infection and mutant evaluation against *Macrophomina phaseolina* causing charcoal rot disease of sesame. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 44, n. 4, p. 320 - 330, 2011.
- AL-DHABAAN, F. A. Morphological, biochemical and molecular identification of petroleum hydrocarbons biodegradation bacteria isolated from oil polluted soil in Dhahran, Saud Arabia. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, n. 6, p. 1247-1252, 2019.
- ALTIERI, M. A. The ecological impacts of large-scale agrofuel monoculture production systems in the Americas. **Bulletin of Science, Technology & Society**, v. 29, n. 3, p. 236-244, 2009.
- AMBRÓSIO, M. M.; DANTAS, A. C.; MARTÍNEZ-PEREZ, E.; MEDEIROS, A. C.; NUNES, G. H.; PICÓ, M. B. Screening a variable germplasm collection of *Cucumis melo* L. for seedling resistance to *Macrophomina phaseolina*. **Euphytica**, v. 206, n. 2, p. 287- 300, 2015.
- AMIN, M.; RAKHISI, Z.; AHMADY, A. Z. Isolation and Identification of *Bacillus* Species From Soil and Evaluation of Their Antibacterial Properties. **Avicenna Journal of Clinical Microbiology and Infection**, v. 2, p. 23233, 2015.
- ANDRADE, D. E. G. T.; MICHEREFF, S. J.; BIONDI, C. M.; NASCIMENTO, C. W.; SALES JR, R. Frequência de fungos associados ao colapso do meloeiro e relação com características físicas, químicas e microbiológicas dos solos. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 31, n. 4, p. 326-331, 2005.
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Monografias de agrotóxicos**. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/ptbr/acessoinformacao/dadosabertos/informacoesanaliticas/monografias-de-agrotoxicos>>. Acesso em: 20 fev. 2023.
- ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Deteção e Identificação de Bactérias de Importância Médica**. 5 ed. Brasil: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2004. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/microbiologia/mod_5_2004.pdf>. Acesso em: 25 jan. 2023.
- ARAFAT, Y.; TAYYAB, M.; KHAN, M. U.; CHEN, T.; AMJAD, H.; AWAIS, S.; LIN, X.; LIN, W.; LIN, S. Long-term monoculture negatively regulates fungal community composition and abundance of tea orchards. **Agronomy**, v. 9, n. 8, p. 1 - 15, 2019.
- ARAÚJO, J. M. Estratégias para isolamento seletivo de actinomicetos. In: MELO, I. S., AZEVEDO, J. L. (org). **Ecologia Microbiana**. Jaguariúna, Embrapa-CNPMA, p. 351-367, 1998.

AZARMI, R.; HAGIEGHRARI, B.; GIGLOU, A. Effect of *Trichoderma* isolates on tomato seedling growth response and nutrient uptake. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, p. 5850-5855, 2011.

BABY, K., KUMAR, A.; MALLICK, M. A. Phosphate solubilizing microbes: an effective and alternative approach as biofer tilizers. **International Journal Pharm Science**, v. 8, n. 2, p. 37-40, 2016.

BANO, Q.; ILYAS, N.; BANO, A.; ZAFAR, N.; AKRAM, A.; HASSAN, F. U. Effect of *Azospirillum* inoculation on maize (*Zea mays* L.) under drought stress. **Pakistan Journal of Botany**, v. 45, p. 13-20, 2013.

BARNETT H.; HUNTER B. B. Illustrated genera of imperfect fungi. **The American Phytopathological Society**, p. 234, 1998.

BARROS, V. D. S.; SANTOS, T. D. L.; SILVA, E. D. O.; SOUSA, J. A. D.; FIGUEIRÊDO, M. C. B. D. Agronomic and environmental performance of melon produced in the brazilian semiarid region. **Revista Caatinga**, v. 32, n. 4, p. 877-888, 2019.

BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. E.; PRABHU, S. R.; HERNANDEZ, J. P. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013). **Plant and soil**, v. 378, n. 1, p. 1-33, 2014.

BENIZRI, E.; BAUDOIN, E.; GUCKERT, A. Root colonization by inoculated plant growth-promoting rhizobacteria. **Biocontrol science and technology**, v. 11, n. 5, p. 557-574, 2001.

BERDY, J. Bioactive microbial metabolites, a personal view. **Journal of Antibiotics**, Tokyo, v. 58, n.1, p. 1-26, 2005.

BERLANGA-CLAVERO, M. V., MOLINA-SANTIAGO, C., CARABALLO-RODRÍGUEZ, A. M., PETRAS, D., DÍAZ-MARTÍNEZ, L., PÉREZ-GARCÍA, A., VISCENTE, A.; CARRIÓN, V. J.; DORRESTEIN P. C.; ROMERO, D. *Bacillus subtilis* biofilm matrix components target seed oil bodies to promote growth and anti-fungal resistance in melon. **Nature Microbiology**, v. 7, n. 7, p. 1001-1015, 2022.

BETTIOL, W. M. A. B.; MORANDI, M. A.; WAGNER BETTIOL, C. N. P. M. A.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009.

BHATTACHARYYA, P. N.; JHA, D. K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 4, p. 1327-1350, 2012.

BIOTROP. Disponível em: <<https://biotrop.com.br/produto/manejo-biologico/biotrio/>>. Acesso em: 20 fev. 2023.

BUENO, C. J; AMBRÓSIO, M. M. Q; SOUZA, N. L. Produção e avaliação da sobrevivência de estruturas de resistência de fungos fitopatogênicos habitantes do solo. **Summa Phytopathologica**. v. 33, n. 1, p. 47-55, 2007.

- CAFFARO, M. M.; VIVANCO, J. M.; BOEM, F. H. G.; RUBIO, G. The effect of root exudates on root architecture in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Growth Regul.** v. 64, p. 241 - 249, 2011.
- CAO, Y.; PI, H.; CHANDRANGSU, P.; LI, Y.; WANG, Y.; ZHOU, H.; XIONG, H.; HELMANN, J. D.; CAI, Y. Antagonism of Two Plant-Growth Promoting *Bacillus velezensis* Isolates Against *Ralstonia solanacearum* and *Fusarium oxysporum*. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1. P. 1 - 14, 2018.
- CASTALDI, S.; PETRILLO, C.; DONADIO, G.; PIAZ, F.D.; CIMMINO, A.; MASI, M.; EVIDENTE, A.; ISTICATO, R. Plant growth promotion function of *Bacillus* sp. strains isolated from salt-pan rhizosphere and their biocontrol potential against *Macrophomina phaseolina*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 7, p.1 - 18, 2021.
- CHANDRA, H.; KUMARI, P.; BISHT, R.; PRASAD, R.; YADAV, S. Plant growth promoting *Pseudomonas aeruginosa* from *Valeriana wallichii* displays antagonistic potential against three phytopathogenic fungi. **Mol Biol Rep**, v. 47, p. 6015 - 6026, 2020.
- CHENG, X.; JI, X.; GE, Y.; LI, J.; QI, W.; QIAO, K. Characterization of Antagonistic *Bacillus methyilotrophicus* Isolated From Rhizosphere and Its Biocontrol Effects on Maize Stalk Rot. **Phytopathology**, v. 109, p. 571 - 581, 2019.
- CHET, I.; BENHAMOU, S. H. Mycoparasitism and lectin enzymes. In: HARMA, G. E.; KUBICE, C. P. (Ed.). **Trichoderma & Gliocladium: enzymes, biological control and commercial applications**. London; Taylor & Francis, v. 2, p. 152-153, 1998.
- CHOUDHARY, D. K., SHARMA, K. P.; GAUR, R. K. Biotechnological perspectives of microbes in agro-ecosystems. **Biotechnol Lett.** v. 33, p. 1905 - 1910, 2011.
- CHOUDHARY, D. K.; JOHRI, B. N. Interactions of *Bacillus* spp. and plants—with special reference to induced systemic resistance (ISR). **Microbiological research**, v. 164, n. 5, p. 493-513, 2009.
- COHEN, R.; ELKABETZ, M.; PARIS, H. S.; FREEMAN, S.; GUR, A. Charcoal rot (*Macrophomina phaseolina*) across melon diversity: evaluating the interaction between the pathogen, plant age and environmental conditions as a step towards breeding for resistance. **European Journal of Plant Pathology**, v. 163, n. 3, p. 601-613, 2022.
- COHEN, R.; ELKABETZ, M.; EDELSTEIN, M. Variation in the responses of melon and watermelon to *Macrophomina phaseolina*. **Crop Prot.** v. 85, p. 46 - 51, 2016.
- COMPANT, S.; CLÉMENT, C.; SESSITSCH, A. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. **Soil Biology and Biochemistry**. v. 42, n. 5, p. 669-678, 2010.
- COSTA, O. Y. A.; RAAIJMAKERS, J. M.; KURAMAE, E. E. Microbial extracellular polymeric substances: ecological function and impact on soil aggregation. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 1636, 2018.
- DAMODARAN, T.; SHARMA, D. K.; MISHRA, V. K.; JHA, S. K.; KANNAN, R.; SAH, V.; RAI, R. B. Isolation of Salt Tolerant Endophytic and Rhizospheric Bacteria by Natural

Selection and screening for promising plant growth promoting Rhizobacteria [PGPR] and growth vigour in Tomato under sodic soil. v. 7, n. 44, p. 5082-5089, 2013.

DIAS, R.C.S.; TERAQ, D. Doenças das cucurbitáceas. In: OLIVEIRA, S. M. A.; TERAQ, D.; DANTAS, S. A. F.; TAVARES, S. C. C. H. **Patologia pós-colheita: frutas olerícolas e ornamentais tropicais**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. p. 597-627, 2006.

DJONOVIC, S.; VITTONI, G.; MENDOZA-HERRERA; A.; KENERLEY, C. Enhanced biocontrol activity of *Thichoderma virens* Transformants constitutively co expressing beta-1, 3 and bet-1, 6-glucanase genes. **Molecular Plant Pathology**, v.8, n.4, p.469 - 480, 2007.

FABIANSKA, I.; GERLACH, N.; ALMARIO, J.; BUCHER, M. Plant-mediated effects of soil phosphorus on the root-associated fungal microbiota in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytologist*, v. 221, n. 4, p. 2123-2137, 2019.

FARR, D. F; ROSSMAN, A. Y. Fungal Databases. U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA. Disponível em: <<https://nt.ars-grin.gov/fungalatabases>> Acesso em: 25 fev. 2023.

FERNÁNDEZ, R. I. E.; NOVAIS, R. F.; NUNES, F. N.; KER, J. C. Reversibilidade de fósforo não-lábil em solos submetidos à redução microbiana e química: II-extrações sucessivas do fósforo pela resina de troca aniônica. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 2319-2330, 2008.

FIGUEIREDO, M. C. B.; GONDIM R. S.; ARAGÃO, F. A. S. (Eds.). **Produção de melão e mudanças climáticas: sistemas conservacionistas de cultivo para redução das pegadas de carbono e hídrica**. Brasília: Embrapa, 2017. 302 p.

FLEMMING, H. C.; WINGENDER, Jost. The biofilm matrix. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, n. 9, p. 623-633, 2010.

FLEURI, L. F.; SATO, H. H. Produção, purificação, clonagem e aplicação de enzimas líticas. **Química Nova**. v. 28, n. 5, p. 871-879, 2005.

FREITAS, S. S.; AGUILAR-VILDOSO, C. I. Rizobactérias e promoção do crescimento de plantas cítricas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, n. 6, p. 987-994, 2004.

GARCÍA-FRAILE, P.; MENÉNDEZ, E., RIVAS, R. Role of bacterial biofertilizers in agriculture and forestry[J]. **AIMS Bioengineering**. v. 2, n. 3, p. 183-205, 2015.

GARCÍA-GUTIÉRREZ, L.; ROMERO, D.; ZERIOUH, H.; CAZORLA, F. M.; TORÉS, J. A.; DE VICENTE, A.; PÉREZ-GARCÍA, A. Isolation and selection of plant growth-promoting rhizobacteria as inducers of systemic resistance in melon. **Plant and soil**, v. 358, n. 1, p. 201-212, 2012.

GARDNER, B. B. M. Ecology of *Bacillus* and *Paenibacillus* spp. in Agricultural System. **Phytopathology**, v. 94, p. 1252 - 1258, 2004.

GOSWAMI, D.; THAKKER, J. N.; DHANDHUKIA, P. C. Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review. **Cogent Food & Agriculture**, v. 2, n. 1, p. 1 - 19, 2016.

GUPTA, G. K.; SHARMA, S. K.; RAMTEKE, R. Biology, epidemiology and management of the pathogenic fungus *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid with special reference to charcoal rot of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). **Journal of Phytopathology**, v. 160, p. 167 - 180, 2012.

GUPTA, G.; PARIHAR, S. S.; AHIRWAR, N. K.; SNEHI, S. K.; SINGH, V. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Current and Future Prospects for Development of Sustainable Agriculture. **Journal of Microbiol & Biochemical Technology**, v. 7, n. 2, p. 96-102, 2015.

GUZMÁN-MORENO, J.; GARCÍA-ORTEGA, L. F.; TORRES-SAUCEDO, L.; RIVAS-NORIEGA, P.; RAMÍREZ-SANTOYO, R. M.; SÁNCHEZ-CALDERÓN, L.; VIDALES-RODRÍGUEZ, L. E. *Bacillus megaterium* HgT21: a Promising Metal Multiresistant Plant Growth-Promoting Bacteria for Soil Bioremediation. **Microbiology Spectrum**, v. 10, p. e00656-22, 2022.

HAAS, D.; DÉFAGO, G. Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. **Nature Reviews Microbiology**, v. 3, n. 4, p. 307-319, 2005.

HAJIBOLAND, R. Nutrient deficiency and abundance in tea plants: metabolism to productivity. **Stress physiology of tea in the face of climate change**, p. 173-215, 2018.

HANEY, E. F.; BRITO-SÁNCHEZ, Y.; TRIMBLE, M. J.; MANSOUR, S. C.; CHERKASOV, A.; HANCOCK, R. E. W. Computer-aided discovery of peptides that Effect of phosphate solubilizing *Pseudomonas putida* on the growth of maize and its survival in the rhizosphere specifically attack bacterial biofilms. **Sci. Rep.**, v. 8, p. 1871, 2018.

HAQUE, M. M.; MOSHARAF, M. K.; KHATUN, M.; HAQUE, M. A.; BISWAS, M. S.; ISLAM, M. S.; SIDDIQUEE, M. A. Biofilm producing rhizobacteria with multiple plant growth-promoting traits promote growth of tomato under water-deficit stress. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 542053, 2020.

HARMAN, G. E.; BJÖRKMAN, T.; ONDIK, K.; HORESH, M. Changing paradigms on the mode of action and uses of *Trichoderma* spp. for biocontrol. **Outlooks on Pest Management**, v. 19 p. 24–29, 2008.

HASHEM A; TABASSUM B; ALLAH E. F. A. A plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, n. 6, p. 1291-1297, 2019.

HELBIG, J. Biological control of *Botrytis cinerea* pers, ex Fr. in Strawberry by *Paenibacillus polymyxa* (Isolate 18191). **Journal of phytopathology (1986)**, v. 149, n. 5, p. 265-273, 2001.

HORTIFRUT BRASIL: anuário 2022-2023. Piracicaba: USP. ISSN 1981-1837. Edição especial. Disponível em: <<https://www.hfbrasil.org.br/br/revista/acessar/completo/anuario-hf-brasil-retrospectiva-2022-perspectiva-2023.aspx>>. Acesso em: 19 fev. 2023.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasiliense***: inoculação em rendimento e baixo custo. Londrina: Embrapa Soja, p. 36, 2011.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção de melão**. 2021. Disponível em:<<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/melao/br>>. Acesso em: 16 fev. 2023.

JUNAID, J. M.; DAR, N. A.; BHAT, T. A.; BHAT, A. H.; BHAT, M. A. Commercial biocontrol agents and their mechanism of action in the management of plant pathogens. **International Journal of Modern Plant & Animal Sciences**, v. 1, n. 2, p. 39-57, 2013.

KATZNELSON, H.; BOSE, B. Metabolic activity and phosphate-dissolving capability of bacterial isolates from wheat roots, rhizosphere, and non-rhizosphere soil. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 5, n. 1, p. 79-85, 1959.

KAUR, S.; DHILLON, G. S.; BRAR, S. K.; VALLAD, G. E.; CHAND, R.; CHAUHAN, V. B. Emerging phytopathogen *Macrophomina phaseolina*: biology, economic importance and current diagnostic trends. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 38, n. 2, p. 136-151, 2012.

KHALID, A.; ARSHAD, M.; ZAHIR, Z. A. Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. **Journal of applied microbiology**, v. 96, n. 3, p. 473-480, 2004.

KIST, B.B., CARVALHO, C.; BELING, R.R. Anuário brasileiro de hort&fruti 2021. In R.R. BELING, ed. **Melão**. Santa Cruz do Sul: Gazeta Santa Cruz, p. 92-95, 2021.

KIST, B.B., CARVALHO, C.; BELING, R.R. Anuário brasileiro de hort&fruti 2022. Santa Cruz do Sul: Gazeta Santa Cruz, p. 86-89, 2022.

KOKALIS-BURELLE, N.; VAVRINA, C. S.; REDDY, M. S.; KLOEPPER, J. W. Amendment of muskmelon and watermelon transplant media with plant growth-promoting rhizobacteria: Effects on seedling quality, disease, and nematode resistance. **HortTechnology**, v. 13, n. 3, p. 476-482, 2003.

KOLBECK, S.; ABELE, M.; HILGARTH, M.; VOGEL, R. F. Comparative Proteomics Reveals the Anaerobic Lifestyle of Meat-Spoiling *Pseudomonas* Species. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 664061, 2021.

KORASICK, D. A.; ENDERS, T. A.; STRADER, L. C. Auxin biosynthesis and storage forms. **Journal of Experimental Botany**, v. 64, n. 9, p. 2541-2555, 2013.

KOUR, D.; RANA, K. L.; SHEIKH, I.; KUMAR, V.; YADAV, A. N.; DHALIWAL, H. S.; SAXENA, A. K. Alleviation of drought stress and plant growth promotion by *Pseudomonas libanensis* EU-LWNA-33, a drought-adaptive phosphorus-solubilizing bacterium. **Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences**, v. 90, n. 4, p. 785-795, 2020.

KOWALCZYK, A.; CHYC, M.; RYSZKA, P.; LATOWSKI, D. *Achromobacter xylosoxidans* as a new microorganism strain colonizing high-density polyethylene as a key step to its biodegradation. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, p. 11349-11356, 2016.

KUMAR, V.; JOSHI, S.; PANT, N. C.; SANGWAN, P.; YADAV, A. N.; SAXENA, A.; SINGH, D. Molecular approaches for combating multiple abiotic stresses in crops of arid and semi-arid region. In: Singh, S.P., Upadhyay, S.K., Pandey, A., Kumar, S. (Eds.), **Molecular**

Approaches in Plant Biology and Environmental Challenges. Springer, Singapore, p. 149 – 170, 2019.

LAHLALI, R.; PENG, G.; MCGREGOR, L.; GOSSEN, B. D.; HWANG, S. F.; MCDONALD, M. Mechanisms of the biofungicide Serenade (*Bacillus subtilis* QST713) in suppressing clubroot. **Biocontrol science and technology**, v. 21, n. 11, p. 1351-1362, 2011.

LANNA FILHO, R., FERRO, H. M., PINHO, R. S. C. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. **Revista Trópica Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 4, n. 2, p. 12-20, 2010.

LEFÈVRE, A. F.; SOUZA, N. L. Determinação da temperatura letal para *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii* e efeito da solarização sobre a temperatura do solo. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 19, n. 2, p. 107-112, 1993.

LIMA, L. H. C.; MARCO, J. L.; FELIX, C. R. Enzimas hidrolíticas envolvidas no controle biológico por micoparasitismo. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (Ed.). **Controle biológico**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente. p.263-284, 2000.

LODHA, S.; MAWAR, R. Population dynamics of *Macrophomina phaseolina* in relation to disease management: A review. **J Phytopathol**, v. 168, p. 1–17, 2020.

MAPA - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Coordenação-Geral de Agrotóxicos e Afins.** Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 16 fev. 2023.

MAPA. **Projeções do agronegócio:** Brasil 2020/21 a 2030/31. 2021. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/politica-agricola/todas-publicacoes-de-politica-agricola/projecoes-do-agronegocio/projecoes-do-agronegocio-2020-2021-a-2030-2031.pdf/view>>. Acesso em: 16 out. 2021.

MARQUEZ, N.; GIACHERO, M. L.; DECLERCK, S.; DUCASSE, D. A. *Macrophomina phaseolina*: General characteristics of pathogenicity and methods of control. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 634397, 2021.

MARRONE, P. G. An effective biofungicide with novel modes of action. **Pesticide Outlook**, v. 13, n. 5, p. 193-194, 2002.

MARTÍNEZ-VIVEROS, O.; JORQUERA, M. A.; CROWLEY, D. E.; GAJARDO, G. M. L. M.; MORA, M. L. Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 10, n. 3, p. 293-319, 2010.

MEENA, M.; SWAPNIL, P.; DIVYANSHU, K.; KUMAR, S.; TRIPATHI, Y. N.; ZEHRA, A.; UPADHYAY, R. S. PGPR-mediated induction of systemic resistance and physiochemical alterations in plants against the pathogens: Current perspectives. **J. Basic Microbiol.** v. 60, n. 10, p. 828–861, 2020.

MICHEREFF, S. J; ANDRADE, D. E. G. T; MENEZES, M. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais** / eds.– Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, 2005, p.399.

- MILJAKOVIĆ, D.; MARINKOVIĆ, J.; BALEŠEVIĆ-TUBIĆ, S. The significance of *Bacillus* spp. in disease suppression and growth promotion of field and vegetable crops. **Microorganisms**, v. 8, n. 7, p. 1037, 2020.
- MOURA, I. N. B. M.; SILVA, J. L. S.; PEREIRA, J. A. R.; SANTOS, A. S.; MELO, M. F.; FIGUEIREDO, F. R. A.; AMBRÓSIO, M. M. Q. Influence of soil treatments on *Macrophomina phaseolina* survival and *Cucumis melo* growth. **Journal of Plant Pathology**, v. 104, n. 2, p. 769-774, 2022.
- NASCIMENTO, S. R. C.; SILVA, F. H. A.; CRUZ, B. L. S.; DANTAS, A. M. M.; AMBRÓSIO, M. M. Q.; SENHOR, R. F. Sobrevivência de estrutura de resistência de *Macrophomina phaseolina* e *Sclerotium rolfsii* em solo tratado biologicamente. **Revista Agro@mbiente on-line-line**, v. 10, n. 1, p. 50-56, 2016.
- NEGREIROS, A. M. P.; SALES JÚNIOR, R.; LEÓN, M.; ASSIS MELO, N. J.; MICHEREFF, S. J.; AMBRÓSIO, M. M. Q.; ARMENGOL, J. Identification and pathogenicity of *Macrophomina* species collected from weeds in melon fields in Northeastern Brazil. **Journal of phytopathology**, v. 167, n. 6, p. 326-337, 2019.
- OJUEDERIE, O. B.; OLANREWaju, O. S.; BABALOLA, O. O. Plant Growth Promoting Rhizobacterial Mitigation of Drought Stress in Crop Plants: Implications for Sustainable Agriculture. **Agronomy**, v. 9, n. 11, p. 712, 2019.
- PAL, K. K.; GARDENER, B. M. Biological control of plant pathogens. **Plant Health Instr.** v. 36, p. 37-45, 2006.
- PARREIRA, D. F.; NEVES, W. S.; ZAMBOLIM, L. Resistência de Fungos a Fungicidas Inibidores de Quinona. **Revista Trópica**. v. 3, n. 2, p. 24-34, 2009.
- PATEL, K.; GOSWAMI, D.; DHANDHUKIA, P.; THAKKER, J. Techniques to Study Microbial Phytohormones. In: MAHESHWARI, D. (Ed.) **Bacterial Metabolites in Sustainable Agroecosystem**. Sustainable Development and Biodiversity, ed. v. 12, p. 1-27, 2015.
- PAUL, D.; LADE, H. Plant-growth-promoting rhizobacteria to improve crop growth in saline soils: a review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 34, n. 4, p. 737-752, 2014.
- PESCE, G.; RUSCIANO, G.; SASSO, A.; ISTICATO, R.; SIREC, T.; RICCA, E. Surface charge and hydrodynamic coefficient measurements of *Bacillus subtilis* spore by optical tweezers. **Colloids Surf. B**, v. 116, p. 568-575, 2014.
- PIETERSE, C. M. J.; VAN DER DOES, D.; ZAMIOUDIS, C.; LEONREYES, A.; VAN WEES, S. C. M. Hormonal modulation of plant immunity. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, v. 28, p. 489-521, 2012.
- PINTO, M. M. F.; SOUZA GONÇALVES, J.; NASCIMENTO SOUZA, I. T.; BATISTA, N. V.; LIMA MELO, V. L.; FIRMINO, S. S.; OLIVEIRA LIMA, P. Utilização do melão (*Cucumis melo* L.) na alimentação de ruminantes: Uma revisão. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 12, p. 31466-31481, 2019.
- PORTO, M. A. F.; AMBRÓSIO, M. M. Q.; FREITAS, F. C. L. D.; NASCIMENTO, S. R. D. C.; CRUZ, B. L. S. D.; GUIMARÃES, L. M. S. Feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*) no

controle da podridão radicular do meloeiro causada por associação de patógenos. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 42, n. 4, p. 327-332, 2016.

PROCOP, G. W.; CHURCH, D. L.; HALL, G. S.; JANDA, W. M.; KONEMAN, E. W.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WOODS, G. L. **Diagnóstico microbiológico | texto e atlas**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018.

PUNJA, Z. K.; UTKHEDE, R. S. Using fungi and yeasts to manage vegetable crop diseases. **TRENDS in Biotechnology**, v. 21, n. 9, p. 400-407, 2003.

RAAIJMAKERS, J. M.; DE BRUIJN, I.; NYBROE, O.; ONGENA, M. Natural functions of lipopeptides from *Bacillus* and *Pseudomonas*: more than surfactants and antibiotics. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 34, n. 6, p. 1037-1062, 2010.

RABBEE, M. F.; ALI, M. S.; CHOI, J.; HWANG, B. S.; JEONG, S. C.; BAEK, K. H. *Bacillus velezensis*: A Valuable Member of Bioactive Molecules within Plant Microbiomes. **Molecules**, v. 24, p. 1046, 2019.

RAI, P. K.; SINGH, M.; ANAND, K.; SAURABH, S.; KAUR, T.; KOUR, D.; KUMAR, M. Role and potential applications of plant growth-promoting rhizobacteria for sustainable agriculture. In: **New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering**. Elsevier, p. 49-60, 2020.

RAMAKRISHNA, W.; YADAV, R.; LI, K. Plant growth promoting bacteria in agriculture: Two sides of a coin. **Applied Soil Ecology**. v 138, p. 10–18, 2019.

RAYMAEKERS, K.; PONET, L.; HOLTAPPELS, D.; BERCKMANS, B.; CAMMUE, B. P. Screening for novel biocontrol agents applicable in plant disease management—a review. **Biological Control**, v. 144, p. 104240, 2020.

RIBEIRO, V. P.; GOMES, E. A.; SOUSA, S. M.; PAULA LANA, U. G.; COELHO, A. M.; MARRIEL, I. E.; OLIVEIRA-PAIVA, C. A. Co-inoculation with tropical strains of *Azospirillum* and *Bacillus* is more efficient than single inoculation for improving plant growth and nutrient uptake in maize. **Archives of Microbiology**, v. 204, n. 2, p. 143, 2022.

RIEDLINGER, J.; SCHREY, S. D.; TARKKA, M. T.; HAMPP, R.; KAPUR, M.; FIEDLER, H. P. Auxofuran, a novel metabolite that stimulates the growth of fly agaric, is produced by the mycorrhiza helper bacterium *Streptomyces* strain AcH 505. **Appl Environ Microbiol.** v .72, p. 3550-3557, 2006.

RINGEL, M. T.; BRÜSER, T. The biosynthesis of pyoverdines. **Microbial Cell**, v. 5, p. 424–437, 2018.

ROBERSON, E.; FIRESTONE, M. Relationship between desiccation and exopolysaccharide production by soil *Pseudomonas* sp. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 58, n. 4, p. 1284-1291, 1992.

ROBINSON, R.W.; DECKER-WALTERS, D.S. **Curcubits**. New York: CAB International, 1997. 226p.

RStudio Team (2020). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, PBC, Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.

SABER, W. I. A.; GHANEM, K. M.; EL HERSH, M. S. Rock phosphate solubilization by two isolates of *Aspergillusniger* and *Penicillium* sp. and their promotion to mung bean plants. **Research Journal of Microbiology**, v. 4 n. 1, p. 235-250, 2009.

SAEID, A.; PROCHOWNIK, E.; DOBROWOLSKA-IWANEK, J. Phosphorus Solubilization by *Bacillus* Species. **Molecules**, v. 23, n. 11, p. 2897, 2018.

SALES JUNIOR, R.; OLIVEIRA, O. F. D.; MEDEIROS, É. V. D.; GUIMARÃES, I. M.; CORREIA, K. C.; MICHEREFF, S. J. Ervas daninhas como hospedeiras alternativas de patógenos causadores do colapso do meloeiro. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, p. 195-198, 2012.

SANTNER, A.; ESTELLE, M. Recent advances and emerging trends in plant hormone signaling. **Nature**, v. 459, n. 7250, p. 1071-1078, 2009.

SANTOS, A.; FREIRE, F.; LIMA, J.; CARDOSO, J. Doenças do meloeiro em áreas irrigadas no Estado do Ceará. Fortaleza. Embrapa Agroindústria Tropical. **Boletim de Pesquisa**, v. 35, 2000.

SARR, M. P.; GROENEWALD, J. Z.; CROUS, P. W. Genetic diversity in *Macrophomina phaseolina*, the causal agent of charcoal rot. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 53, n. 2, p. 250 - 268, 2014.

SCHOEBITZ, M.; LÓPEZ, M.; ROLDÁN, A. Bioencapsulation of microbial inoculants for better soil–plant fertilization: a review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 33, n. 4, p. 751-765, 2013.

SERRAJ, R.; SINCLAIR, T. R. Osmolyte accumulation: Can it really help increase crop yield under drought conditions? **Plant, Cell and Environment**, v. 25, n. 2, p. 333-341, 2002.

SHAFI, JAMIL; TIAN, HUI; JI, MINGSHAN. *Bacillus* species as versatile weapons for plant pathogens: a review. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 31, n. 3, p. 446-459, 2017.

SHARMA, A.; KATOCH, V.; RANA, C. Important diseases of cucurbitaceous crops and their management. In: PESSARAKLI, M. (Ed.). **Handbook of cucurbits: Growth, cultural practices, and physiology**. Boca Raton: CRC Press, 2016. p. 574.

SHRIVASTAVA, S.; D'SOUZA, S. F.; DESAI, P. D. Production of indole-3-acetic acid by immobilized actinomycete (*Kitasatospora* sp.) for soil applications. **Current Science**, p. 1595-1604, 2008.

SILVA, A. J.; SOUZA CUNHA, J.; HREHA, T.; MICOCCHI, K. C.; SELISTRE, H. S. A; BARQUERA, B.; KOFFAS, M. A. Metabolic engineering of *E. coli* for pyocyanin production. **Metabolic Engineering**, v. 64, p. 15–25, 2021.

SOUSA LINHARES, C. M.; AMBRÓSIO, M. M. Q.; CASTRO, G.; TORRES, S. B.; ESTERAS, C.; SOUSA NUNES, G. H.; PICÓ, B. Effect of temperature on disease severity of charcoal rot of melons caused by *Macrophomina phaseolina*: implications for selection of resistance sources. **European Journal of Plant Pathology**, v. 158, p. 431-441, 2020.

- SUNPAPAO, A.; CHAIRIN, T.; ITO, S. The biocontrol by *Streptomyces* and *Trichoderma* of leaf spot disease caused by *Curvularia oryzae* in oil palm seedlings. **Biol. Control**, v. 123, p. 36 - 42, 2018.
- TORRES, M. J.; BRANDAN, C. P.; PETROSELLI, G.; ERRA-BALSELLS, R.; AUDISIO, M. C. Antagonistic effects of *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* and *B. amyloliquefaciens* against *Macrophomina phaseolina*: SEM study of fungal changes and UV-MALDI-TOF MS analysis of their bioactive compounds. **Microbiological research**, v. 182, p. 31-39, 2016.
- UPADHYAY, S. K.; SINGH, J. S.; SINGH, D. P. Exopolysaccharide-Producing Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Under Salinity Condition. **Pedosphere**, v. 21, n. 2, p. 214–222, 2011.
- VEJAN, P.; ABDULLAH, R.; KHADIRAN, T.; ISMAIL, S.; NASRULHAQ BOYCE, A. Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability - a review. **Molecules**, v. 21, n. 5, p. 573, 2016.
- WAGI, S.; AHMED, A. *Bacillus* spp.: potent microfactories of bacterial IAA. **PeerJ**, v. 7, p. e7258, 2019.
- WANG, C. J.; YANG, W.; WANG, C.; GU, C.; NIU, D. D.; LIU, H. X.; GUO, J. H. Induction of drought tolerance in cucumber plants by a consortium of three plant growth-promoting rhizobacterium strains. **PLOS ONE**, v. 7, n. 12, p. 1 - 10, 2012.
- WANG, H.; ZHANG, X.; CHEN, Z.; HAO, G.; LI, G. Two Potential Probiotic *Bacillus* with Proteolytic Activity to Dietary Protein from Adult Feces. **Biocontrol Science**, v. 26, n.4, p. 221–224, 2021.
- WATSON, A.; NAPIER, T. Disease of cucurbit vegetables. **Primefact**, v.832, p. 1-6, 2009.
- WOODWARD, A. W.; BARTEL, B. Auxin: regulation, action, and interaction. **Annals of Botany**, v. 95, n. 5, p. 707-735, 2005.
- ZAVALETA-MANCERA, H. A.; LÓPEZ-DELGADO, H.; LOZA-TAVERA, M.; MORA-HERRERA, C.; TREVILLA-GARCÍA, M.; VARGAS-SUÁREZ, M.; OUGHAM, H. Cytokinin promotes catalase and ascorbateperoxidase activities and preserves the chloroplast integrity duringdark-senescence. **Journal of Plant Physiology**, v. 164, n. 12, p. 1572-1582, 2007.
- ZHANG, H.; MURZELLO, C.; SUN, Y.; KIM, M. S.; XIE, X.; JETER, R. M.; PARÉ, P. W. Choline and osmotic-stress tolerance induced in *Arabidopsis* by the soil microbe *Bacillus subtilis* (GB03). **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 23, n. 8, p. 1097-1104, 2010.