

# CONTROLE DA MANCHA FOLIAR DE *Eucalyptus grandis* E *E. urophylla* INDUZIDA POR *Cylindrocladium scoparium* COM *Bacillus* sp.

W. BETTIOL<sup>1</sup>, C.G. AUER<sup>2</sup>, L.E.A. CAMARGO<sup>3</sup> e H. KIMATI<sup>4</sup>

<sup>1</sup> CNPDA/EMBRAPA, Caixa Postal 69 - CEP 13820 - Jaguariúna - SP - Bolsista do CNPq.

<sup>2</sup> Fundação de Ensino e Tecnologia de Alfenas, Rodovia MG-179, km 0 - CEP 37130 - Alfenas - MG.

<sup>3</sup> Aluno de pós-graduação do Departamento de Fitopatologia da ESALQ/USP, Caixa Postal 9 - CEP 13400 Piracicaba - SP.

<sup>4</sup> Departamento de Fitopatologia da ESALQ/USP, Caixa Postal 9 - CEP 13400 - Piracicaba, SP.

Aceito para publicação em 03/03/88.

## RESUMO

Foram obtidos vários isolados de *Bacillus* sp. oriundos de folhas de *Eucalyptus grandis*, antagonísticos a *Cylindrocladium scoparium*. Após seleção do isolado mais eficiente em inibir *C. scoparium*, *in vitro*, este foi multiplicado em BD (batata-dextrose) e incorporado em meio BDA, verificando-se uma relação direta entre a concentração do meio BD, incorporado, e a inibição do crescimento micelial do patógeno.

Uma cultura líquida (BD) de *Bacillus* sp. (AP-28) com 10 dias de idade aplicada uniformemente sobre folhas destacadas de *E. grandis* e *E. urophylla* 1, 24 e 48 horas antes da inoculação de uma suspensão com conídios de *C. scoparium* ( $10^4$  esporos/ml), apresentou controle semelhante ao benomyl (0,5 g/l). Por outro lado, *Bacillus* sp. não apresentou controle do patógeno, quando aplicado 24 e 48 horas após a inoculação de *C. scoparium*. Não foram verificados efeitos fitopatogênicos do *Bacillus* sp. e nem efeitos fitotóxicos de seus metabólitos.

## ABSTRACT

**CONTROL OF LEAF SPOT INDUCED BY *Cylindrocladium* ON *Eucalyptus grandis* AND *E. urophylla* WITH *Bacillus* sp.**

Several *Bacillus* sp. isolates were obtained from leaves of *Eucalyptus grandis*, and some of them were antagonistic to *Cylindrocladium scoparium*. After selecting the most efficient isolate on inhibiting *C. scoparium* growth, *in vitro*, that was grown in PD (potato-dextrose) and incorporated in PDA medium. A direct relationship was verified between the PD concentration and inhibition of the mycelial growth of the pathogen, expressed by colony diameter.

A liquid culture (PD) of *Bacillus* sp. (AP-28) with 10 days of age was sprayed uniformly on detached leaves of *E. grandis* and *E. urophylla* 1, 24 and 48 hours before inoculation with a conidial suspension of the fungus ( $10^4$  spores/ml). These treatments showed disease control similar to benomyl (0,5g/l). On the other hand, *Bacillus* sp. liquid culture did not show control when applied 24 and 48 hours after *C. scoparium* inoculation. *Bacillus* sp. (AP-28) and its metabolites did not show visible damage to the leaves.

Vários são os agentes causadores de manchas foliares em *Eucalyptus*. No entanto, os mais comuns pertencem a espécie do gênero *Cylindrocladium* (15).

O controle da mancha foliar normalmente não é exigido no viveiro quando as mudas são mantidas em condições de bom arejamento e evitando-se o adensamento.

Entre outros aspectos, a não necessidade de controle dessa doença pode ser devida à ocorrência de grandes populações de microrganismos epifíticos que vivem nas superfícies foliares e que são capazes de influenciar as espécies patogênicas durante o processo de infecção. Pulverizações preventivas com fungicidas em viveiros localizados em áreas de alto risco, ou curativas em caso de ocorrência epidêmica, poderão ser efetuadas para controle (15).

O interesse pelas formas biológicas de controle de patógeno da parte aérea, embora negligenciado no passado, vêm aumentando principalmente devido ao maior conhecimento das conseqüências advindas do desequilíbrio induzido pelo homem e também devido ser largamente aceito que controle biológico ocorre naturalmente na superfície das plantas e que atividade antagonica da microflora saprofítica contra patógenos reduz a incidência de doenças no campo (10).

São inúmeros os exemplos de controle biológico de manchas foliares, com microrganismos antagonicos. LEBEN (16) selecionou 230 isolados de bactérias das folhas de plântulas de pepino e verificou que nenhuma cultura líquida das bactérias pulverizadas sobre plântulas aumentou a incidência de Antracnose (*Colletotrichum lagenarium*). Verificou ainda que o isolado A 180 diminuiu consistentemente a doença, sob condições experimentais, possivelmente como resultado da produção de um antibiótico pela bactéria, pois um antibiótico ativo contra o patógeno foi produzido *in vitro*. Com o mesmo isolado, LEBEN & DAFT (18) verificaram que a aplicação da suspensão de células desta bactéria reduziu a Antracnose do pepino, a mancha de *Alternaria* em tomateiro e *Helminthosporium* do milho, em testes realizados com plântulas em casa-de-vegetação. Em condições de campo, LEBEN et al. (19) observaram que o isolado A 180 falhou no controle da Antracnose do pepino, mancha de *Alternaria* e Sarna da macieira. A falha possivelmente resultou da

morte rápida das células bacterianas, aplicadas sobre as folhas determinada pelo ressecamento.

LUZ (21) relatou, a partir de experimentos realizados sob condições controladas, que os organismos neutros do filoplano do trigo, *Sporobolomyces roseus*, *Rhodotorula* sp. e *Sporobolomyces* sp. reduziram as infecções foliares causadas por *Cochliobolus sativus* e *Leptosphaeria nodorum*. Em experimentos conduzidos em 1981, sob condições de campo, *S. roseus* reduziu significativamente a infecção dos patógenos necrotróficos foliares, aumentando o rendimento, em grãos. Entretanto, em 1982, esta levedura não apresentou efeito sobre as doenças e no rendimento do trigo.

LOPES (20) verificou que dois isolados de *Pseudomonas fluorescens* e um de *Bacillus* sp. controlou consistentemente *Pseudomonas avenae*, agente causal da "leaf blight and stalk rot" do milho, em casa-de-vegetação. Em campo, verificou que *P. fluorescens* foi tão efetiva quanto 100 ppm de estreptomicina quando os tratamentos foram realizados imediatamente antes da inoculação de *P. avenae*. Este autor, verificou ainda que estreptomicina aplicada 12 ou 24 horas antes da inoculação do patógeno, não apresentou controle, enquanto *P. fluorescens* reduziu em 50% a intensidade da doença.

Muitos resultados promissores vêm sendo obtidos com o controle biológico de doenças do filoplano utilizando bactérias do gênero *Bacillus* como antagonista. GAYED (13) verificou que lesões causadas por *Helminthosporium sativum* foram menos severas em trigo e cevada quando *B. pumilus* foi aplicado como protetor. Este efeito pode ser devido à capacidade dos metabólitos produzidos por *B. pumilus* degradar o tubo germinativo como relatados por MORGAN (22) em *Puccinia recondita*. FRAVEL & SPURR (12) registraram um isolado de *B. cereus* subsp. *mycoides* controlando efetivamente as lesões causadas por *Alternaria alternata* em fumo, sob

ambiente controlado. Este efeito pode ser devido à ação do antagonista, na germinação dos esporos e no desenvolvimento do tubo germinativo. BAKER et al. (3) verificaram que *B. subtilis*, *B. cereus* subsp. *mycoides*, *B. thuringiensis* e *Erwinia ananas* subsp. *uredovora* foram eficientes no controle da ferrugem do feijoeiro, em certas condições. Os mesmos autores observaram que um isolado de *B. subtilis* reduziu em 95%, o número de pústulas de ferrugem quando aplicado em cultura líquida, nas plantas em casa-de-vegetação, 2 a 120 horas antes da inoculação com *Uromyces phaseoli*. Respostas similares foram encontradas para todas as variedades de feijão e isolados do patógeno testados. Em condições de campo, BAKER et al (4) confirmaram a redução da incidência da doença, no mínimo em 75%, com três aplicações por semana. Alguns tratamentos com *B. subtilis* foram mais efetivos do que aplicações semanais do fungicida mancozeb. Resultados interessantes, com a utilização de *Bacillus* como antagonico, também foram obtidos por DUNLEAVY (11), ABO-EL-DAHAB & GOORANI (1), THIRUMALACHAR & O'BRIEN (27), STAVELY et al. (26), NUNES et al. (23, 24).

Na área de proteção florestal, SCHEFFER (25) trabalhando com "Dutch Elm Disease" causada por *Ophiostoma ulmi*, verificou que o tratamento preventivo com *Pseudomonas* sp. suprimiu consideravelmente os sintomas desenvolvidos, não se obtendo controle efetivo com o tratamento curativo.

O presente trabalho teve por objetivos: isolar e selecionar microrganismos antagonicos a *Cylindrocladium scoparium* de folhas de *Eucalyptus grandis*; avaliar a influência dos antagonistas no crescimento micelial de *C. scoparium* e verificar a possibilidade de controle de mancha foliar causada pelo patógeno em *Eucalyptus*, com os antagonicos selecionados.

Resultados parciais foram apresentados por BETTIOL et al. (6, 7, 8).

## MATERIAIS E MÉTODOS

### 1. Isolamento, seleção e identificação de antagonistas de *Cylindrocladium scoparium*.

Foram retirados pequenos fragmentos de folhas de mudas de *Eucalyptus grandis* e transferidos sem desinfestação superficial para placas de Petri contendo BDA (batata-dextrose-ágar). As placas foram incubadas em luz fluorescentes constante fornecida por 3 lâmpadas, luz do dia, marca Philips, temperatura de 28°C. Após 24 horas, todos os organismos que apareceram foram repicados para tubos de cultura com BDA.

Para o centro de placas com BDA foi transferido um disco de 0,5 cm de diâmetro de colônia de *C. scoparium* em pleno desenvolvimento em BDA e colocados para incubação sob as condições descritas anteriormente, por 48 horas. Após este período foram transferidos para cada extremidade das placas distanciadas 3,5 cm do centro, fragmentos do meio com os microrganismos isolados anteriormente. As placas assim preparadas foram incubadas por mais 72 horas quando foi avaliada a formação de halo de inibição. Os isolados com capacidade antagonica foram preservados.

Após obtenção dos isolados de microrganismos que se comportaram como antagonistas a *C. scoparium*, foram realizados testes com finalidade de comparar a eficiência dos isolados e selecionar o antagonista mais eficiente.

Em placas de Petri contendo BDA, foram previamente marcados dois pontos distanciados 7 cm, sendo que em um deles foi transferido um disco de 0,5 cm de diâmetro com micélio de *C. scoparium* e no outro, após 48 horas, um disco de meio contendo os microrganismos antagonicos. Após 5 dias de incubação nas mesmas condições descritas anteriormente, foi determinado o diâmetro da colônia de *C. scoparium* e do antagonico, além do halo de ini-

bição. Cada tratamento constou de quatro repetições, num delineamento experimental inteiramente casualizado.

A seleção dos antagonistas mais eficientes, *in vitro*, foi baseada na porcentagem de inibição do patógeno. O isolado AP-28 considerado mais eficiente foi identificado segundo BUCHANAN & GIBBONS (9) como pertencente ao gênero *Bacillus*.

## 2. Efeito da concentração de caldo de cultivo de *Bacillus* sp. (isolado AP-28) na inibição do crescimento micelial de *C. scoparium*.

O isolado de *Bacillus* sp. denominado AP-28, foi colocado para multiplicação em meio líquido BD (batata-dextrose) por 10 dias, sob agitação constante, em condições ambientes. Depois, a cultura líquida foi esterelizada em autoclave a 120°C e 1 atm por 20 minutos e incorporada em BDA nas concentrações de 0,0; 1,0; 2,5; 5,0; 10,0; 15,0; 25,0; 50,0; 75,0 e 100% (v/v).

Para o centro das placas preparadas com BDA incorporado, foi transferido um disco de 0,5 cm de diâmetro com micélio de *C. scoparium*, permanecendo incubadas por 7 dias, em condições ambientes com temperatura variando entre 25 e 27°C. Decorrido este período, foi determinado o diâmetro da colônia do fungo e a porcentagem de inibição do seu crescimento.

Para se excluir o efeito da diluição do meio de cultura foi realizado um experimento semelhante ao anterior, usando as mesmas diluições com água.

Nos dois ensaios o delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 5 repetições.

## 3. Controle da mancha foliar de *E. grandis* e *E. urophylla* causada por *C. scoparium* com *Bacillus* sp. (isolado AP-28).

Folhas destacadas de plantas sadias de *E. grandis* e *E. urophylla*, com 90 dias de

idade, cujos pecíolos foram envolvidos com algodão e acondicionados em placas de Petri de plástico contendo um disco de papel de filtro, previamente umedecido com água destilada, foram utilizadas para o estudo.

Uma cultura líquida (BD) de *Bacillus* sp., isolado denominado AP-28, incubada por 10 dias sob agitação constante em condições ambientes, foi uniformemente aplicada com auxílio de pulverizador "De Vilbiss" (5 pulverizações/folha) sobre as folhas 1, 24 e 48 horas antes e após inoculação da suspensão de *C. scoparium* ( $10^4$  esporos/ml), com o "De Vilbiss" (4 pulverizações/folha) e com pipetador automático calibrado para 0,01 ml/gota (4 gotas/folha). Além desses tratamentos, o ensaio foi composto de um tratamento com benomyl (0,5 g/l) e três controles (um com água, um com *Bacillus* sp. e outro com *C. scoparium*). Todas as inoculações foram realizadas na superfície superior das folhas. Os tratamentos foram repetidos 6 vezes, num delineamento inteiramente casualizado. As folhas foram incubadas por 7 dias, em condições ambientes com temperatura entre 25-28°C e posteriormente foi determinada a porcentagem de área foliar lesionada com auxílio da tábua de gráficos do computador Apple 2E.

## RESULTADOS

### 1. Isolamento e seleção de antagonistas mais eficientes em inibir o crescimento micelial de *C. scoparium*, *in vitro*.

A partir de folhas de *E. grandis* foram obtidos 11 isolados de bactérias, que apresentaram antagonismo a *C. scoparium*. Após isolamento, os antagonistas foram preservados pela técnica de repicagem sucessiva e receberam denominação de AP-2, AP-3, AP-9, AP-10, AP-11, AP-14, AP-26, AP-28, AP-32, AP-33 e AP-34.

Como nos trabalhos iniciais de isolamento foi observado uma menor efetividade

dos isolados AP-3, AP-9, AP-10, AP-26, AP-32 e AP-34 em inibir o patógeno, esses antagonísticos não foram testados.

Dentre os isolados estudados o AP-28 foi o que apresentou maior capacidade em inibir o crescimento micelial de *C. scoparium* (Quadro 1).

## 2. Efeito da concentração do caldo de cultivo de *Bacillus* sp. (isolado AP-28) na inibição do crescimento micelial de *C. scoparium*.

Da análise do crescimento micelial (cm) e da porcentagem de inibição do patógeno, verificou-se relação direta entre a concentração de caldo no meio BDA e inibição do crescimento de *C. scoparium* (Quadro 2).

O efeito da diluição do meio de cultura foi excluído, visto não haver redução estatisticamente significativa no crescimento micelial de *C. scoparium* em diluições com água, de até 50% (Quadro 3). Assim a inibição observada com o aumento da concentração do caldo de AP-28 se deve aos efeitos dos metabólitos liberados pelo *Bacillus*.

## 3. Controle da mancha foliar de *E. grandis* e *E. urophylla* causada por *C. scoparium* com *Bacillus* sp. (isolado AP-28).

Para as duas espécies de *Eucalyptus* e para os dois métodos de inoculação com *C.*

*scoparium*, a suspensão contendo *Bacillus* sp. pulverizada 1, 24 e 48 horas antes da inoculação do patógeno apresentou controle semelhante ao benomyl (0,5 g/l). Entretanto, quando o antagonístico foi pulverizado 24 e 48 horas após a inoculação da suspensão de esporos de *C. scoparium* houve um aumento na área foliar lesionada quando comparada com a do tratamento que recebeu apenas o patógeno. Este aumento não foi estatisticamente significativo (Quadro 4).

Por ser um organismo vivo, foi avaliada a possibilidade do *Bacillus* ser patogênico e/ou produzir metabólitos fitotóxicos. Estas observações foram possíveis com o tratamento onde o caldo de *Bacillus* sp. e seus metabólitos foram aplicados sobre as folhas destacadas resultando na ausência de patogenicidade bem como de fitotoxicidade (Quadro 4).

*E. urophylla* foi mais suscetível a *C. scoparium* do que *E. grandis* quando o patógeno foi inoculado com auxílio de pipetador e observação contrária foi verificada quando o *C. scoparium* foi inoculado com pulverizador "De Vilbiss" (Quadro 4).

## DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

A reconhecida existência de uma microflora antagonística a patógenos existentes no

Quadro 1. Efeito antagonístico de diferentes isolados de microrganismos a *Cylindrocladium scoparium* avaliado em meio sólido BDA<sup>1/</sup>.

Isolados	Diâmetro da colônia de <i>C. scoparium</i> (cm)	Diâmetro da colônia do antagonista (cm)	Halo de inibição (cm)	Inibição (%)
AP - 3	5,23	2,03	1,53	27,5
AP - 11	5,37	1,78	1,45	25,3
AP - 14	5,80	1,90	1,00	18,7
AP - 28	4,42	1,78	2,50	39,9
AP - 33	5,50	1,68	1,45	23,3
Testemunha	7,02			

<sup>1/</sup> Médias obtidas de 4 repetições (placas de Petri).

Quadro 2. Influência da concentração do caldo de cultivo de *Bacillus* sp. (isolado AP-28) no crescimento micelial de *Cylindrocladium scoparium*, em meio sólido BDA.

Concentração de caldo (%)	Diâmetro da colônia de <i>C. scoparium</i> (cm) <sup>1/</sup>	Inibição (%)
0,0	5,96	0,0
1,0	4,51	32,7
2,5	4,16	38,6
5,0	3,34	52,3
10,0	2,56	65,4
15,0	2,29	69,9
25,0	1,69	80,0
50,0	1,09	90,1
75,0	0,00	100,0
100,0	0,00	100,0

<sup>1/</sup> Os valores são médias de 5 repetições (placa de Petri).

Quadro 3. Influência da diluição do meio líquido BD (batata-dextrose) no crescimento micelial de *Cylindrocladium scoparium*

Diluição (%) <sup>1/</sup>	Diâmetro da colônia de <i>C. scoparium</i> (cm) <sup>2/</sup>	Inibição (%)
0	5,4 <sup>3/</sup>	-
1,0	5,3	0,02
2,5	5,5	0
5,0	5,5	0
7,5	5,2	0,04
10,0	5,6	0
25,0	5,4	0
50,0	6,4	0

<sup>1/</sup> Diluição realizada com água destilada.

<sup>2/</sup> Os valores são médias de 5 repetições (placas de Petri).

<sup>3/</sup> As médias dos diâmetros das colônias de *C. scoparium* não diferem entre si (Tukey 5%).

Quadro 4. Efeito de *Bacillus* sp. (isolado AP-28) sobre a porcentagem de área foliar lesionada por *Cylindrocladium scoparium* inoculado em folhas destacadas de *Eucalyptus grandis* e *E. urophylla*.

Tratamento	Área foliar lesionada (%) <sup>1/</sup>				Total
	<i>Eucalyptus grandis</i>		<i>Eucalyptus urophylla</i>		
	Inoculação com auxílio de		Inoculação com auxílio de		
	Pulverizador	Pipetador	Pulverizador	Pipetador	
1. Testemunha absoluta	0,00c <sup>2</sup>	0,00b	0,00a	0,00b	
2. <i>Bacillus</i>	0,00c	0,00b	0,00a	0,00b	
3. <i>C. scoparium</i> (Testemunha relativa)	19,20ab	11,75a	5,27a	33,34a	
4. Benomyl (0,5 g/l), 1 hora antes de <i>C. scoparium</i>	0,00c	1,42b	0,08a	4,70b	
5. <i>Bacillus</i> 24 hs. antes de <i>C. scoparium</i>	3,42bc	1,39b	0,50a	1,60b	
6. <i>Bacillus</i> 48 hs. antes de <i>C. scoparium</i>	7,08bc	0,60b	0,72a	1,98b	
7. <i>Bacillus</i> 24 hs. após <i>C. scoparium</i>	11,93ab	14,37a	2,71a	47,47a	
8. <i>Bacillus</i> 48 hs. após <i>C. scoparium</i>	28,97a	16,18a	6,35a	47,63a	
9. <i>Bacillus</i> 1 hora antes de <i>C. scoparium</i>	8,87ab	0,00b	1,07a	1,12b	

<sup>1/</sup> A porcentagem de área foliar lesionada foi determinada com auxílio da Tabela de Gráficos de Apple 2 E.

<sup>2/</sup> Médias em cada coluna seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si (TUKEY 5%). Para análise os dados foram transformados em  $\text{arc sen } \sqrt{X/100 + 0,5}$ . Valores são médias de 6 repetições.

filoplano foi confirmada através do isolamento de *Bacillus* da superfície foliar de *E. grandis*. Os resultados obtidos também permitem concluir que *Bacillus* sp. produz antibióticos que controlam o crescimento de *C. scoparium* (Quadros 1 e 2). São inúmeros os relatos de produção de antibiótico por *Bacillus* (2, 5, 14).

A pulverização de *Bacillus* sp. 1, 24 e 48 horas antes da inoculação do *C. scoparium* apresentou controle semelhante ao benomyl, demonstrando ser possível a utilização desta bactéria e de seus metabólitos no controle do fungo. Resultados promissores usando *Bacillus* também foram obtidos por BAKER et al. (3), LOPES (20), THIRU-MALACHAR & O'BRIEN (27).

LEBEN (17) relata que sob condições controladas os sucessos com controle biológico são muitos, mas que ocorrem frustrações em campo. Desta forma é necessária a continuação deste trabalho a nível de casa-de-vegetação e viveiro comercial.

No trabalho foi verificado que a aplicação do antagonista 24 e 48 horas após a inoculação do patógeno, além de não controlar a doença, apresentou um pequeno estímulo à sua evolução (Quadro 4). Uma das possíveis explicações ao fato é que o efeito da bactéria e/ou seus metabólitos pode ser, conforme relatado por FRAVEL & SPURR (12), sobre a germinação do esporo e/ou no desenvolvimento do tubo germinativo. Assim, se o tempo decorrido entre a inoculação do patógeno e a aplicação do antagonista for suficiente para a germinação e penetração do patógeno, *Bacillus* sp. não opera ou age com menor intensidade. Podendo ainda o caldo de batata-dextrose ter beneficiado o processo de colonização do patógeno. Insucesso no tratamento curativo também foi alcançado por SCHEFFER (25) na tentativa de controlar *Ophiostoma ulmi* com *Pseudomonas* sp. No entanto, este autor também verificou que o tratamento preventivo foi bem sucedido.

Um resultado interessante observado no Quadro 4 é a interação entre as espécies de *Eucalyptus* e o tipo de inoculação do patógeno, em relação à suscetibilidade. Observa-se que *E. urophylla* foi mais suscetível quando o fungo foi inoculado localizadamente com auxílio do pipetador, enquanto que o *E. grandis* mostrou-se mais suscetível quando a inoculação foi por pulverização. Considerando o total da área foliar lesionada, o *E. urophylla* comportou-se como mais suscetível ao *C. scoparium* que o *E. grandis* (Quadro 4).

Os resultados obtidos com a inibição do crescimento do fungo e controle da doença em folhas destacadas demonstram o potencial de controle do fitopatógeno com o uso de antagonistas isolados da própria microflora do hospedeiro.

#### LITERATURA CITADA

01. ABO-EL-DAHAB, M.K. & M.A. EL. GOORANI, 1964. Antagonistic effect of a *Bacillus subtilis* strain upon *Erwinia amylovora*. *Phytopathology*, 54:1285-1286.
02. ARAMAYO, M.R.A. & L.A.B. CASTRO, 1986. Isolamento e caracterização de uma fração metabólica de *Bacillus subtilis* (Ehrenberg). Cohn, T 41, com atividade antibiótica a fungos fitopatogênicos. *Fitopatologia Brasileira*, 11: 193-194. (Resumo).
03. BAKER, C.J.; J.R. STAVELY; C.A. THOMAS; M. SASSER & J.S. MACFALL, 1983. Inhibitory effect of *Bacillus subtilis* on *Uromyces phaseoli* and as development of rust pustules on bean leaves. *Phytopathology*, 73:1148-1152.
04. BAKER, C.J.; J.R. STAVELY & N. MOCK, 1985. Biocontrol of bean rust by *Bacillus subtilis* under field conditions. *Plant Disease*, 69:770-772.
05. BASTOS, C.N. & J.M. FIGUEIREDO, 1976. Inibição *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz., agente causal da antracnose do cajueiro, por uma substância produzida por *Bacillus* sp. Re-

- vista da Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 9:15. (Resumo).
06. BETTIOL, W.; C.G. AUER; L.E.A. CAMARGO; E.A.R. ROSA & H. KIMATI, 1986. Influência de isolados de *Bacillus* no crescimento micelial de *Cylindrocladium* sp. causador de mancha foliar em *Eucalyptus*. *Fitopatologia Brasileira*, 11:336-337. (Resumo).
  07. BETTIOL, W., C.G. AUER; L.E.A. CAMARGO & H. KIMATI, 1986. Controle da mancha foliar de *Eucalyptus grandis* causada por *Cylindrocladium* sp. com *Bacillus* sp. *Fitopatologia Brasileira*, 11:337. (Resumo).
  08. BETTIOL, W.; C.G. AUER; L.E.A. CAMARGO & H. KIMATI, 1986. Controle da mancha foliar de *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus urophylla* causada por *Cylindrocladium* sp. com *Bacillus* sp. In: REUNIÃO SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS DE PLANTAS, 1., Piracicaba, 1986. Anais. Campinas, Fundação Cargill, 1986. p.61. (Resumo).
  09. BUCHANAN, R.E. & N.E. GIBBONS, 1974. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 8ª Ed. Baltimore, The Williams & Wilkins Company, 1268p.
  10. COOK, R.J. & K.F. BAKER, 1983. *The nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens*. St. Paul, APS, 539p.
  11. DUNLEAVY, J. 1955. Control of damping-off of sugar beet by *Bacillus subtilis*. *Phytopathology*, 45:252-258.
  12. FRAVEL, D.R. & H.W. SPURR, Jr., 1977. Biocontrol of Tobacco brown spot disease by *Bacillus cereus* subsp. *mycoides* in a controlled environment. *Phytopathology*, 67:930-932.
  13. GAYED, S.K., 1964. *Bacillus pumilis* and its mycolytic action against *Helminthosporium sativum*. *Plant and soil*, 24:178-180.
  14. KATZ, E. & A.L. DEMAIN, 1977. The peptide antibiotics of *Bacillus*: Chemistry, Biogenesis and possible functions. *Bacteriological Reviews*, 41:449-747.
  15. KRÜGNER, T.L., 1980. Doenças do Eucalyptus - *Eucalyptus* spp. In: GALLI, F. coord. *Manual de Fitopatologia: Doenças das Plantas cultivadas*. São Paulo, Ceres, v.II, p.275-296.
  16. LEBEN, C., 1964. Influence of bacteria isolated from healthy cucumber leaves on two leaf diseases of cucumber. *Phytopathology*, 54:405-408.
  17. LEBEN, C., 1985. Introductory remarks: Biological control strategies in the phylloplane. In: WINDELS, C.E. & S.E. LINDOW, eds. *Biological control on the Phylloplane*. St. Paul, APS, p.1-5.
  18. LEBEN, C. & G.C. DAFT, 1965. Influence of an epiphytic bacterium on cucumber Anthracnose, Early Blight of tomato and Northern Leaf Blight of Corn. *Phytopathology*, 55:760-762.
  19. LEBEN, C.; G.C. DAFT; J.D. WILSON & H.F. WINTER, 1965. Field tests for disease control by an Epiphytic Bacterium. *Phytopathology*, 55:1375-1376.
  20. LOPES, C.A., 1986. *Biological control of Pseudomonas avenae with epiphytic bacteria isolated from corn plants*. University of Florida. 102p. (Tese-Doutoramento).
  21. LUZ, W.C., 1985. Efeito dos microorganismos do filoplano sobre as manchas fúngicas foliares do trigo. *Fitopatologia Brasileira*, 10:79-83.
  22. MORGAN, F.L., 1963. Infection inhibition and Germ-tube lysis of three cereal rusts by *Bacillus pumilis*. *Phytopathology*, 53:1346-1348.
  23. NUNES, M.E.T.; W. BETTIOL & KIMATI, 1986. Seleção de microrganismos antagonísticos a *Helminthosporium oryzae* para controle de mancha parda do arroz. *Fitopatologia Brasileira*, 11:336. (Resumo).
  24. NUNES, M.E.T.; W. BETTIOL & H. KIMATI, 1986. Influência de isolados de *Bacillus* no crescimento micelial de *Helminthosporium oryzae* causador da mancha parda do arroz (*Oryza sativa* L.) In: REUNIÃO SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS DE

- PLANTAS, I., Piracicaba, 1986. Anais. Campinas, Fundação Cargill, 1986. p.59. (Resumo).
25. SCHEFFER, R.J., 1983. *Pseudomonas* treatments on a possible control method for Dutch elm disease. In: COLLOQUE DE LA SOCIETE FRANÇAISE DE PHYTOPATHOLOGIE, 24., Bordeaux, 1983. *Les antagonismes microbiens*. Bordeaux, Institute National de la Recherche Agronomique. p.131-136
26. STAVELY, J.R., C.A. THOMAS; C.J. BAKER & J.S. MACFALL, 1981. Green-house control of bean rust with *Bacillus subtilis*. *Phytopathology*, 71: 771 (Abstracts).
27. THIRUMALACHAR, M.J. & M.J. O'BRIEN, 1977. Suppression of charcoal rot in potato with a bacterial antagonist. *Plant Disease Reporter*, 61:543-546.