

JOSÉ CLÉRIO REZENDE PEREIRA

T  
02/1995Embrapa Amazônia Ocidental  
BIBLIOTECA

**SUPRESSÃO DE PATÓGENOS HABITANTES DO SOLO.  
I. SOBREVIVÊNCIA DE *Trichoderma harzianum* Rifai E *Bacillus subtilis*  
Cohn EM VERMICOMPOSTO. II. CONTROLE DE *Sclerotium cepivorum*  
Berk. PELO USO COMBINADO DE VERMICOMPOSTO, SOLARIZAÇÃO,  
*T. harzianum* E *B. subtilis*. III. CONTROLE INTEGRADO DE  
*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary**

Tese Apresentada à Universidade Federal de  
Viçosa, como Parte das Exigências do Curso de  
Fitopatologia, para Obtenção do Título de  
"Doctor Scientiae".

VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
DEZEMBRO - 1995

**Empresa**

Unidade: Viçosa Ocidental

Venc.: .....

Data de aquisição: 08.04.2019

Nº N. Fiscal / Fatura: .....

Fornecedor: pesq. José Clério

Nº UCS: .....

Origem: Viçosa

Nº Registro: 2019.00002

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

P436s  
1995

Pereira, José Clério Rezende

Supressão de patógenos habitantes do solo. I. Sobrevivência de *Trichoderma harzianum* Rifai e *Bacillus subtilis* Cohn em vermicomposto. II. Controle de *Sclerotium cepivorum* Berk. pelo uso combinado de vermicomposto, solarização, *T. harzianum* e *B. subtilis*. III. Controle integrado de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary / José Clério Rezende Pereira. – Viçosa : UFV, 1995.

82p. : il.

Orientador: Geraldo Martins Chaves.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

1. Fungos fitopatogênicos - Controle com vermicomposto. 2. Fungos do solo - Controle com solarização. 3. Fungos do solo - Controle com micoparasitas. 4. Controle biológico. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD. 18.ed. 632.4

CDD. 19.ed. 632.4




JOSÉ CLÉRIO REZENDE PEREIRA

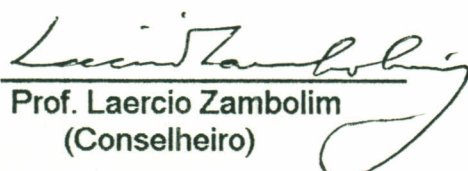
**SUPRESSÃO DE PATÓGENOS HABITANTES DO SOLO.  
I. SOBREVIVÊNCIA DE *Trichoderma harzianum* Rifai E *Bacillus subtilis*  
Cohn EM VERMICOMPOSTO. II. CONTROLE DE *Sclerotium cepivorum*  
Berk. PELO USO COMBINADO DE VERMICOMPOSTO, SOLARIZAÇÃO,  
*T. harzianum* E *B. subtilis*. III. CONTROLE INTEGRADO DE  
*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary**

Tese Apresentada à Universidade Federal de  
Viçosa, como Parte das Exigências do Curso de  
Fitopatologia, para Obtenção do Título de  
"Doctor Scientiae".

APROVADA: 17 de agosto de 1995

  
Prof. Francisco X.R. do Vale

  
Prof. Victor Hugo Alvarez Venegas

  
Prof. Laercio Zambolim  
(Conselheiro)

  
Prof. Kiyoshi Matsuoka  
(Conselheiro)

  
Prof. Geraldo Martins Chaves  
(Orientador)

A Maria José Loures Pereira, que partiu  
antes do início deste trabalho.  
A Antualpa Arantes Pereira.  
A Sebastião Elvecio Rezende Pereira.  
A todas pessoas que, de alguma forma,  
contribuíram para que este trabalho tivesse  
começo e fim.

*DEUS! ó Deus! onde estás que não respondes?  
Em que mundo, em qu'estrela tu t'escondes  
Embuçado nos céus?*

*Há dois mil anos te mandei meu grito,  
Que embalde desde então corre o infinito...  
Onde estás, Senhor Deus?...*

.....

*Não basta inda de dor, ó Deus terrível?!  
É, pois, teu peito eterno, inexaurível  
De vigança e rancor?...*

*E que é que fiz, Senhor? que torvo crime  
Eu cometi jamais que assim me oprime  
Teu gládio vingador?!...*

.....

*Basta, Senhor! De teu potente braço  
Role através dos astros e do espaço  
Perdão p'ra os crimes meus!...*

*Há dois mil anos... eu soluço um grito...  
Escuta o brado meu lá no infinito,  
Meu Deus! Senhor, meu Deus!!...*

**Castro Alves  
(1847-71)**



## CONTEÚDO

	Página
EXTRATO .....	vi
ABSTRACT .....	viii
<b>SOBREVIVÊNCIA DE <i>Trichoderma harzianum</i> Rifai E DE <i>Bacillus subtilis</i> Cohn EM VERMICOMPOSTO</b> .....	1
RESUMO .....	1
SURVIVAL OF <i>Trichoderma harzianum</i> Rifai AND OF <i>Bacillus subtilis</i> Cohn IN VERMICOMPOST .....	3
ABSCTRAT .....	3
1. INTRODUÇÃO .....	5
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	9
2.1. Crescimento de <i>T. harzianum</i> e de <i>B. subtilis</i> em Vermicomposto Submetido a Diferentes Níveis de pH e Doses de Melaço de Cana-de-Açúcar .....	10
2.2. Crescimento de <i>T. harzianum</i> e de <i>B. subtilis</i> em Vermicomposto Com Diferentes Doses de Bagaço de Cana-de-Açúcar e de Casca de Arroz .....	11
2.3. Crescimento de <i>T. harzianum</i> e de <i>B. subtilis</i> em Vermicomposto com Diferentes Níveis de Umidade.....	12
2.4. Habilidade Competitiva de <i>T. harzianum</i> e de <i>B. subtilis</i> em Vermicomposto Submetido a Dois Níveis de pH e em Diferentes Períodos de Incorporação dos Micoparasitas .....	13

3. RESULTADOS .....	15
3.1. Crescimento de <i>T. harzianum</i> e de <i>B. subtilis</i> em Vermicomposto Submetido a Diferentes Níveis de pH e Doses de Melaço de Cana-de-Açúcar .....	15
3.2. Crescimento de <i>T. harzianum</i> e de <i>B. subtilis</i> em Vermicomposto com Diferentes Doses de Bagaço de Cana-de-Açúcar e Casca de Arroz .....	19
3.3. Crescimento de <i>T. harzianum</i> e de <i>B. subtilis</i> em Vermicomposto com Diferentes Níveis de Umidade.....	22
3.4. Habilidade Competitiva de <i>T. harzianum</i> e de <i>B. subtilis</i> em Vermicomposto Submetido a Dois Níveis de pH e em Diferentes Períodos de Incorporação .....	22
4. DISCUSSÃO .....	27
BIBLIOGRAFIA .....	31
<b>CONTROLE DE <i>Sclerotium cepivorum</i> Berk. PELO USO COMBINADO DE VERMICOMPOSTO, SOLARIZAÇÃO, <i>Trichoderma harzianum</i> E <i>Bacillus subtilis</i> .....</b>	<b>35</b>
RESUMO .....	35
CONTROL OF <i>S. cepivorum</i> BY THE USE OF VERMICOMPOST, SOLARIZATION, <i>Trichoderma harzianum</i> AND <i>Bacillus subtilis</i> .....	37
ABSTRACT .....	37
1. INTRODUÇÃO .....	38
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	41
3. RESULTADOS .....	45
4. DISCUSSÃO .....	53
BIBLIOGRAFIA .....	56
<b>CONTROLE INTEGRADO DE <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) De Bary</b>	<b>59</b>
RESUMO .....	59
INTEGRATED CONTROL OF <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib) De Bary .....	61
ABSTRACT .....	61
1. INTRODUÇÃO .....	62
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	65
3. RESULTADOS .....	68
4. DISCUSSÃO .....	77
BIBLIOGRAFIA .....	80



## EXTRATO

PEREIRA, José Clério Rezende, D.S. Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 1995. Supressão de Patógenos Habitantes do Solo. I. Sobrevivência de *Trichoderma harzianum* Rifai e *Bacillus subtilis* Cohn em Vermicomposto. II. Controle de *Sclerotium cepivorum* Berk. pelo Uso Combinado de Vermicomposto, Solarização, *T. harzianum* e *B. subtilis*. III. Controle Integrado de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. Professor Orientador: Geraldo Martins Chaves. Professores Conselheiros: Laercio Zambolim e Kiyoshi Matsuoka.

Fatores abióticos, como pH, proporção de melação, proporção de resíduos orgânicos e teor de umidade, além da habilidade competitiva foram avaliados com relação a sobrevivência de *Trichoderma harzianum* e de *Bacillus subtilis* em vermicomposto. *T. harzianum* apresentou crescimento máximo em pH 5,5 e em presença de melação a 20% (p/p). *B. subtilis* em pH 7,5 e melação a 10% (p/p). A adição de bagaço de cana ao vermicomposto induziu reduções significativas no número de colônias de *B. subtilis*. Para *T. harzianum*, a dose de bagaço para se obter o máximo crescimento foi estabelecida como sendo 12% (p/p). A incorporação de casca de arroz ao vermicomposto induziu reduções significativas no número de colônias dos micoparasitas. A umidade ideal para o máximo crescimento de *T. harzianum* situou-se em 27% (v/p) e para *B. subtilis* em 45% (v/p).

Os micoparasitas exerceram competição mútua, independentemente do pH no composto, bem como da época de infestação.



Estudou-se a possibilidade de se obter controle integrado por meio do uso combinado de vermicomposto e de solarização associada à incorporação prévia ou posterior com *T. harzianum* ou com *B. subtilis*, visando-se ao controle de *Sclerotium cepivorum*. Estudou-se, também, a sobrevivência desses micoparasitas em solos solarizados, além do efeito do vermicomposto associado à solarização na temperatura do solo. Os resultados mostraram que a incorporação de *T. harzianum* ao solo, após a solarização, em presença de vermicomposto, elevou, significativamente, o nível de controle de *S. cepivorum* de 79 para 98%. *B. subtilis* não contribuiu para a elevação no nível de controle obtido pela solarização. Com relação à sobrevivência dos micoparasitas, observou-se que *T. harzianum* não sobreviveu à solarização; contudo, quando foi incorporado ao solo após a solarização, ocorreu aumento significativo no número de colônias desse micoparasita. O número de colônias de *B. subtilis* foi reduzida em 75% quando incorporado ao solo antes da solarização; porém, aumentou significativamente quando incorporado após a solarização. A incorporação do vermicomposto ao solo provocou elevação da temperatura do solo solarizado.

Avaliou-se o efeito do vermicomposto da solarização, do fungicida (procimidone), do herbicida (EPTC), de *T. harzianum* e *B. subtilis* no controle integrado de *Sclerotinia sclerotiorum*. Os micoparasitas foram incorporados ao solo, com ou sem vermicomposto, solarizado ou não, após a aplicação do herbicida ou do fungicida. Os resultados obtidos mostraram que a solarização, per si, independentemente da profundidade de 2 ou 4 cm em que foram incorporados os escleródios de *S. sclerotiorum*, foi uma estratégia de controle eficiente, pois nenhum dos outros fatores estudados, quando associados à solarização, contribuiu para a elevação do nível de controle. A incorporação de *T. harzianum* ao vermicomposto, após a aplicação do herbicida EPTC, proporcionou ganhos ao nível de controle, próximos àqueles obtidos pela solarização. O fungicida procimidone e o isolado de *B. subtilis*, utilizados neste ensaio, não foram eficientes em reduzir a viabilidade dos escleródios de *S. sclerotiorum*, incorporados ao solo às profundidades de 2 ou 4 cm.

## ABSTRACT

PEREIRA, José Clério Rezende, D.S., Universidade Federal de Viçosa, Brazil, December, 1995. Soilborn Pathogens Supression. I. Survival of *Trichoderma harzianum* Rifai and *Bacillus subtilis* Cohn in Vermicompost. II. Control of *Sclerotium cepivorum* Berk. by the Combined use of Vermicompost, Solarization *Trichoderma harzianum* and *B. subtilis*. III. Integrated Control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. Adviser: Geraldo Martins Chaves. Committee Members: Laercio Zambolim and Kiyoshi Matsuoka.

Competitive saprophytic ability and survival of *Trichoderma harzianum* and *Bacillus subtilis* in vermicompost were evaluated in relation to abiotic factors such as pH levels, proportion of sugar and molasses, organic residues and water content. *T. harzianum* showed maximum growth at pH of 5.5 and in the presence of molasses at 20% (w/w). *Bacillus subtilis* showed maximum growth at the pH of 7.5 and in the presence of molasses at 10% (w/w). The use of sugar cane bagasse in the vermicompost reduced significantly the populations of *B. subtilis*. For *T. harzianum* the maximum growth was obtained with 12% (w/w). The incorporation of rice husks to the vermicompost reduced significantly the populations of both micoparasites. The best growth of *T. harzianum* and *B. subtilis* was 27% (v/w) and 45% (v/w) of water content, respectively.

Both micoparasites were mutually competitive, independent of pH level or time of inoculation.



Integrated control of *Sclerotium cepivorum* was studied through the combined use of vermicompost and solarization associated with the inoculation with *T. harzianum* or with *B. subtilis* before or after infestation the soil. Survival of these micoparasites in solarized soils, were also studied. The results showed that after solarization, in the presence of vermicompost, *T. harzianum* significantly increased the control level of *S. cepivorum* from 79 to 98%. *Bacillus subtilis* did not contribute to the increase of the control level obtained by soil solarization. *Trichoderma harzianum* did not survive the soil solarization; but a significant increased of *T. harzianum* population occurred when it was incorporated after soil solarization. *Bacillus subtilis* population was reduced 75% when inoculated before solarization, but had a significative growth when it was infested after soil solarization. The incorporation of vermicompost to the soil increased the solarized soil temperature.

Integrated control of *Sclerotinia sclerotiorum* was evaluated though the combined use of vermicompost, soil solarization, fungicide procimidone, herbicide EPTC, *T. harzianum* and *B. subtilis*. The micoparasites were incorporated to the soil, with or without vermicompost, solarized or not, after the use of herbicide or of fungicide. The results obtained showed that the soil solarization alone, independently of the depth, 2 or 4 cm of incorporation of sclerotia of *S. sclerotiorum* was an effective control strategy. None of the other studied factors, when associated with solarization, contributed to the increase control level of *S. sclerotiorum*. Infestation of vermicompost with *T. harzianum* after herbicide EPTC increased the control level, near to those obtained with solarization. The fungicide procimidone and the *B. subtilis* isolate, were not effective to reduce the viability of sclerotia of *S. sclerotiorum* incorporated to the soil at the depths of 2 and 4 cm.



## **SOBREVIVÊNCIA DE *Trichoderma harzianum* Rifai E DE *Bacillus subtilis* Cohn EM VERMICOMPOSTO**

### **RESUMO**

Neste trabalho, procurou-se avaliar o efeito do pH (5,5, 6,5 e 7,5), da dose de melação de cana (0,0, 10,0 e 20,0%), da dose de resíduos orgânicos (bagaço de cana e casca de arroz a 0,0, 2,5, 5,0, 10,0 e 20,0%) e do teor de umidade (15,0, 20,0, 25,0, 30,0, 35,0, 40,0 e 45,0%) na sobrevivência de *T. harzianum* e *B. subtilis* em vermicomposto. Avaliou-se, também, a capacidade de competição saprofitica desses micoparasitas.

Os resultados obtidos mostraram que esses micoparasitas, além de exigirem níveis adequados de pH próximos a 5,5 para *T. harzianum* e 7,5 para *B. subtilis*, são dependentes de uma fonte de carbono. O crescimento máximo para *T. harzianum* foi obtido pela adição de melação a 20%, ao passo que para *B. subtilis* foi de 10%. A adição de casca de arroz ao vermicomposto promoveu reduções significativas no número de colônias dos micoparasitas. A adição de bagaço de cana resultou em reduções significativas nas populações de *B. subtilis*, ao passo que para *T. harzianum* a proporção a ser incorporada para se obter o crescimento máximo é de 12%. Com relação à umidade no vermicomposto, a dose para crescimento máximo de *T. harzianum* situou-se em

27%, ao passo que para *B. subtilis* foi de 45% de umidade. Com relação à capacidade de competição saprofítica, os resultados obtidos mostraram que, independentemente do pH (5,5 ou 6,5), os maiores números de colônias foram obtidos quando os micoparasitas foram incorporados ao vermicomposto isoladamente. Os micoparasitas exerceram competição mútua, independentemente do pH e da época de incorporação, não importando se *T. harzianum* foi incorporado ao vermicomposto antes ou após a incorporação de *B. subtilis*. Esses resultados indicam a impossibilidade da utilização simultânea e, ou, seqüenciada desses micoparasitas em programas de controle biológico de patógenos habitantes do solo.

**SURVIVAL OF *Trichoderma harzianum* Rifai AND OF  
*Bacillus subtilis* Cohn IN VERMICOMPOST**

**ABSTRACT**

Survival and saprophytic ability of *T. harzianum* and *B. subtilis* were studied in relation to pH (5.5, 6.5 and 7.5), proportion of sugar cane molasses (0.0, 10.0 and 20.0%), proportion of the organic residues (sugar cane bagasse and rice husks at 0.0, 2.5, 5.0, 10.0 and 20.0%), and water content (15, 20, 25, 40, 35, 40 and 45%).

The results showed that these micoparasites required suitable pH levels; less than or equal to 5.5 for *T. harzianum* and equal or more than 7.5 for *B. subtilis*. They are also dependent of a carbon source. Maximum growth of *T. harzianum* was obtained by the use of molasses at 20%. For *B. subtilis* the proportion was 10%. The use of rice husks in the vermicompost significant reduced the population of both micoparasites. The use of sugar cane bagasse resulted in significative reduction in the *B. subtilis* populations. On the other hand, for *T. harzianum* maximum growth was obtained at the proportion of 12%. The best growth of *T. harzianum* and *B. subtilis* were 27% and 45% of water content, respectively. Booth micoparasites were not affected by the soil pH either 5.5 or 6.5. The lighest population of either micoparasite was obtained when they



were incorporated alone. Both micoparasites were mutually competitive, independent of soil pH and time of incorporation. The results indicated that *T. harzianum* and *B. subtilis* can not be incorporated either in sequence simultaneously in biological control programs of soilborne plant pathogen.

## 1. INTRODUÇÃO

A atual e crescente preocupação com a poluição ambiental, principalmente no que se refere à utilização indiscriminada de fungicidas, fez com que muitos pesquisadores dedicassem-se ao estudo de medidas alternativas para o controle de doenças de plantas.

Dentre vários agentes potenciais para o controle biológico, o fungo *Trichoderma* spp tem recebido maior atenção devido a suas características peculiares de antagonismo em condições naturais, principalmente no solo (WELLS, 1986). Em que pesem as muitas pesquisas já realizadas com esse micoparasita, seu uso tem sido limitado a testes em laboratório, casa de vegetação e a pequenas parcelas em nível de campo (MELO, 1991). Muitos fatores contribuem para sua baixa eficiência em condições de campo. Fatores abióticos, atuando diretamente nas populações e, ou favorecendo populações de microrganismos antagonistas, dificultam o controle efetivo de fitopatógenos em condições de campo. Fatores como textura e aeração (HOMECHIN, 1991), pH do solo (HO e KO, 1985), temperatura, umidade do solo (HO e KO, 1985; EASTBURN e BUTLER, 1991), teor e nível de decomposição de resíduos orgânicos no solo (CHUNG et al. 1988; HOITINK e BOHEM, 1991) exercem influência marcante na microbiostase, afetando, indistintamente, o potencial e a concentração de inóculo, tanto de micoparasitas antagonistas, como dos fitopatógenos.

A manipulação de alguns desses fatores pode induzir alterações nos diferentes tipos de microbiostase, reduzindo ou aumentando a fungistase, assim como a bacteriostase, contribuindo, desse modo, para manutenção ou aumento da biomassa de micoparasitas e indução de supressividade no solo (HOITINK e FAHY, 1986).

Para WELLS (1986), a presença generalizada de *Trichoderma* spp em solos cultivados e naturais é indicativo da capacidade de competição saprofítica desse micoparásita por espaço e nutrientes. Contudo, WEINDLING (1934) observou que características do solo, como pH, podem afetar a atividade antagonística de espécies de *Trichoderma*. *T. viride* é favorecido em solos úmidos, sendo, porém, inibido em condições de excessiva umidade e pH igual ou superior a 5,4 (ANDERSON, 1964). Por outro lado, *T. harzianum* é mais ativo em solos com pH igual ou inferior a 6,5 e temperatura acima de 22°C (JOHNSON et al., 1987).

Muitas espécies de *Trichoderma* têm sido associadas a solos supressivos; no entanto, *T. harzianum* e *T. hamatum* têm sido, freqüentemente, associadas ao controle de fitopatógenos nesses solos (MELO, 1991). Solos supressivos a *Rhizoctonia solani*, na Colômbia, têm sido caracterizados por apresentar populações naturais de *T. harzianum*, equivalentes a  $5 \times 10^6$  u.f.c/g de solo e pH inferior a 5,0. A supressividade a *R. solani* tem sido diretamente proporcional à concentração de inóculo do antagonista (WENSLEY e MCKEEN, 1963). A correção de pH de 8,0 para 6,0 com subsequente incorporação de  $10^6$  u.f.c/g ao solo, na região do Colorado, nos Estados Unidos, induziu sensível redução em doenças causadas por *R. solani* e *Pythium* spp (HARMAN et al., 1981).

Desde que WEIDLING (1934) descobriu o potencial do *Trichoderma* como agente de biocontrole, vários trabalhos têm sido efetuados no sentido de introduzir esse micoparásita no solo; contudo, pouco ou nenhum resultado prático tem sido obtido (WELLS, 1986). A falta de formulações ou substratos adequados ao crescimento e à aplicação desse micoparásita em condições de campo, mesmo em pequena escala, tem sido o grande desafio às pesquisas de controle biológico de plantas (MELO, 1991).



O inóculo de *Trichoderma* spp tem sido produzido de diferentes formas; a maioria dos fungos filamentosos utilizados no controle biológico tem sido produzida por fermentação líquida ou em meio semi-sólido. CHET et al. (1979) utilizaram farelo de trigo para a produção massal, ao passo que BACKAM e RODRIGUES-KABANA (1975) empregaram grânulos de argila impregnados com melaço de cana-de-açúcar a 10% (p/p) na proporção de 140 kg/ha para o controle de *Sclerotium rolfsii*. Segundo MELO (1991), o bagaço de cana enriquecido com melaço tem-se constituído em ótimo substrato para introdução de *Trichoderma* no solo, visando-se ao controle de *Verticillium dahliae*.

NELSON et al. (1983); HOITINK e KUTER (1985), assim como HOITINK e BOHEM (1991), sugeriram que compostos orgânicos podem se constituir em substrato para incorporação de micoparasitas ao solo e, desse modo, induzirem supressividade às terras cultivadas.

O efeito da adição de resíduos orgânicos ao solo foi estudado por ENALGHY et al. (1993). Esses autores concluíram que a adição de bagaço de cana na proporção de 1% (p/p) estimulou o crescimento de populações de *T. harzianum*, ao passo que colmo de arroz ofereceu resultados intermediários e resíduos de folhas de eucalipto induziram reduções significativas nas populações desse micoparasita. CHAMSWARNG e GESNARA (1993) obtiveram excelente controle de *S. rolfsii*, utilizando, como substrato para *Trichoderma* spp, mistura de casca de arroz, serragem de madeira e melaço de cana-de-açúcar, na proporção de 5:25:1 (p/p).

Além de micoparasitas fúngicos, bactérias do gênero *Pseudomonas*, produtoras de sideróforos, e *Bacillus subtilis* têm sido empregados em programas de controle biológico (ROBBS, 1991).

SINCLAIR (1989) sugeriu que *B. subtilis*, por ser uma bactéria residente no solo, por crescer em pH ácido e por produzir endosporos termoestáveis, seria promissora em programas de controle integrado de doenças de plantas.

Considerando-se a escassez de informações no Brasil, no que se refere aos fatores que condicionam o crescimento ou a manutenção da biomassa de *Trichoderma harzianum* Rifai e de *Bacillus subtilis* Cohn, este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar: a) o pH, a dose de melaço, a dose de resíduos orgânicos e o teor de umidade, que condicionam o crescimento ou a



manutenção da biomassa de *T. harzianum* e de *B. subtilis* em vermicomposto e b) a habilidade competitiva de *T. harzianum* e de *B. subtilis* em vermicomposto submetido a dois níveis de pH e incorporado em épocas diferentes.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram conduzidos nos laboratórios do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa. Como composto orgânico, foi utilizado vermicomposto com pH 8,5 e relação carbono:nitrogênio de 9:1. Antes de se iniciarem os ensaios, o vermicomposto foi colocado para dessecar, em condições de casa de vegetação, durante 35 dias, visando-se reduzir a umidade a 10%, aproximadamente, e, desse modo, reduzir a microbiostase, conforme recomendado por HO e KO (1985). O vermicomposto dessecado foi, então, armazenado em sacos de polietileno, vedados de forma a prevenir a reidratação.

Os micoparasitas utilizados nesses ensaios foram fornecidos pelo Dr. Itamar Soares Melo (CNPMA-EMBRAPA, Jaguariúna, São Paulo). O isolado de *Trichoderma harzianum*, codificado como sendo TW5-2B2, é um mutante resistente a altas concentrações do fungicida benomil, tendo sido obtido por meio de irradiação ultra-violeta e passagens sucessivas em meio de cultura contendo benomil, segundo técnica descrita por MIAO e HIGGINS (1985). O isolado de *Bacillus subtilis* foi codificado como sendo OG.

O inóculo de *T. harzianum* foi obtido pelo cultivo do isolado TW5-2B2 em meio de arroz (constituído por 100 g de arroz, 2 g de sacarose, 40 ml de água destilada, acrescido de 250 mg/L de cloranfenicol, autoclavado a 1,5 atmosfera, a 120°C, durante 20 minutos), durante 14 dias, a 25°C.

O inóculo de *B. subtilis* foi obtido mediante cultivo do isolado OG, em meio líquido de KADO e HESKETT (1970), durante 36 horas e sob agitação constante.

Em todos os ensaios, as incorporações dos micoparasitas foram efetuadas por meio da adição de 10 ml de suspensão de inóculo contendo  $10^4$  u.f.c./ml em 100 g de vermicomposto acondicionado em sacos de polietileno, com capacidade para 2 L. Após a incorporação do inóculo, os sacos de polietileno foram agitados manualmente para permitir distribuição homogênea do inóculo no substrato.

## **2.1. Crescimento de *T. harzianum* e de *B. subtilis* em Vermicomposto Submetido a Diferentes Níveis de pH e Doses de Melaço de Cana-de-Açúcar**

O ensaio foi conduzido obedecendo-se ao delineamento inteiramente casualizado, constituindo-se um esquema fatorial  $3 \times 3$ , sendo os tratamentos repetidos quatro vezes. Os tratamentos foram constituídos por três níveis de pH, 5,5, 6,5 e 7,5, e três doses de melaço de cana de açúcar em pó, 0,0, 10,0 e 20,0% (p/p).

O pH do vermicomposto foi corrigido mediante adição de ácido acético glacial, sendo a quantidade previamente determinada. Após a correção do pH, foram efetuadas pesagens de 100 g de vermicomposto, acondicionados em sacos de polietileno. Após a incorporação do melaço de cana-de-açúcar, o vermicomposto foi submetido à fumigação com brometo de metila ( $30 \text{ cm}^3/\text{m}^3$ ), durante 48 horas. Em seguida, os sacos contendo o substrato foram vedados e transferidos para o laboratório.

Antes de se proceder à incorporação dos micoparasitas no vermicomposto, adicionou-se água deionizada em quantidade suficiente para se obterem 30% (v/p) de umidade, de acordo com a recomendação de HOITINK e BOHEM (1991).

As avaliações foram efetuadas 30 dias após as incorporações do substrato aos micoparasitas, utilizando-se o processo de diluições sucessivas de amostras retiradas ao acaso (PRAMER; 1965 e ALLEN, 1959) de quatro



pontos diferentes, totalizando-se um grama, que foi suspenso em 100 mL de solução salina (NaCl, 0,85%) e agitado em liquidificador por um minuto. Em seguida, realizaram-se diluições sucessivas até  $1 \times 10^{-12}$ .

No ensaio relativo a *B. subtilis*, as suspensões correspondentes às concentrações de  $10^{-6}$  a  $10^{-12}$ , distribuídas em tubos de ensaio, vedados com algodão, foram submetidas a banho-maria, a 80°C, durante 30 minutos, visando-se conferir seletividade, conforme técnica preconizada por SCHWAN (1984), para o isolamento de bactérias desse gênero.

O plaqueamento foi efetuado mediante transferência de 0,1 ml de suspensão para placas de Petri contendo ágar de glicose e batatas (Difco), acrescido de cloroanfenicol, estreptomicina, benomil e rosa bengala 250, 100, 250 e 20 mg/l, respectivamente, para *T. harzianum* e ágar de glicose e batatas (Difco), acrescido de ciclohexamida na proporção de 250 mg/l para *B. subtilis*.

As quantificações foram efetuadas por meio de contagem do número de colônias e ocorreram nos seguintes períodos: 24 horas, após o plaqueamento, para *B. subtilis* e 120 horas, para *T. harzianum*.

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística, utilizando-se o programa SAEG (EUCLYDES, 1983). Os efeitos dos tratamentos foram testados por meio de contrastes ortogonais, testando-se, de formas linear e quadrática, o efeito de pH e doses de melaço de cana pelo teste de F, aos níveis de 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

## **2.2. Crescimento de *T. harzianum* e de *B. subtilis* em Vermicomposto com Diferentes Doses de Bagaço de Cana-de-Açúcar e de Casca de Arroz**

O ensaio foi conduzido em condições de laboratório, de acordo com o delineamento inteiramente casualizado. Os tratamentos foram constituídos por cinco doses de cada resíduo orgânico e repetidos quatro vezes.

As doses de bagaço de cana e de casca de arroz avaliadas foram 0,0, 2,5, 5,0, 10,0 e 20,0% (p/p), respectivamente.

Antes da incorporação de bagaço de cana e de casca de arroz, ajustou-se o pH do vermicomposto para 5,5 para *T. harzianum* e 7,5 para *B. subtilis*. Em seguida, procedeu-se à incorporação de melaço de cana na dose de 10%

(p/p). Após a incorporação do melaço, foram incorporados o bagaço de cana e a casca de arroz. Em seguida, o substrato foi submetido à fumigação, utilizando-se brometo de metila ( $30 \text{ cm}^3/\text{m}^3$ ), durante 48 horas. Em seguida, os sacos contendo o substrato foram vedados e transferidos para laboratório.

Antes de se proceder à incorporação dos micoparasitas ao vermicomposto, adicionou-se água deionizada, em quantidade suficiente para obterem-se 30% de umidade, de acordo com a recomendação de HOITINK e BOHEM (1991). As avaliações foram efetuadas 30 dias após as infestações dos substratos, conforme metodologia descrita no ensaio 2.1.

Os dados foram analisados utilizando-se o sistema SAEG (EUCLYDES, 1983), por meio de análises de regressão. Para efeito de análise, os dados referentes ao número de colônias de *T. harzianum*, no ensaio relativo ao efeito do bagaço da cana, foram transformados para raiz quadrada.

### **2.3. Crescimento de *T. harzianum* e de *B. subtilis* em Vermicomposto com Diferentes Níveis de Umidade**

O ensaio foi conduzido em condições de laboratório, obedecendo-se ao delineamento inteiramente casualizado, constituído de sete tratamentos, repetidos quatro vezes. Os tratamentos foram constituídos pelos níveis 15, 20, 25, 30, 35, 40 e 45% de umidade.

Antes da adição dos volumes de água deionizada, ajustou-se o pH do vermicomposto para 5,5 para *T. harzianum* e 7,5 para *B. subtilis*. Em seguida, procedeu-se à incorporação de bagaço de cana na dose de 12% (p/p), apenas para *T. harzianum*, e de melaço de cana na dose de 10% (p/p). Em seguida, o substrato foi submetido à fumigação, utilizando-se brometo de metila ( $30 \text{ cm}^3/\text{m}^3$ ), durante 48 horas. Após a fumigação, os sacos de polietileno contendo o substrato foram transferidos para laboratório, onde foram realizados os ajustes da umidade para os níveis adequados, mediante adição de água deionizada em quantidade previamente determinada.

As avaliações foram efetuadas 30 dias após a incorporação dos micoparasitas no substrato, obedecendo-se à metodologia descrita no ensaio 2.1.



Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística, utilizando-se o sistema SAEG (EUCLYDES, 1983), por meio de análises de regressão, ajustando-se para o modelo significativo de maior coeficiente de determinação.

#### **2.4. Habilidade Competitiva de *T. harzianum* e de *B. subtilis* em Vermicomposto Submetido a Dois Níveis de pH e em Diferentes Períodos de Incorporação dos Micoparasitas**

O ensaio foi conduzido em condições de laboratório, obedecendo-se a um delineamento inteiramente casualizado, sendo os tratamentos constituídos por dois níveis de pH, 5,5 e 6,5, e três épocas de incorporação dos micoparasitas, sendo repetidos quatro vezes.

Os períodos de incorporação foram os seguintes: a) *T. harzianum*, incorporado 15 dias antes de *B. subtilis*, b) *B. subtilis*, incorporado 15 dias antes de *T. harzianum*, c) incorporação simultânea de *T. harzianum* e *B. subtilis*, d) incorporação isolada de *T. harzianum* e e) incorporação isolada de *B. subtilis*.

Antes de se proceder às incorporações, o pH do vermicomposto foi ajustado para 5,5 e 6,5, mediante adição de ácido acético glacial em quantidade suficiente previamente determinada. Após a correção do pH, procedeu-se à adição de bagaço de cana-de-açúcar na proporção de 12% (p/p), apenas para os tratamentos em que *T. harzianum* foi incorporado isoladamente. Em seguida, procedeu-se à incorporação de melaço de cana na proporção de 10% (p/p). Após a adição do melaço, o substrato foi submetido à fumigação, utilizando-se brometo de metila ( $30 \text{ cm}^3/\text{m}^3$ ), durante 48 horas. Em seguida, os sacos de polietileno contendo o substrato foram vedados e transferidos para o laboratório. A correção da umidade foi efetuada mediante adição de água deionizada de modo a obterem-se 27% de umidade (v/p) para *T. harzianum*, quando incorporado de forma isolada e, ou previamente; 45% de umidade (v/p) para *B. subtilis*, quando incorporado de forma isolada e, ou previamente e 30% de umidade (v/p) quando a incorporação de *T. harzianum* foi realizada simultaneamente com *B. subtilis*.

As avaliações foram efetuadas 30 dias após as incorporações, de acordo com a metodologia descrita no ensaio 2.1.



Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística, utilizando-se o sistema SAEG (EUCLYDES, 1983), e os efeitos testados por meio de contrastes ortogonais.

... número médio de Colônias de *T. harzianum* em Vermicomposto Ajustado a Diferentes Níveis de pH e Doses de Melão, 31 dias após a inoculação em Vermicomposto Ajustado, Minas Gerais, 1993

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Crescimento de *T. harzianum* e de *B. subtilis* em Vermicomposto Submetido a Diferentes Níveis de pH e Doses de Melão de Cana-de-Açúcar

Com relação a *T. harzianum*, o número de colônias decresceu na medida em que o nível de pH foi elevado; independentemente da presença ou não do melão em adição, observou-se, também, que a redução no número de colônias ocorreu de forma muito mais acentuada quando o pH passou de 6,5 para 7,5, do que no intervalo de 5,5 para 6,5. Percebe-se, ainda, que o maior número de colônias foi obtido em pH 5,5 (Quadro 1).

Ao contrário, pode-se observar que a elevação nos níveis do pH, independentemente da proporção de melão, propiciou maior desenvolvimento de *B. subtilis* e os maiores incrementos ocorreram quando o pH foi elevado de 6,5 para 7,5 (Quadro 1).

Com relação ao efeito das diferentes proporções de melão, pode-se observar que houve crescimento das populações dos micoparasitas, independentemente do pH, na medida em que se elevou a dose de melão no vermicomposto.

QUADRO 1 - Número Médio de Colônias de *T. harzianum* e de *B. subtilis*, em Vermicomposto Ajustado a Diferentes pH e Doses de Melaço, 30 Dias após a Incorporação dos Micoparasitas. Viçosa, Minas Gerais, 1993

Melaço (%)	pH	Número de Colônias/g Composto	
		<i>T. harzianum</i> <sup>1</sup>	<i>B. subtilis</i> <sup>2</sup>
0	5,5	108,75	8,00
	6,5	100,50	17,50
	7,5	13,50	31,00
$\bar{X}$		74,25	18,83
10	5,5	876,75	59,75
	6,5	807,50	104,00
	7,5	27,75	249,25
$\bar{X}$		570,66	137,61
20	5,5	928,75	48,75
	6,5	890,75	107,25
	7,5	52,25	252,50
$\bar{X}$		623,91	136,16

<sup>1</sup> Número de colônias x 10<sup>7</sup>.

<sup>2</sup> Número de colônias x 10<sup>8</sup>.



A análise estatística dos dados obtidos (Quadro 2) mostra que, para todos os contrastes comparados, à exceção do efeito de pH na ausência de melaço, obtiveram-se efeitos linear e quadrático; sendo que, nesse contraste, só se obteve efeito linear, e apenas a 5% de probabilidade, pelo teste de F. A análise estatística mostra, também, que, pelo fato de ocorrer efeito quadrático, a variação no número de colônias de *T. harzianum* ou de *B. subtilis* não apresenta taxa constante nos diferentes intervalos, quer seja de pH ou entre as diferentes doses de melaço.

Na ausência de melaço, obtiveram-se efeitos linear, significativo e negativo com relação à elevação do pH dos incorporados, demonstrando que, na ausência de melaço, a elevação do pH induziu redução no número de colônias de *T. harzianum*. Não obstante a presença de melaço, independentemente da dose de 10 ou 20%, obtiveram-se efeitos linear e quadrático, sendo que o linear foi de natureza negativa e o quadrático de natureza positiva. Esse comportamento ou ajuste confirma que, em média, o aumento do pH implica em redução significativa no número de colônias de *T. harzianum*. Em adição, o efeito quadrático demonstra que a redução no pH para 5,5 proporciona, significativamente, maior número de colônias (Quadro 2)

Com relação a *B. subtilis*, no que diz respeito à análise estatística (Quadro 2), a comparação linear entre os níveis de pH mostrou efeitos significativo e positivo, independentemente de presença ou ausência de melaço, em que, em média, maior número de colônias esteve associado aos maiores níveis de pH. Foi, também, constatado efeito quadrático significativo entre proporções de melaço, demonstrando que, em média, maior número de colônias de *B. subtilis* foi obtido na dose de 10,0%.

Em presença de melaço, independentemente da dose, obtiveram-se efeitos linear e quadrático. Constatou-se que o aumento no número de colônias de *B. subtilis* foi função da elevação do pH e de doses de melaço.

Em relação aos resultados obtidos (Quadro 1), o melaço proporcionou aumento significativo no número de colônias, para os dois micoparasitas, significando que ambos são dependentes de uma fonte de carbono para seu melhor desenvolvimento.

QUADRO 2 - Análise de Variância Relativa ao Número de Colônias de *T. harzianum* e *B. subtilis*, em Vermicomposto, Submetidas a Diferentes Doses de Melaço e pH, 30 Dias após a Incorporação dos Micoparasitas. Viçosa, Minas Gerais, 1995

Fonte de Variação	GL	Quadrados Médios	
		<i>T. harzianum</i>	<i>B. subtilis</i>
E.I. das concentrações de melaço	1	1812800,70**	82602,66**
E.q. das concentrações de melaço	1	390433,39**	28960,22**
E.I. de pH d/melaço 0,0%	1	18142,12*	1058,00*
E.q. de pH d/melaço 0,0%	1	4134,37	10,66
E.I. de pH d/melaço a 10%	1	1448402,00**	71820,50**
E.q. de pH d/melaço a 10%	1	338437,50**	6800,66**
E.I. de pH d/melaço a 20%	1	1536504,50**	83028,12**
E.q. de pH d/melaço a 20%	1	427200,17**	5017,04**
Erro	27	3189,45	145,59
CV (%)		13,53	12,37

\* e \*\* Significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste de F.

E.I. = Efeito linear.

E.q. = Efeito quadrático.



Quando foram consideradas as diferentes doses de melaço, o número de colônias de *T. harzianum* decresceu, no intervalo de 10 para 20%, em termos percentuais, 7,89%, quando o pH do vermicomposto foi elevado de 5,5 para 6,5, e 96,56%, quando o pH foi elevado de 6,5 para 7,5. Dentro da dose de 20% de melaço, ocorreram reduções de 4%, quando o pH foi elevado de 5,5 para 6,5, e de 94,13%, quando o pH foi elevado de 6,5 para 7,5.

Em contrapartida, a elevação no pH do vermicomposto proporcionou aumentos significativos no número de colônias de *B. subtilis*, ocorrendo na dose de 10%, acréscimos de 99,99 e 139,63%, no número de colônias, quando o pH foi elevado de 5,5 para 6,5 e para 7,5, respectivamente. Dentro da dose de 20%, ocorreram incrementos no número de colônias da ordem de 120%, quando o nível do pH foi elevado de 5,5 para 6,5, e de 135,43%, quando o pH foi elevado de 6,5 para 7,5.

### **3.2. Crescimento de *T. harzianum* e de *B. subtilis* em Vermicomposto com Diferentes Doses de Bagaço de Cana-de-Açúcar e de Casca de Arroz**

As equações de regressão mostram que para *T. harzianum* (Figura 1A) o número de colônias formado em relação à dose de bagaço de cana apresentou tendência quadrática significativa. Pode-se observar que o ponto de máximo crescimento, nessa curva, situou-se em 12%.

Com relação à casca de arroz (Figura 2A), o número de colônias de *T. harzianum* apresentou tendência linear, entretanto negativa; o que significa que a casca de arroz não se constitui em substrato para *T. harzianum*. Para *B. subtilis*, observa-se que, independentemente do resíduo orgânico incorporado ao vermicomposto, o ajustamento faz-se no sentido a reduzir o número de colônias (Figuras 1B e 2B). Os dados apresentam comportamento linear negativo, o que indica que o bagaço de cana e a casca de arroz tornam-se contra-indicados para misturas com vermicomposto quando se pretende incorporar *B. subtilis*.



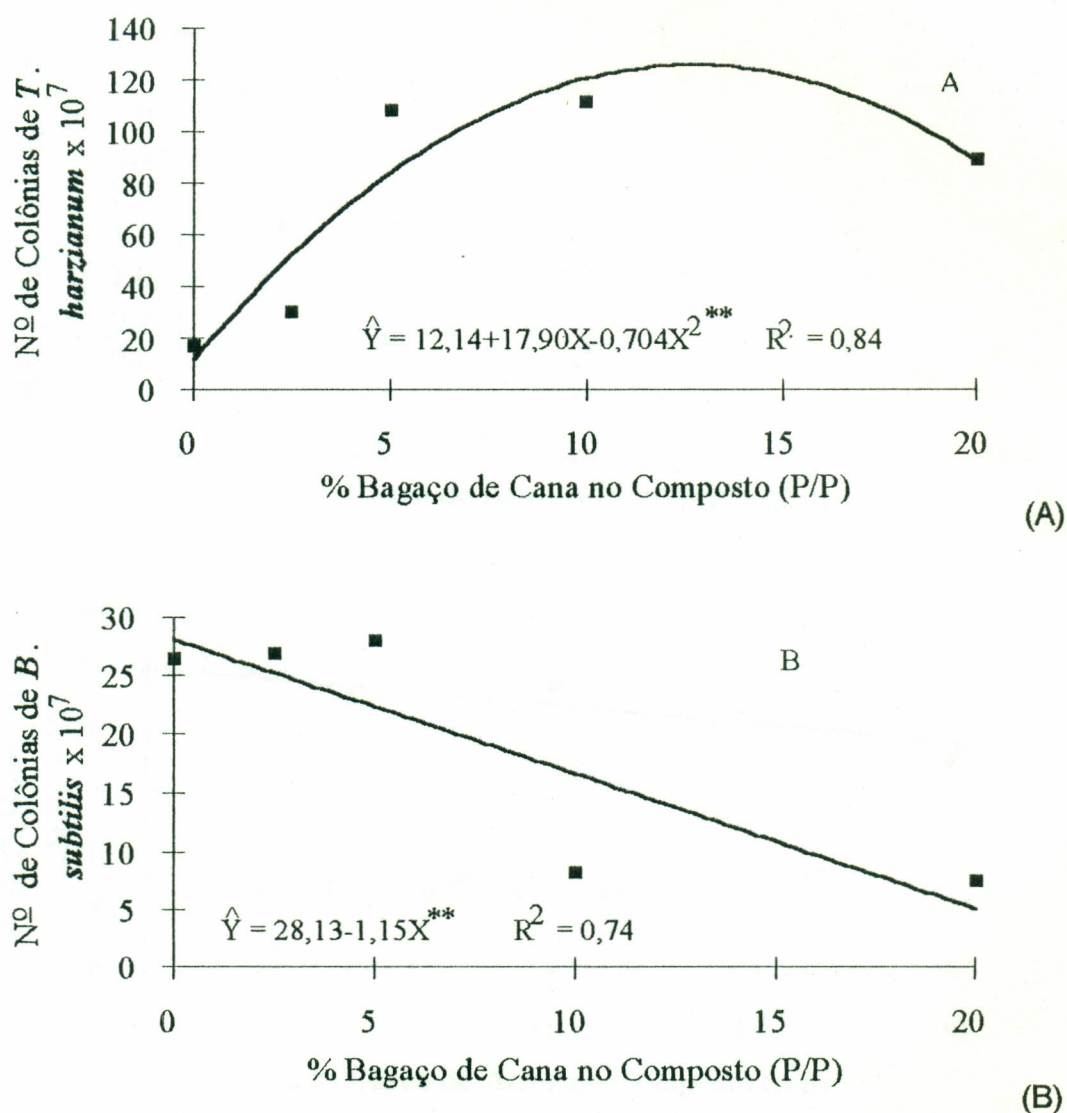


FIGURA 1 - Equação de Regressão Referente ao Número Médio de Propágulos de *Trichoderma harzianum* (A) e de *Bacillus subtilis* (B), Obtidos 30 Dias Após a Incorporação no Vermicomposto e Submetidos a Diferentes Doses (%) de Bagaço de Cana-de-Açúcar. Viçosa, Minas Gerais, 1993.

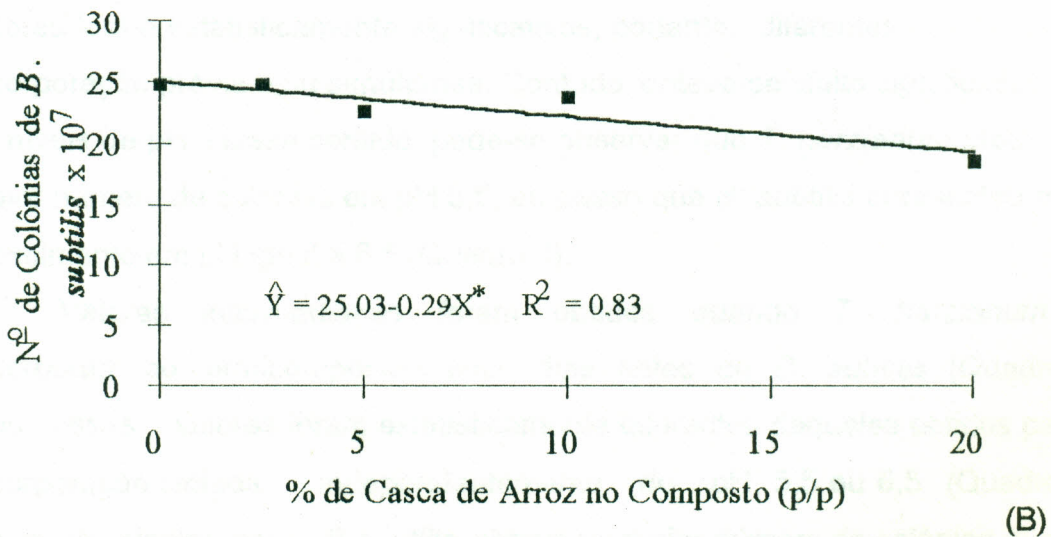
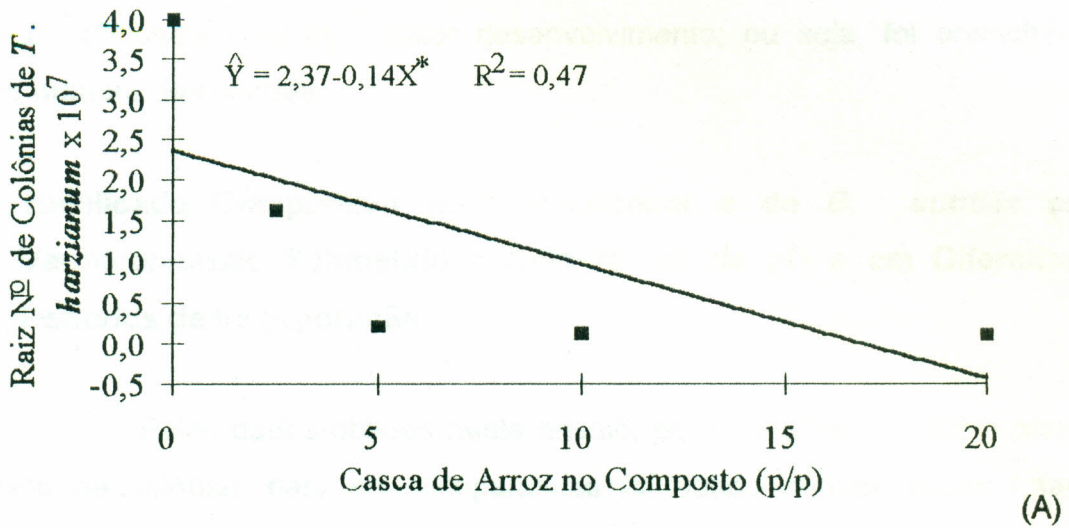


FIGURA 2 - Equação de Regressão Referente ao Número Médio de Propágulos de *Trichoderma harzianum* (A) e de *Bacillus subtilis* (B), Obtidos 30 Dias Após a Incorporação no Vermicomposto e Submetidos a Diferentes Doses (%) de Casca de Arroz. Viçosa, Minas Gerais, 1993.

### 3.3. Crescimento de *T. harzianum* e de *B. subtilis* em Vermicomposto com Diferentes Níveis de Umidade

Com relação ao efeito da umidade no número de colônias de *T. harzianum* e de *B. subtilis*, pode-se observar que para *T. harzianum* (Figura 3A) obteve-se ajustamento do tipo quadrático, em que o ponto de máximo crescimento ocorre quando a umidade situa-se em 28%.

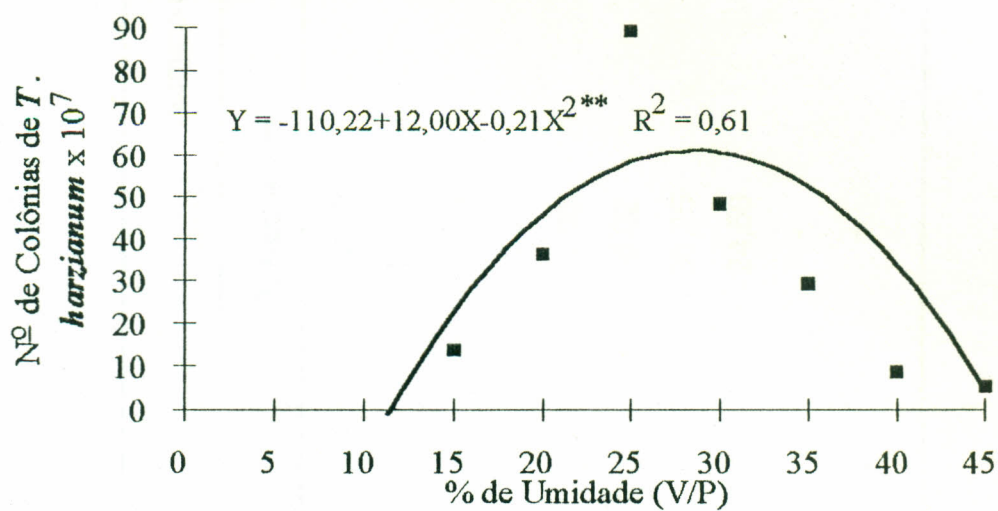
Para *B. subtilis* (Figura 3B), obteve-se ajuste linear positivo, em que, a 45% de umidade, ocorreu maior desenvolvimento; ou seja, foi encontrado maior número de colônias.

### 3.4. Habilidade Competitiva de *T. harzianum* e de *B. subtilis* em Vermicomposto Submetido a Dois Níveis de pH e em Diferentes Períodos de Incorporação

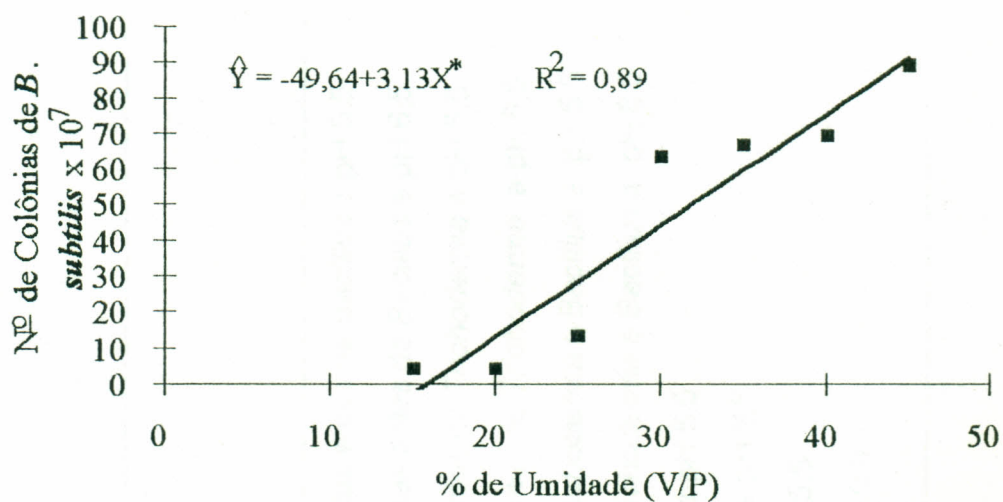
Pelos dados obtidos neste ensaio, pode-se observar que o maior número de colônias para os micoparasitas foi obtido quando esses foram incorporados de forma isolada, independentemente do pH (Quadro 3); e tais valores foram estatisticamente significativos, portanto, diferentes das formas de incorporação prévia e, ou simultânea. Contudo, obteve-se efeito significativo para os níveis de pH. Nesse sentido, pode-se observar que *T. harzianum* produziu o maior número de colônias em pH 5,5, ao passo que *B. subtilis* apresentou maior crescimento em pH igual a 6,5 (Quadro 4).

Valores intermediários foram obtidos quando *T. harzianum* foi incorporado ao vermicomposto quinze dias antes de *B. subtilis* (Quadro 3), mas esses valores foram estatisticamente diferentes daqueles obtidos para a incorporação isolada, independentemente do pH, 5,5 ou 6,5 (Quadro 4). De modo similar, para *B. subtilis*, obteve-se maior número de colônias quando se efetuou a incorporação isolada, e esses valores foram diferentes, estatisticamente, daqueles obtidos na incorporação de *B. subtilis*, quinze dias antes de *T. harzianum* (Quadro 4). Esses dados demonstram que, mesmo sendo incorporado quinze dias antes de *T. harzianum*, *B. subtilis* experimentou algum nível de competição, independentemente do pH (Quadro 4), e tais





(A)



(B)

FIGURA 3 - Equação de Regressão Referente ao Número Médio de Propágulos de *Trichoderma harzianum* (A) e de *Bacillus subtilis* (B), Obtidos 30 Dias Após a Incorporação no Vermicomposto e Submetidos a Diferentes Doses (%) de Umidade. Viçosa, Minas Gerais, 1993.

QUADRO 3 - Número Médio de Colônias de *T. harzianum* e *B. subtilis*, Obtido aos 30 Dias após a Incorporação no Vermicomposto Submetido a Dois Níveis de pH e em Diferentes Épocas de Incorporação. Viçosa, Minas Gerais, 1993

Tratamentos	Número de Colônias	
	<i>T. harzianum</i> <sup>1</sup>	<i>B. subtilis</i> <sup>2</sup>
<i>Trichoderma</i> incorporado 15 dias antes de <i>Bacillus</i> a pH 5,5	15,75	21,25
<i>Trichoderma</i> incorporado 15 dias antes de <i>Bacillus</i> a pH 6,5	12,75	33,25
<i>Bacillus</i> incorporado 15 dias antes de <i>Trichoderma</i> a pH 5,5	1,75	45,00
<i>Bacillus</i> incorporado 15 dias antes de <i>Trichoderma</i> a pH 6,5	0,87	53,75
Incorporação simultânea de <i>Trichoderma</i> e <i>Bacillus</i> a pH 5,5	0,03	25,00
Incorporação simultânea de <i>Trichoderma</i> e <i>Bacillus</i> a pH 6,5	0,02	23,50
Incorporação de <i>Trichoderma</i> a pH 5,5	31,75	-
Incorporação de <i>Trichoderma</i> a pH 6,5	24,50	-
Incorporação de <i>Bacillus</i> a pH 5,5	-	64,25
Incorporação de <i>Bacillus</i> a pH 6,5	-	76,25

1. Número de colônias x 10<sup>8</sup>.

2. Número de colônias x 10<sup>7</sup>.

QUADRO 4 - Análise de Variância Relativa ao Número de Colônias de *Trichoderma harzianum* e *Bacillus subtilis*, Submetidas a Tratamentos sob Efeito de Dois Níveis de pH e Épocas de Incorporação, Obtido aos 30 Dias após a Incorporação no Vermicomposto. Viçosa, Minas Gerais, 1993

Fonte de Variação	GL	Quadrados Médios <sup>1</sup>	
		<i>T. harzianum</i>	<i>B. subtilis</i>
Hab. comp. conjunta vs. isolada	1	77,814**	7.402,59**
Hab comp. separada vs. simultânea	1	27,090**	1.054,68**
Hab. comp. de <i>Trichoderma</i> vs. hab. comp. de <i>Bacillus subtilis</i>	1	27,825**	1.958,06**
Hab. comp. de <i>Trichoderma</i> pré-incorporado de <i>Bacillus</i> a pH 5,5 vs. pH 6,5	1	0,304	288,00**
Hab. comp. de <i>Bacillus</i> pré-incorporado de <i>Trichoderma</i> a pH 5,5 vs. pH 6,5	1	0,259	153,12*
Hab. comp. simultânea de <i>Bacillus</i> e <i>Trichoderma</i> pH 5,5 vs. pH 6,5	1	0,001	4,50
Hab. comp. isolada de <i>Trichoderma</i> a pH 5,5 vs. pH 6,5	1	0,918*	-
Hab. comp. isolada de <i>Bacillus</i> a pH 5,5 vs. pH 6,5	1	-	450,00**
Erro	24	0,129	22,36
CV (%)		13,960	11,15

Hab. comp. = Habilidade competitiva.

1. Dados transformados em raiz quadrada para efeito de análise estatística.

\* e \*\* Significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.



valores foram estatisticamente diferentes de todas as outras formas ou períodos de incorporação, nos quais se avaliou a capacidade de competição saprofítica. Não houve efeito de pH para *B. subtilis* quando a incorporação ocorreu concomitantemente com a incorporação com *T. harzianum*.

### 4.1. DISCUSSÃO

Os resultados apresentados neste trabalho demonstram que a capacidade de competição saprofítica de *B. subtilis* e *T. harzianum* em relação a outros fungos saprofitos é influenciada pelo pH do substrato e pelo período de incorporação. A capacidade de competição saprofítica de *B. subtilis* e *T. harzianum* foi avaliada em relação a outros fungos saprofitos em um substrato de casca de arroz carbonizada. Os resultados demonstram que a capacidade de competição saprofítica de *B. subtilis* e *T. harzianum* é influenciada pelo pH do substrato e pelo período de incorporação. A capacidade de competição saprofítica de *B. subtilis* e *T. harzianum* foi avaliada em relação a outros fungos saprofitos em um substrato de casca de arroz carbonizada. Os resultados demonstram que a capacidade de competição saprofítica de *B. subtilis* e *T. harzianum* é influenciada pelo pH do substrato e pelo período de incorporação.

#### 4. DISCUSSÃO

Os resultados dos ensaios evidenciam a importância de fatores abióticos que condicionam o crescimento ou a manutenção da biomassa de micoparasitas. Com relação ao efeito do pH, os resultados obtidos concordam com as observações de WEIDLING (1934), ANDERSON (1964), HARMAN et al. (1981) e com os resultados de HO e KO (1985), no sentido de que o pH exerce influência marcante em populações de antagonistas no solo. A correção do pH, visando reduzi-lo, propiciou aumentos significativos no número de colônias de *T. harzianum*, provavelmente em função da redução parcial da fungistase, embora HO e KO (1985) tenham assumido que o pH, per si, não seja, isoladamente, capaz de reduzir ou de eliminar completamente a fungistase. Deve-se considerar que, pelo fato de a grande maioria dos solos brasileiros apresentar pH baixo, a introdução de *T. harzianum* seria facilitada, desde que o pH contribuísse para redução da fungistase, o que, por certo, propiciaria o crescimento de populações de *T. harzianum*.

Espera-se que a correção do pH do vermicomposto e, ou, incorporação prévia do vermicomposto, de modo a permitir que o pH seja reduzido, em função do baixo pH dos solos brasileiros, possam constituir-se em estratégia para introdução de *T. harzianum* no solo, no sentido de promover o controle biológico de patógenos habitantes do solo. Com relação a *B. subtilis*, os resultados confirmam os dados de HO e KO (1985) no sentido de que o pH pode exercer efeito marcante na bacteriostase e discordam da proposição de



SINCLAIR (1989), que assegurou que *B. subtilis* pode crescer em pH baixo. A redução das populações de *B. subtilis*, na medida em que se reduziu o pH, aponta para a necessidade de elevação do pH do solo e, ou infestação do vermicomposto, previamente, antes de incorporá-lo ao solo.

A incorporação de uma fonte de carbono, nesse caso representada pelo melaço de cana, propiciou crescimento para as populações dos micoparasitas. Esse fato demonstra que *T. harzianum* e *B. subtilis* são dependentes de uma fonte de carbono. E confirma os resultados de BACKAM e RODRIGUES-KABANA (1975), MELO (1991) e de CHAMSWARNG e GESNARA (1993), que observaram que o melaço de cana constitui-se em excelente fonte de carbono para a multiplicação massal de *T. harzianum*.

Com relação à incorporação de resíduos orgânicos ao vermicomposto, neste trabalho representada por bagaço de cana-de-açúcar e casca de arroz, os resultados obtidos confirmam a expectativa de MELO (1991) e os resultados de ENALGHY et al. (1993), no sentido de que o bagaço de cana constitui-se em excelente substrato para a introdução de *T. harzianum* no solo. A existência de uma dose máxima de bagaço de cana, situada em torno de 12% (p/p), demonstra que a quantidade de bagaço a ser incorporada aos incorporados deve levar em consideração que *T. harzianum*, embora apresente atividade celulolítica, não se constitui em colonizador primário (HOITINK e FAHY, 1986).

ELNAGHY et al. (1993) concluíram que a adição de bagaço de cana na proporção de 5% (p/p) promoveu ganhos consideráveis na população de *T. harzianum*; porém, naquele trabalho, o bagaço foi incorporado diretamente ao solo, na ausência de vermicomposto, e, desse modo, funcionou como fonte de carbono para esse micoparasita. Para *B. subtilis*, a adição de bagaço de cana resultou, independentemente da proporção utilizada, em redução das populações, indicando que o bagaço não se constitui em substrato para essa bactéria ou, ainda, que *B. subtilis* não se constitui em colonizador primário, fato também constatado por HOITINK e FAHY (1986).

Confirmaram-se as colocações de CHUNG et al. (1988) e de HOITINK e BOHEM (1991) a respeito de que a dose de resíduos orgânicos adicionados condiciona a atividade antagonística de micoparasitas em compostos orgânicos, conferindo maior ou menor microbiostase, visto que pode atuar indistintamente



na concentração e no potencial de inóculo, tanto de patógenos como de micoparasitas.

No que se refere ao efeito da umidade no vermicomposto, este trabalho confirma as observações de EASTBURN e BUTLER (1991) e HO e KO (1985), no sentido de que a umidade pode alterar a microbiostase. E, nesse sentido, HOITINK e BOHEM (1991) asseguraram que a redução do teor de água nos compostos orgânicos pode tornar o solo conducente para fitopatógenos, em função da maior bacteriostase, reduzindo-se, dessa forma, as populações de bactérias antagônicas. A existência de níveis ótimos de umidade para *T. harzianum*, em torno de 27% (v/p), e 45%, para *B. subtilis*, em vermicomposto, demonstra a impossibilidade de utilização conjunta desses micoparasitas.

No que se refere à capacidade de competição saprofítica ou habilidade competitiva de *T. harzianum* e de *B. subtilis*, os resultados deste trabalho não concordam com aqueles obtidos por KWOH et al. (1987), que asseguraram que espécies de *Trichoderma* podem interagir com algumas bactérias e, desse modo, promover a erradicação de fitopatógenos. Independentemente do pH do vermicomposto, ocorreu antagonismo entre os micoparasitas, embora esse antagonismo estivesse mais acentuado quando ocorreu incorporação prévia de *B. subtilis* e, ou simultânea de *B. subtilis* e *T. harzianum*.

Com base nos resultados deste ensaio, descarta-se a possibilidade de incorporação simultânea e, ou prévia de *B. subtilis* e de *T. harzianum*, visto que ambos exercem alguma forma de competição, independentemente do pH e, ou época de incorporação. Em suma, os resultados deste trabalho apontam para a necessidade de se estabelecerem trabalhos prévios, quando se pretende utilizar esses micoparasitas no controle biológico de fitopatógenos. Principalmente no que se refere à manipulação de fatores abióticos, como pH, teor de umidade e dose de resíduos orgânicos no solo, de modo a aumentar a eficiência de controle, visto que esses fatores influenciam direta e diferentemente a população dos micoparasitas.

Por outro lado, dispendo-se de isolados eficientes de *B. subtilis*, considerando que compostos orgânicos apresentem pH elevado, a incorporação de melação e a manutenção da umidade ideal constituiriam-se em estratégias para a manutenção da biomassa dessa bactéria, ao passo que para *T.*

*harzianum* seria necessário promover a correção do pH, o que implicaria em custos adicionais. São necessários, também, trabalhos que visem estudar a sobrevivência desses micoparasitas em compostos orgânicos; porém, sem se estabelecerem tratamentos prévios, já que, neste trabalho, o vermicomposto, além de ser dessecado, recebeu aplicação de brometo de metila, o que, por certo, reduziu, em muito, a microbiostase.



## BIBLIOGRAFIA

- ANDERSON, E.J. indirect effects of agriculture chemicals in soil: long-term effects of soil fungistase. **Proceedings Annual Conference on Control of Soil Fungi**. California, USA, 10: 13-14. 1964.
- ALLEN, O.N. **Experiments in soil bacteriology**. 3 ed. Minneapolis, Burges Publishing Co., 1959. 117 p.
- BACKAM, P.A.; RODRIGUES-KABANA, R. A system for the growth and delivery of biological control agents to the soil. **Phytopathology**, 65: 819-821. 1975.
- CHAMSWARNG, G.; GESNARA, W. Application of *Trichoderma* with organic compost for biocontrol of *Sclerotium rolfsii* in tomato. In: **6th International Congress of Plant Pathology**. Montreal (Quebec). Canada. 1993. p. 292. (Resumo 16.6.5.).
- CHEN, W.; HOITINK, H.A.J.; SCHMITTHENNER, A.F. & TWOVINEN. The role of microbial activity in supression of damping-off caused by *Pythium ultimum*. **Phytopathology**, 78: 314-322. 1988.
- CHET, I.; ELAD, Y.; KALFON, A.; KADAR, Y.; KATAN, J. Integrated control of soilborne and bulbborne pathogens in *Iris*. **Phytoparasitica**, 4: 229-236. 1982.
- CHUNG, Y.R. & HOITINK, H.A.J. Interaction between termophilic bacteria and fungi *Trichoderma hamatum* in suppression of *Rhizoctonia* damping-off in a bark compost amended container media. **Phytopathology**, 80: 73-77. 1990.



- CHUNG, Y.R.; HOITINK, H.A.J.; DICK, W.A.; MERR, L.J. Effects of organic matter decomposition level and cellulose amendment on the inocula potencial of *Rhizoctonia solani* in hardwood bark media. *Phytopathology*, 78: 836-840. 1988.
- COOK, R.J. & BAKER, K.F. The nature and pratic of biological control of plant pathogens. St Paul: The American **Phytopathological Society**. 1983. 539 p.
- EASTBURN, D.M.; BUTLER, G.E. Effects of soil mosture and temperature on the saprophytic ability of *Trichoderma harzianum*. *Mycologia*, 83: 257-263. 1991.
- ENALGHY, G.M.; SHABAN, EL-KHODARY, S.A. & YASER, M.M. Effect of organic amendments on *Trichoderma* in different soil typs. In: 6th. International Congress of Plant Pathology. Montreal (Quebec). Canadá. 1993. p. 293 (Resumo 16.6.11).
- EUCLYDES, R.F. **Manual de utilização do Programa SAEG**. Sistema para Análises Estatísticas e Genética. Viçosa, UFV, Imprensa Universitária, 1983. 59 p.
- HARMAN, G.E.; CHET, I.; BAKER, R. Factors affecting *Trichoderma hamatum* applied to seeds as biocontrol agent. *Phytopathology*, 71: 569-572. 1981.
- HENIS, Y. & CHET, I. Microbial control of plant pathogens. *Advances. App. Microbioloty*, 19: 85-111. 1975.
- HO, V.C. & KO, W.H. Soil microbiostasis - effects of enviromental and edaphic factors. *Soil Biol. Biochem*, 17: 167-170. 1985.
- HOITINK, H.A.J.; BOHEM, M. Interactions between organic matter decomposition level, biocontrol agents and plant pathogens in soilborne disease. In: BETTIOL, W. (coord.). Anais da IV Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas. Campinas, SP. Brasil. 1991. p. 63-77.
- HOITINK, H.A.J. & FAHY, D.C. Basis for the control of soilborne plant pathogens with compost. *Ann. Rev. Phytopathology*, 24: 93-114. 1986.
- HOITINK, H.A.J.; KUTER, G.A. Effect of composts in container media on disease caused by soilborne plant pathogens. *Acta Horticultural*, 172: 191-196. 1985.
- HOMECHIN, M. Controle biológico de patógenos do solo. In: BETTIOL, W. (coord.). Controle Biológico de Doenças de Plantas. EMBRAPA/CNPDA. Jaguariúna-SP. 1991. p. 7-23.

- JOHNSON, L.F.; BERNARD, E.C.; QUIAN, P. Isolation of *Trichoderma* spp. at low temperatures from Tennessee and Alaska soils. *Plant Disease*, 71: 137-140. 1987.
- KADO, C.I.; HESKETT, M.L.L. Seletive media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. *Phytopathology*, 60: 967-976. 1970.
- KWOH, D.C.; FAHY, P.C.; HOITINK, H.A.J.; KUTER, G.A. Interactions between bacteria and *Trichoderma hamatum* in supression of *Rhizoctonia* damping-off in bark compost media. *Phytopathology*, 77: 1206-1212. 1987.
- MELO, I.S. Potencialidade de utilização de *Trichoderma* spp no controle biológico de doenças de plantas. In: BETTIOL, W. (coord.). Controle Biológico de Doenças de Plantas. Campinas, SP, Brasil. 1991. p. 105-156.
- MIAO, V. & HIGGINS, V.J. Detection of induced susceptibility in tomato using mutants of *Cladosporium fulvum* tolerant to cichoexamide or benomil. *Can. J. Bot.* 64: 1299-1305. 1995.
- NELSON, E.B.; CRAFT, C.M. Supression of dollar spot on creping bentgrass and annual bluegrass turf with compost-amended topdressings. *Plant Disease*, 76: 954-958. 1992.
- NELSON, E.B.; KUTER, G.A.; HOITINK, H.A.J. Effect of fungal antagonists and compost age on supression of *Rhizoctonia* damping-off in container media amended with composted hardwood bark. *Phytopathology*, 73: 1457-1460. 1983.
- PRAMER, D. Filamentores fungi. In: *Experimental soil Microbiology*. Burgess Publishing. Co. Minnesota. 1965. 107 p.
- ROBBS, C.F. Bactérias com agentes de controle biológico de fitopatógenos. In: BETTIOL, W. (Coord.). Controle biológico de doenças de plantas. Campinas, SP, Brasil, 1991, p. 121-133.
- SCHWAN, R.F. Variações na aeração do processo tradicional de fermentação de cacau na Bahia e identificação das espécies de *Bacillus* envolvidas nesses métodos. Viçosa, MG, UFV, Impr. Univ., 1984. 83 p. (Tese M.S.).
- SINCLAIR, J.B. *Bacillus subtilis* as biocontrol agent for plant diseases. In: *Perspectives in plant pathology*, New Delhi, Today & Tomorrow's Printers and Publishers, 1989. p. 367-374.
- WEIDLING, R. Studies on lethal principle effective in the parasitic action of *Trichoderma lignorum* on *Rhizoctonia solani* and other soil fungi. *Phytopathology*, 24: 1153-1179. 1934.



WELLS, H.D. *Trichoderma* as a biocontrol agent. In: MUKERJI, K.G.; GARG, K.L. (Eds.). **Biocontrol of Plant Diseases**. Boca Raton, Flórida, 1986. p. 72-82.

WENSLEY, R.J. & MCKEEN, C.D. Populations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* and their relation to the wilt potential of two soils. **Can. J. Microbiol.**, 9: 237-249. 1963.



**CONTROLE DE *Sclerotium cepivorum* Berk. PELO USO COMBINADO DE  
VERMICOMPOSTO, SOLARIZAÇÃO, *Trichoderma harzianum*  
E *Bacillus subtilis***

**RESUMO**

Neste trabalho, procurou-se avaliar, em solo naturalmente infestado, os efeitos de vermicomposto, solarização, *T. harzianum* e *B. subtilis* incorporados previa ou posteriormente à solarização, no controle de *Sclerotium cepivorum*. Após incorporação de vermicomposto e incorporação nos tratamentos com incorporação prévia, o solo umedecido foi coberto com um filme de polietileno transparente durante 60 dias. Após a retirada da cobertura plástica, efetuaram-se as incorporações nos tratamentos com incorporação "a posteriori". As avaliações foram efetuadas aos 30, 60 e 90 dias após a retirada do plástico e basearam-se na percentagem de escleródios viáveis. Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística e os tratamentos foram comparados por contrastes ortogonais. Os resultados mostraram que a solarização reduziu, significativamente, a viabilidade dos escleródios de *S. cepivorum*. A incorporação de *T. harzianum* ao solo, após a solarização, aumentou a percentagem de controle de 79 para 98%. Infere-se que a incorporação com *T.*

*harzianum* ao solo associada à solarização constitui-se em estratégia de controle integrado a *S. cepivorum*.

## CONTROLE DE *Sclerotinia cepivorum* POR MEIO DO USO DE VERMICOMPOSTO E SOLARIZAÇÃO DO SOLO ASSOCIADA À INOCULAÇÃO DO SOLO COM *Trichoderma harzianum* E *Bacillus subtilis*

### RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar in vitro e in vivo a eficácia dos métodos de vermicompostagem, solarização do solo associado à inoculação com *Trichoderma harzianum* e *Bacillus subtilis* no controle de *Sclerotinia cepivorum* após a solarização. Após a incorporação do vermicomposto ao solo, a semente foi separada, o solo ensacado e coberto com polietileno (100 µm) por 15 dias a 20 ± 1 °C. Após a remoção do plástico, as sementes, *T. harzianum* e *B. subtilis* foram inoculadas. As avaliações foram feitas aos 53, 60, 67 e 74 dias após a sementeira, baseadas na porcentagem de sementes infectadas em campo. Os resultados mostraram que o solo tratado reduziu significativamente a sobrevivência de sementes de *S. cepivorum*. A inoculação de *T. harzianum* no solo após a solarização reduziu a porcentagem de sementes infectadas em campo, e a combinação de inoculação de *T. harzianum* no solo após solarização, aliada ao controle *S. cepivorum* no solo.

**CONTROL OF *S. cepivorum* BY THE USE OF VERMICOMPOST,  
SOLARIZATION, *Trichoderma harzianum* AND *Bacillus subtilis***

**ABSTRACT**

The aim of this work was to evaluate in naturally infested soil the effect of vermicompost, soil solarization, *T. harzianum* and *B. subtilis* incorporated before or after the solarization. After the incorporation of the vermicompost and with the micoparasites, the humid soil was covered with a polyethylene transparent film of 0,1 mm for 60 days. After the removal of the plastic cover, *T. harzianum* and *B. subtilis* were inoculated. The evaluations were made 30, 60 and 90 days after plastic cover removal based on the percentage of viable sclerotis in culture media. The results showed that soil solarization reduced significantly the viability of sclerotia of *S. cepivorum*. The incorporation of *T. harzianum* in the soil after the soil solarization increased the percentage of control from 79% to 98%. In conclusion, incorporation of *T. harzianum* in the soil after solarization effectively controlled *S. cepivorum* in the soil.



## 1. INTRODUÇÃO

No Brasil, a cultura do alho (*Allium sativum* L.), apesar da importância socio-econômica, apresenta baixa produtividade (SONNENBERGER, 1985), e essa baixa produtividade pode ser, em parte, creditada à ocorrência de doenças fúngicas. Dentre as doenças que contribuem para essa redução na capacidade produtiva, encontra-se a podridão branca, causada por *Sclerotium cepivorum*, que pode induzir perdas da ordem de 100% (CRUZ FILHO et al., 1985).

Como medidas de controle para essa doença, tem-se utilizado de rotação de culturas (COLEY-SMITH, 1990) e controle químico (REZENDE e ZAMBOLIM, 1987). Contudo, a sobrevivência do patógeno, na forma de escleródios, por até 20 anos, (CROWE et al., 1980; COLEY-SMITH, 1990), mesmo na ausência de plantas hospedeiras, inviabiliza essa estratégia de controle.

Por outro lado, a utilização de fungicidas, além de implicar em poluição ambiental, tem sido questionada em função da perda gradativa de eficiência, provavelmente, devida à biodegradação (UTKHEDE e RAHE, 1983; STEWART e FULLETON, 1990; COLLEY SMITH, 1990), ou, ainda, por apresentar efeito, apenas, fungistático, impedindo a colonização, mas sem reduzir a viabilidade dos escleródios para a safra subsequente (REZENDE e ZAMBOLIM, 1986).

Diante dessas constatações, os trabalhos visando ao controle de *S. cepivorum* têm sido direcionados no sentido de se buscarem outras alternativas. E, nesse sentido, a solarização, técnica que consiste em cobrir o

solo previamente irrigado, antes do plantio, utilizando-se filmes de polietileno transparente, durante os meses mais quentes do ano, com o objetivo de se elevar a temperatura do solo a níveis letais a microrganismos fitopatogênicos (KATAN et al., 1976; KATAN, 1991), tem sido avaliada no controle de *S. cepivorum* (CUNHA et al., 1993; MATROD et al., 1991).

Muitos autores têm relatado que o efeito mais evidente da solarização seria por meio da elevação da temperatura do solo aos níveis letais a agentes patogênicos (KATAN et al., 1976; PORTER e MERRIAN, 1983; VANNACCI et al., 1988); todavia o controle de patógenos, nas camadas mais profundas do solo, sugere que outros mecanismos de controle operam simultaneamente, ou envolvem mecanismos biológicos de controle em solos solarizados (KATAN, 1991). Esses mecanismos podem ser: enfraquecimento de estruturas de resistência (KATAN, 1980); redução parcial ou total da fungistase, expondo as estruturas ou propágulos que germinam à ação de micoparasitas, principalmente aqueles com capacidade lítica (KATAN et al., 1976); indução de supressividade ao solo, impedindo a recolonização após a solarização (GRENBERGER et al., 1987) e favorecimento a populações de micoparasitas que podem prevenir a reinfestação do solo ou o restabelecimento da população original (PHILLIPS, 1990 e DEVAY, 1991).

Dessa forma, pode-se inferir que, após a solarização, ocorre um "vácuo biológico" no solo (STAPLETON, 1991), o que representa a possibilidade para a introdução de micoparasitas competentes, como sugerido por ELAD et al. (1980).

TJAMOS e PAPLOMATAS (1988), VANNACCI et al. (1988) e PHILLIPS (1990) constataram elevação no nível de hiperparasitismo, a escleródios de *Verticillium dahliae* e *Sclerotinia sclerotiorum*, respectivamente, após a solarização. Partindo dessas constatações, CHET et al. (1982) verificaram que a incorporação do solo, após a solarização, com *Trichoderma harzianum*, reduziu a incidência de *Rhizoctonia solani*, em plantas de *Iris* spp. em, praticamente, 100%, ao passo que a solarização e a incorporação com *T. harzianum* reduziram em 89 e 76%, respectivamente, quando empregadas isoladamente.

Considerando a crescente preocupação com a utilização de fungicidas, não só pela poluição ambiental e danos causados pelo seu uso, mas também



pela baixa eficiência desses produtos, no controle da podridão branca do alho, procurou-se neste trabalho avaliar: a) o efeito de solarização, associada ao vermicomposto, *Trichoderma harzianum* Rifai e *Bacillus subtilis* Cohn, no controle de *Sclerotium cepivorum* Berk; b) o efeito do vermicomposto na elevação da temperatura do solo durante a solarização e c) a sobrevivência de *T. harzianum* e de *B. subtilis* incorporados prévia e,ou, posteriormente à solarização do solo.



## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi conduzido em condições de campo, próximo ao viveiro de café do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa.

Avaliaram-se os seguintes fatores: vermicomposto, solarização, *T. harzianum* e *B. subtilis*. Os tratamentos constaram da combinação dos fatores acima mencionados e foram arranjados da seguinte forma: solarização, vermicomposto + solarização, vermicomposto + *B. subtilis* + solarização, vermicomposto + solarização + *B. subtilis*, vermicomposto + *T. harzianum* e solarização vermicomposto + solarização + *T. harzianum*, vermicomposto + *B. subtilis* + *T. harzianum* x solarização vermicomposto + solarização + *B. subtilis* + *T. harzianum*. Os tratamentos foram repetidos quatro vezes e a unidade experimental foi representada por 0,5 m<sup>2</sup> de solo naturalmente infestado por *S. cepivorum*. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado.

O solo, naturalmente infestado utilizado neste ensaio, foi coletado no município de Senador Firmino, em propriedades onde a doença tem atingido 100% de incidência.

Após ser submetido à dessecação, o solo foi destorroado de modo a permitir a homogeneização. Em seguida, procedeu-se à coleta de amostras em um total de 55 amostras de 100 g. Cinco amostras foram colocadas em estufa, a 40°C, até atingir peso constante visando determinar o peso seco. As 50 amostras restantes foram processadas segundo técnica descrita por REZENDE e ZAMBOLIM (1986), visando à extração dos escleródios. A viabilidade dos

escleródios extraídos foi avaliada de acordo com técnica descrita por CUNHA et al. (1991) utilizando-se o meio seletivo de PAPAVIDAS (1972). Obtiveram-se 62,5 escleródios/100 hg de solo, dos quais 53 estavam viáveis, apresentando, portanto, 85% de viabilidade.

Após a quantificação e a determinação da viabilidade dos escleródios, procedeu-se à incorporação do solo na área experimental. Para tanto, foram dispostos nas parcelas 5 kg de solo, distribuídos em cinco sulcos de 100 cm de comprimento, espaçados de 20 cm; o solo foi incorporado até profundidade de 7,5 cm.

O composto utilizado foi o vermicomposto que apresentou, na análise química, pH igual a 8,5 e relação carbono:nitrogênio de 9:1.

Inóculo dos micoparasitas utilizados nesses ensaios foram fornecidos pelo Dr. Itamar Soares Melo (CNPMA-EMBRAPA, Jaguariúna, São Paulo). O isolado de *Trichoderma harzianum*, codificado como sendo TW5-2B2, é um mutante resistente a altas concentrações do fungicida benomil, tendo sido obtido por meio de irradiação ultra-violeta e passagens sucessivas em meio de cultura contendo benomil, segundo técnica descrita por MIAO e HIGGINS (1985). O isolado de *Bacillus subtilis* foi codificado como sendo OG.

O inóculo de *T. harzianum* foi obtido pelo cultivo do isolado TW5-2B2 em meio de arroz (constituído por 100 g de arroz, 2 g de sacarose, 40 ml de água destilada, acrescido de 250 mg/L de cloranfenicol, autoclavado a 1,5 atmosfera, a 120°C, durante 20 minutos), durante 14 dias, a 25°C.

O inóculo de *B. subtilis* foi obtido mediante cultivo do isolado OG, em meio líquido de KADO e HESKETT (1970), durante 36 horas e sob agitação constante.

O vermicomposto foi, inicialmente, colocado para dessecar até atingir umidade de 10 CL/kg, visando eliminar ou reduzir a microbiostase, conforme preconizado por HO e KO (1985).

Após a dessecação, procedeu-se à correção do pH do vermicomposto, utilizando-se, para tanto, ácido acético glacial com quantidade previamente determinada, para 5,5 nos tratamentos relativos a *T. harzianum*, 7,5 nos tratamentos relativos a *B. subtilis* e 6,5 nos tratamentos com incorporação simultânea. Em seguida, procedeu-se à incorporação de melaço de cana-de-



açúcar, na dose de 10 dag/kg, e à incorporação de bagaço de cana, na dose de 12,5 dag/kg, sendo que o bagaço foi incorporado apenas nas parcelas referentes à incorporação de *T. harzianum*. Após a incorporação de melaço e bagaço de cana, o substrato foi submetido à fumigação, utilizando-se brometo de metila,  $30 \text{ cm}^3/\text{cm}^3$ , durante 72 horas.

Em seguida, fez-se incorporação do vermicomposto ao solo, na proporção de 50 t/ha. A incorporação foi efetuada manualmente até profundidade de, mais ou menos, 7,5 cm, em parcelas de  $0,5 \text{ m}^2$ .

Após incorporação do vermicomposto, procedeu-se ao umedecimento do solo, até o ponto de saturação.

Em seguida, procedeu-se às incorporações de *T. harzianum* e *B. subtilis* nos tratamentos com incorporação prévia.

A incorporação foi efetuada utilizando-se  $10^5$  ufc/g de vermicomposto. O inóculo foi aplicado via irrigação de superfície, utilizando-se 2 L de suspensão de inóculo/ $\text{m}^2$ .

Em seguida, as parcelas foram cobertas com um filme de polietileno transparente, com espessura de 0,1 mm, de modo a promover a solarização, conforme preconizado por KATAN (1991), e permaneceram cobertas por um período de 60 dias, nos meses de fevereiro a abril de 1994. Foram instalados termômetros, à profundidade de 5,0 cm, e as temperaturas foram tomadas às 9 e 15 horas, respectivamente.

Transcorrido o período de solarização, retirou-se o filme de polietileno. Nos tratamentos que receberam incorporação prévia com *T. harzianum* e com *B. subtilis*, foram retiradas 10 amostras de, aproximadamente, 100 g por parcela e transferidas para laboratório e processadas de modo a quantificar as populações desses micoparasitas.

Essas amostras foram subdivididas em subamostras de 10 g e transferidas para liquidificador e acrescidas de 990 ml de solução salina (NaCl, 0,85%) e agitadas durante um minuto. Em seguida, fizeram-se diluições sucessivas até  $1/10^8$ , conforme PRAMER (1965) e ALLEN (1959).

As diluições dos tratamentos correspondentes a *T. harzianum* foram plaqueadas em meio de ágar de glicose e batatas (Difco), acrescido de cloranfenicol, estreptomicina, benomil, 250, 100 e 250 mg/l. As diluições



correspondentes a *B. subtilis* foram submetidas a banho-maria, a 80°C, durante 30 minutos, visando-se conferir seletividade para bactérias formadoras de endosporos, conforme técnica preconizada por SCHWAN (1984) e, em seguida, plaqueadas em meio de ágar de glicose e batatas, acrescido de ciclohedamida 250 mg/L. Depositou-se 0,1 ml de suspensão por placa contendo meio, utilizando-se três placas por diluição por repetição. As avaliações basearam-se no número de colônias e foram efetuadas 24 horas, após o plaqueamento, para *B. subtilis* e 120 horas para *T. harzianum*.

Transcorridas 24 horas de retirada do filme de polietileno, procedeu-se à incorporação de *T. harzianum* e de *B. subtilis*, nos tratamentos correspondentes à incorporação após a solarização, de forma idêntica àquela descrita para a incorporação antes da solarização, utilizando-se 2 L/m<sup>2</sup> de suspensão, equivalentes a 10<sup>5</sup> u.f.c./g de vermicomposto.

Aos 30, 60 e 90 dias, transcorridos da retirada do filme de polietileno, foram coletadas 10 amostras, de, aproximadamente, 100 g por repetição, e transportadas para laboratório. Essas amostras foram processadas segundo técnica descrita por REZENDE e ZAMBOLIM (1986), visando à extração dos escleródios de *S. cepivorum* e a viabilidade foi determinada segundo técnica descrita por CUNHA et al. (1993). As populações de *T. harzianum* e de *B. subtilis* foram quantificadas de modo semelhante ao descrito para os tratamentos em que esses micoparasitas foram incorporados previamente em relação à solarização.

Os dados obtidos, no que se refere à viabilidade dos escleródios de *S. cepivorum*, foram submetidos à análise estatística, utilizando-se o sistema SAEG (EUCLYDES, 1983), e os efeitos, dentro de cada época de avaliação, foram testados por contrastes ortogonais.

### 3. RESULTADOS

Os dados obtidos neste ensaio mostram (Quadro1) que houve alguma variação na viabilidade dos escleródios entre as diferentes épocas de avaliação. Não obstante, pode-se observar que ocorreu redução significativa devido ao tratamento solarização (Quadro2), independentemente de presença ou ausência do vermicomposto.

Ainda pelo Quadro 2, pode-se observar que a incorporação dos micoparasitas, quer seja *T. harzianum* ou *B. subtilis*, antes da solarização, não ofereceu nenhuma redução na viabilidade dos escleródios de *S. cepivorum*, sugerindo que as populações desses micoparasitas não sobreviveram à solarização.

Observa-se, também, que não houve efeito para *B. subtilis*, assim como para a interação entre *B. subtilis* e *T. harzianum*, embora houvesse efeito para *B. subtilis* para as épocas de incorporação, em que se obteve significância para as épocas de avaliação de 30 e 60 dias, mas não aos 90 dias (Quadro2), sugerindo que as populações de *B. subtilis* sofreram redução por algum agente que lhes conferiu altos níveis de bacteriostase.

Não obstante, para *T. harzianum*, obtiveram-se efeitos significativos entre épocas de incorporação e para a presença de *T. harzianum* no vermicomposto, sendo que, em média, pode-se observar que o efeito para *T. harzianum* mostrou-se evidente na segunda época de avaliação, ou seja, 60 dias após a incorporação com esse micoparasita. Esses tratamentos com a

QUADRO 1 - Percentagem de Escleródios Viáveis, em 100 g de Solo, de *Sclerotium cepivorum*, Determinados aos 30, 60 e 90 Dias após a Retirada da Cobertura Plástica, em Relação ao Uso Combinado de Vermicomposto, Solarização, *T. harzianum* e *B. subtilis*. Viçosa, Minas Gerais, 1995

Tratamentos	Percentagem de Escleródios Viáveis/100 g de Solo		
	30 dias	60 dias	90 dias
Testemunha (T)	84,71	87,22	84,37
Solarização	25,26	22,03	19,31
Composto + Solarização	25,48	28,65	17,04
Composto + <i>Bacillus</i> + Solarização	30,01	29,23	17,79
Composto + Solarização + <i>Bacillus</i>	21,80	19,27	23,31
Composto + <i>Trichoderma</i> + Solarização	23,97	24,07	21,84
Composto + Solarização + <i>Trichoderma</i>	24,91	16,95	1,13
Composto + <i>Bacillus</i> + <i>Trichoderma</i> + Solarização	30,86	24,09	20,51
Composto + Solarização + <i>Bacillus</i> + <i>Trichoderma</i>	21,23	14,93	1,92



QUADRO 2 - Análise de Variância de Percentagem de Escleródios Viáveis de *Sclerodium cepivorum*, aos 30, 60 e 90 Dias após a Retirada da Cobertura Plástica, em Relação ao Uso Combinado de Vermicomposto, Solarização, *T. harzianum* e *Bacillus subtilis*. Viçosa, Minas Gerais, 1995

Fonte de Variação	GL	Quadrados Médios		
		Percentagem de Escleródios Viáveis		
		30 dias	60 dias	90 dias
Testemunha (T) vs. Solarização (Solar)	1	7.068,60**	7.986,58**	8.466,25**
Solar vs. Vermicomposto + Solar	1	0,09	42,59	10,26
Efeito de <i>Bacillus</i> d/Vermicomposto + Solar	1	8,17	58,21	20,94
Efeito de <i>Trichoderma</i> d/Vermicomposto + Solar	1	1,64	331,66**	443,64**
Interação <i>Bacillus</i> vs. <i>Trichoderma</i> d/Vermicomposto + Solar	1	2,79	23,08	52,45
<i>Bacillus</i> antes vs. depois d/Vermicomposto + Solar	1	134,64**	198,70**	61,05
<i>Trichoderma</i> antes vs. depois d/Vermicomposto + Solar	1	1,73	101,53*	857,39**
<i>Bacillus</i> e <i>Trichoderma</i> antes vs. depois d/Vermicomposto + Solar	1	185,47**	167,90**	691,36**
Erro	27	12,91	14,19	30,67
CV (%)		11,21	12,62	24,05

d/Vermicomposto + Solar = dentro de substrato tratado com vermicomposto mais solarização.

\* e \*\*\* Significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste de F.

participação de *T. harzianum* comportaram-se como os melhores, sendo que os dados apresentados no Quadro 3 confirmam esses resultados.

No que se refere à utilização de vermicomposto, os resultados apresentados no Quadro 2 mostram que, quando se pretende aplicar o tratamento solarização, essa prática torna-se dispensável, pelo menos no que diz respeito à eficiência de controle.

Comparando-se os dados apresentados nos Quadros 1 e 3 com as informações do Quadro 2, pode-se inferir que a alta eficiência de controle obtida pela incorporação simultânea de *T. harzianum* e *B. subtilis*, após a solarização, pode ser creditada ao efeito exclusivo de *T. harzianum*, visto que não houve efeito para *B. subtilis* e nem para a interação *T. harzianum* versus *B. subtilis*.

Com relação a *T. harzianum*, as informações apresentadas no Quadro 2 mostram, no caso específico do contraste *Trichoderma* antes versus depois da solarização, que a eficiência de controle em reduzir a viabilidade dos escleródios de *S. cepivorum* apresentou significância de 5% de probabilidade aos 60 dias, e acentuou-se aos 90%, quando obteve-se significância em nível de 1% de probabilidade, sugerindo que foi necessário ou produção de compostos antagônicos a *S. cepivorum* ou crescimento das populações de *T. harzianum*.

Em adição, os resultados deste estudo mostram que a incorporação com *T. harzianum* após a solarização, ao contrário do que ocorreu para *B. subtilis*, pode constituir-se em prática de controle de *S. cepivorum*.

Com relação ao efeito do vermicomposto nas temperaturas obtidas nos tratamentos com solarização, pode-se observar, pela Figura 1, que houve elevação de temperatura, independentemente do horário de avaliação, 9 ou 15 horas. Às 9 horas, a elevação devida à presença de vermicomposto foi 4°C; sendo que, em relação à testemunha não-solarizada, os ganhos médios de temperatura foram de 13°C, às 9 horas, e de 18°C, às 15 horas.

Esses dados sugerem que a adição de vermicomposto pode constituir-se em estratégia complementar à solarização quando se necessitar promover a solarização em regiões de clima frio ou em períodos mais frios do ano. Não obstante, para as condições e época em que foi realizado este trabalho, a incorporação do vermicomposto não contribuiu para a eficiência da solarização,

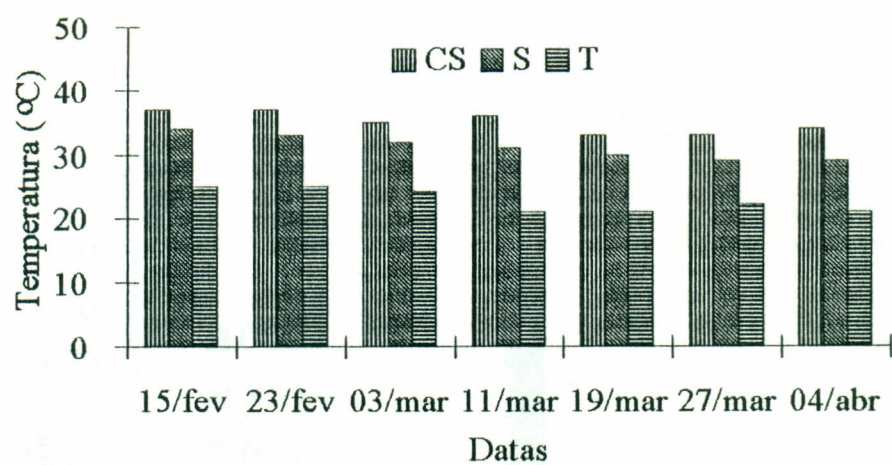


QUADRO 3 - Percentagem de Controle de *S. cepivorum*, Determinada aos 30, 60 e 90 Dias após a Retirada da Cobertura Plástica, com Relação ao Uso Combinado de Vermicomposto, Solarização, *T. harzianum* e *Bacillus subtilis*. Viçosa, Minas Gerais, 1994

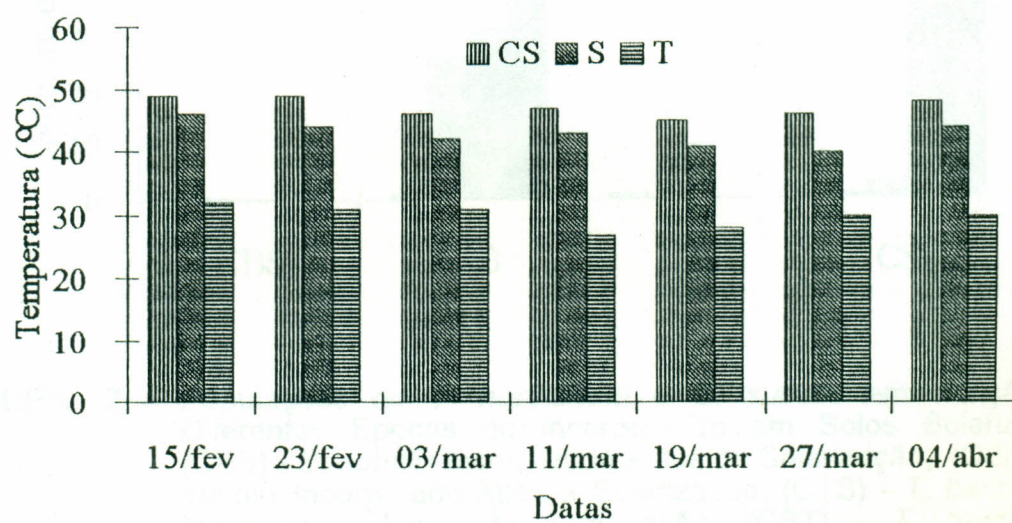
Tratamentos	Percentagem de Controle*		
	30 dias	60 dias	90 dias
Solarização	70,31	72,51	77,30
Composto + Solarização	70,20	67,21	79,22
Composto + <i>Bacillus</i> + Solarização	71,93	66,59	79,05
Composto + Solarização + <i>Bacillus</i>	74,39	77,77	71,57
Composto + <i>Trichoderma</i> + Solarização	71,85	72,51	74,28
Composto + Solarização + <i>Trichoderma</i>	70,86	80,29	98,25
Composto + <i>Bacillus</i> + <i>Trichoderma</i> + Solarização	63,38	72,25	70,52
Composto + Solarização + <i>Bacillus</i> + <i>Trichoderma</i>	75,08	83,30	96,29

\* % de controle = número de escleródios viáveis testemunha - número de escleródios viáveis no tratamento, dividido por número de escleródios viáveis na testemunha vezes 100.





(A)



(B)

FIGURA 1 - Temperatura do Solo a 5 cm de Profundidade; Ocorrida as 9:00 Horas (A) e as 15:00 Horas (B) - (CS) Vermicomposto + Solarização; (S) Solarização; (T) Testemunha. Viçosa, Minas Gerais, 1994.

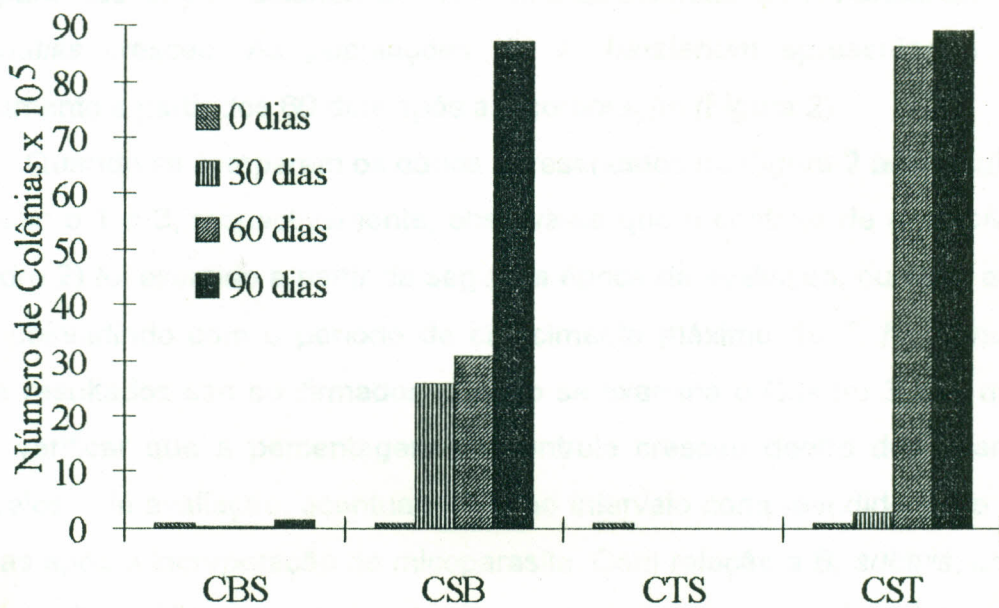


FIGURA 2 - Populações de *T. harzianum* e *B. subtilis* em Função de Diferentes Épocas de Incorporação em Solos Solarizados. (CBS) - *B. subtilis* Incorporado Antes da Solarização; (CSB) - *B. subtilis* Incorporado Após a Solarização; (CTS) - *T. harzianum* Incorporado Antes da Solarização; (CST) - *T. harzianum* Incorporado Após a Solarização. Viçosa, Minas Gerais, 1994.



como pode ser verificado quando se compararam os dados da Figura 1 com as informações apresentadas no Quadro 3.

No que tange às populações de *T. harzianum* e de *B. subtilis*, submetidas à incorporação prévia ou posterior à solarização, os dados apresentados na Figura 2 mostram que *T. harzianum* não sobreviveu à solarização e que as populações de *B. subtilis*, embora sobrevivessem, sofreram redução drástica, ou seja, a população foi reduzida em 75%, aos 30 dias após retirada do filme de polietileno. Contudo, após 90 dias, a população havia sido restabelecida.

Com relação aos tratamentos que receberam incorporação dos micoparasitas após a solarização, o número de colônias de *T. harzianum* ou de *B. subtilis* cresceu. As populações de *T. harzianum* apresentaram maior crescimento a partir dos 60 dias após a incorporação (Figura 2).

Quando se comparam os dados apresentados na Figura 2 aos resultados do Quadro 1 e 3, respectivamente, observa-se que o controle de *S. cepivorum* (Quadro 2) foi exercido a partir da segunda época de avaliação, ou seja, aos 60 dias, coincidindo com o período de crescimento máximo de *T. harzianum*. E esses resultados são confirmados quando se examina o Quadro 3, em que se pode verificar que a percentagem de controle cresceu dentro dos diferentes intervalos de avaliação, acentuando-se no intervalo compreendido entre 60 e 90 dias após a incorporação do micoparasita. Com relação a *B. subtilis*, embora tenha sobrevivido à solarização e experimentado crescimento quando introduzido após a solarização (Figura 2), ao se compararem esses resultados àqueles apresentados no Quadro 3, verifica-se que o incremento na população de *B. subtilis* não implicou em aumento no nível de controle de *S. cepivorum*, quando associado à solarização, sugerindo ineficiência do isolado de *B. subtilis*, utilizado neste trabalho.



como pode ser verificado quando se compararam os dados da Figura 1 com as informações apresentadas no Quadro 3.

No que tange às populações de *T. harzianum* e de *B. subtilis*, submetidas à incorporação prévia ou posterior à solarização, os dados apresentados na Figura 2 mostram que *T. harzianum* não sobreviveu à solarização e que as populações de *B. subtilis*, embora sobrevivessem, sofreram redução drástica, ou seja, a população foi reduzida em 75%, aos 30 dias após retirada do filme de polietileno. Contudo, após 90 dias, a população havia sido restabelecida.

Com relação aos tratamentos que receberam incorporação dos micoparasitas após a solarização, o número de colônias de *T. harzianum* ou de *B. subtilis* cresceu. As populações de *T. harzianum* apresentaram maior crescimento a partir dos 60 dias após a incorporação (Figura 2).

Quando se comparam os dados apresentados na Figura 2 aos resultados do Quadro 1 e 3, respectivamente, observa-se que o controle de *S. cepivorum* (Quadro 2) foi exercido a partir da segunda época de avaliação, ou seja, aos 60 dias, coincidindo com o período de crescimento máximo de *T. harzianum*. E esses resultados são confirmados quando se examina o Quadro 3, em que se pode verificar que a percentagem de controle cresceu dentro dos diferentes intervalos de avaliação, acentuando-se no intervalo compreendido entre 60 e 90 dias após a incorporação do micoparasita. Com relação a *B. subtilis*, embora tenha sobrevivido à solarização e experimentado crescimento quando introduzido após a solarização (Figura 2), ao se compararem esses resultados àqueles apresentados no Quadro 3, verifica-se que o incremento na população de *B. subtilis* não implicou em aumento no nível de controle de *S. cepivorum*, quando associado à solarização, sugerindo ineficiência do isolado de *B. subtilis*, utilizado neste trabalho.

#### 4. DISCUSSÃO

Os resultados deste trabalho confirmaram os de MATROD et al. (1991) e CUNHA et al. (1993), com relação à eficiência de controle de *S. cepivorum* pela solarização do solo.

Os dados deste estudo, com relação à sobrevivência de micoparasitas durante o período de solarização, concordam com os resultados obtidos por RISTAINO et al. (1991), que asseguraram que micoparasitas fúngicos não sobrevivem à solarização.

Por outro lado, o crescimento nas populações de *T. harzianum* e de *B. subtilis*, quando incorporados após a solarização, confirma a suposição de STAPLETON (1991) a respeito da existência de um "vácuo biológico" que se estabelece em solos recém-solarizados. A existência desse vácuo pode ser utilizada por meio da introdução de micoparasitas competentes e, desse modo, prevenir as recolonizações por parte da população do patógeno que sobreviveu à solarização; e, desse modo, não só reduzir a população do patógeno, mas também elevar a eficiência de controle, que, neste trabalho, foi elevado, em termos médios, em 22%, atingindo 98% de controle quando *T. harzianum* foi incorporado ao solo após a solarização. Esses resultados confirmam as suposições de KATAN et al. (1976) e KATAN (1991) no sentido de que outros fatores, além da elevação da temperatura, contribuem para eficiência de controle em solos solarizados. Desse modo, mecanismos de controle biológico, exercido por micoparasitas que colonizam o solo após a solarização e, ou,



introduzidos, como nesse trabalho, elevam a eficiência de controle, ao mesmo tempo em que reduzem as populações do patógeno para o ciclo subsequente da cultura, além de impedirem a recolonização do solo por parte do patógeno ou, ainda, o restabelecimento da população original do patógeno, conforme sugestões de GRENBERGER et al. (1987).

Dessa forma, confirma-se a sugestão de ELAD et al. (1980) no sentido de se utilizar a solarização como técnica complementar para introdução e estabelecimento de micoparasitas competentes no solo.

Com relação ao efeito do vermicomposto na eficiência de controle de *S. cepivorum*, embora houvesse ganho de temperatura nos tratamentos que receberam vermicomposto, não houve efeito para vermicomposto. Isso se deve ao fato de que a solarização, per si, propiciou elevação da temperatura aos níveis letais ao patógeno. Segundo CRISAN (1973), o desempenho ótimo das atividades fisiológicas de qualquer patógeno ocorre dentro de determinada e bem definida faixa de variação térmica. Para *S. cepivorum*, temperaturas entre 15 e 25°C favorecem a germinação dos escleródios e o crescimento micelial. Por outro lado, temperaturas superiores a 29°C, praticamente, inibem o crescimento (ADAMS e PAPAVIDAS, 1971).

Organismos termófilos expressam crescimento máximo em temperaturas próximos a 40°C ou maiores, e, que, segundo classificação de CRISAN (1973), *S. cepivorum* não é termófilo. Nesse caso, a elevação da temperatura média de 42°C para 47°C, obtida neste trabalho, em função da incorporação de vermicomposto, em adição à solarização, não contribuiu para a eficiência de controle, na medida em que só a solarização já havia propiciado temperaturas letais a *S. cepivorum*. Não obstante, para regiões de clima frio, durante as épocas mais frias do ano; espera-se que a incorporação de vermicomposto possa constituir-se em estratégia complementar à solarização, tendo em vista obterem-se temperaturas letais aos fitopatógenos. E, desse modo, pode-se, em se aumentando a absorvência das radiações solares, elevar e manter elevada a temperatura do solo, aos níveis letais a fitopatógenos, contribuindo para maior eficiência da solarização.

No controle de doenças de plantas, quanto maior o número de estratégias envolvidas, melhores e mais confiáveis poderão ser os resultados. Nesse



contexto, podem-se colocar a solarização e a utilização de vermicomposto, que podem ser facilmente associadas a outros métodos de controle, como, por exemplo, o controle biológico, como demonstrado neste trabalho, ou, ainda, doses reduzidas de agrotóxicos, resistência horizontal e outras práticas culturais, como sugerido por STAPLETON e DEVAY (1986), DAVIS e SORENSEN (1986) e TJAMOS e PAPLOMATAS (1988).

Em suma, os resultados obtidos neste trabalho apontam para a possibilidade de se obter maior eficiência no controle de *S. cepivorum*, em nível de campo, por meio da associação de solarização, vermicomposto e subsequente introduções de micoparasitas de ação antagônica comprovada. Não obstante, são necessários trabalhos complementares visando-se, principalmente, avaliar o retorno econômico, visto que a introdução de micoparasitas, como efetuada neste trabalho, implica em custos adicionais.

## BIBLIOGRAFIA

- ADAMS, P.B. Effects of soil temperature, moisture and depth on survival and activity of *Sclerotinia minor*, *Sclerotium cepivorum* and *Sporidesmium*. *Plant Disease*, 71: 170-174. 1987.
- ADAMS, P.B. & PAPAVIDAS, G.C. Effect of inoculum density of *Sclerotium cepivorum* and some soil environmental factors on disease severity. *Phytopathology*, 61: 1253-6. 1971.
- ALLEN, O.N. *Experiments in soil bacteriology*. 3 ed. Minneapolis, Burges Publishing Co., 1959. 117 p.
- CHET, I.; ELAD, Y.; KALFON, A.; KADAR, Y.; KATAN, J. Integrated control of soilborne and bulbborne pathogens in *Iris*. *Phytoparasitica*, 4: 229-236. 1982.
- COLEY-SMITH, J.R. White rot disease of *Allium*: problems of soilborne disease in microcosm. *Plant Pathology*, 39: 214-222. 1990.
- CRISAN, E.N. Current concepts of thermophilism and the thermophilic fungi. *Mycology*, 65: 1171-1198. 1973.
- CROWE, F.J.; HALL, D.H.; GREATHEAD, A.S.; BATGHOTT, K.H. Inoculum density of *Sclerotium cepivorum* and incidence of white rot of onion and garlic. *Phytopathology*, 70: 64-69. 1980.
- CRUZ FILHO, J. JACCOUD FILHO, D.J.; SILVA, P.M. Efeito de fungicidas no controle da podridão branca (*Sclerotium cepivorum* Berk.) do alho (*Allium sativum* L.). *Seiva*, 45: 22-24. 1985.
- CUNHA, M.G.; ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R.; CHAVES, G.M.; ALVES, H. Avaliação da solarização com filmes de polietileno transparente, preto ou branco no controle da podridão branca do alho (*Sclerotium cepivorum*). *Fitopatol. bras.* 18: 199-205. 1993.
- CUNHA, M.G. Controle da podridão branca do alho (*Sclerotium cepivorum* Berk.) por solarização. Viçosa, MG, UFV. Impr. Univ. 1991. 67 p. (Tese MS).



- DAVIS, J.R. & SORENSEN, L.H. Influence of soil solarization at moderate temperature on potato genotypes with differing resistance to *Verticillium dahliae*. *Phytopathology*, 76: 1021-1026. 1986.
- DEVAY, J.E. Use of soil solarization for control of fungal and bacterial plant pathogens including biocontrol. In: DEVAY, J.E., STAPLETON, J.J.; ELMORE, C.L. Soil solarization. Proceedings of the First International Conference on Soil Solarization. Amman, Jordan. 1991. 79-93 pp.
- ELAD, Y.; KATAN, J.L.; CHET, I. Physical, biological and chemical control integrated of soil-borne diseases in potatoes. *Phytopathology*, 270: 418-422. 1980.
- EUCLYDES, R.F. **Manual de utilização do Programa SAEG, Sistema para Análises Estatísticas e Genética.** Viçosa, UFV, Imprensa Universitária, 1983. 59 p.
- GREENBEGER, A.; KATAN, J.; YOGEN, A. Induced suppressiveness in solarized soils. *Phytopathology*, 77: 1663-1667. 1987.
- HO, V.C. & KO, W.H. Soil microbiostasis - effects of environmental and edaphic factors. *Soil Biol. Biochem*, 17: 167-170. 1985.
- KADO, C.I.; HESKETT, M.L. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Cornibacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. *Phytopathology*, 60: 967-976. 1970.
- KATAN, J. Soil solarization, present status and future prospects. In: BETTIOL, W. (coord.). **Anais da IV Reunião Brasileira sobre controle biológico de doenças de plantas.** Campinas, SP, Brasil. 1991. pp. 203-214.
- KATAN, J.; GREENBERGER, A.; ALON, H.; GRINSTEIN, A. Solar heating by polyethylene mulching for the control of diseases caused by soilborne pathogens. *Phytopathology*, 66: 683-688. 1976.
- KATAN, J. Solar heating (solarization) of soil for control of soilborne pests. *Ann. Rev. Phytopathology*, 19: 211-236. 1981.
- KATAN, J. Solar pasteurization of soils for disease control: status and prospects. *Plant Disease*, 64: 450-454. 1980.
- MATROD, L.; FADDOUL, J.; ELMEAMAR, A.; AL-CHAABI, S. The use of solar energy for controlling white rot disease of garlic. In: DEVAY, J.E.; STAPLETON, J.J.; ELMORE, C.L. Soil solarization. Amman, Jordan, 1991. p. 118-128.
- MIAO, V. & HIGGINS, V.J. Detection of induced susceptibility in tomato using mutants of *Cladosporium fulvum* tolerant to cichohexamide or benomil. *Can. J. Bot.* 64: 1299-1305. 1985.
- PAPAVIZAS, G.A. & LUMBDEN, R.D. Biological control of soilborne fungal propagules. *Ann. Rev. Phytopathology*, 18: 389-412. 1980.



- PAPAVIZAS, G.C. Isolation and enumeration of propagules of *Sclerotium cepivorum* from soil. *Phytopathology*, 62: 545-549. 1972.
- PHILLIPS, A.J.L. The effects of soil solarization on sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Pathology*, 39: 38-43. 1990.
- PORTER, I.J.; MERRIAN, P.R. Effects of solarization of soil on nematode and fungal pathogens at two sites in Victoria. *Soil. Biol. Biochem.* 15: 39-44. 1983.
- PRAMER, D. Filamentores fungi. In: *Experimental Soil Microbiology*. Burgess Publishing. Co. Minnesota. 1965. 107 p.
- RESENDE, M.L.Y. & ZAMBOLIM, L. Eficiência de métodos utilizados para quantificação da população de escleródios de *Sclerotium cepivorum* Berk no solo. *Fitopatol. bras.* 11: 493-500. 1986.
- REZENDE, M.L.V. & ZAMBOLIM, L. Flutuação populacional de escleródios de *Sclerotium cepivorum* no solo em função do tratamento com diferentes fungicidas no plantio de alho. *Fitopatol. bras.* 12: 65-70. 1987.
- RISTAINO, J.B.; PERRY, K.B. & LUMSDEN, R.D. Effect of solarization and *Gliocladium virens* on sclerotia of *Sclerotium rolfsii*, soil microbiota, and the incidence of southern blight of tomato. *Phytopathology*, 81: 1117-24. 1991.
- SCHWAN, R.F. Variações na aeração do processo tradicional de fermentação de cacau na Bahia e identificação das espécies de *Bacillus* envolvidas nesses métodos. Viçosa, MG, UFV, Impr. Univ., 1984. 83 p. (Tese M.S.).
- SONNENBERGER, P.E. *Olericultura especial*. 5ª ed. Goiânia, s. ed., 1985. V2. [s.n.p.].
- STAPLETON, J.J. Thermal inactivation of crop pests and pathogens and other soil changes caused by solarization. In: DEVAY, J.E.; STAPLETON, J.J.; ELMORE, C.L. *Soil solarization*. Amman, Jordan, 1991. pp. 37-47.
- STAPLETON, J.J. & DEVAY, J.E. Soil solarization: a non-chemical approach for management of plant pathogens and pests. *Crop Protection*, 5: 190-198. 1986.
- STWEART, A. & FULLETON, R.A. Chemical control of onion white rot in New Zealand. In: *International Workshop on Allium white rot*, 4. Braunschweig, 1990. Proceedings... Braunschweig, 1990. p. 121-123.
- TJAMOS, E.C.; PAPLOMATAS, G.J. Long-term effects of soil solarization in controlling *Verticillium* wilt of globe artichokes in Greece. *Plant Pathology*, 37: 507-515. 1988.
- UTKHEDE, R.S.; RAHE, J.E. Chemical and biological control of onion white rot in muck and mineral soils. *Plant Disease*, 67: 153-155, 1983.
- VANNACCI, G.L.; TRIOLO, E.; METTERAZZI, A. Survival of *Sclerotinia minor* Jagger sclerotia in solarized soil. *Plant and Soil*, 109: 49-55, 1988.

## CONTROLE INTEGRADO DE *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary

### RESUMO

Neste trabalho, procurou-se avaliar os efeitos de vermicomposto, solarização, herbicida (EPTC), fungicida (procimidone), *T. harzianum* e *B. subtilis* no controle de *S. sclerotiorum*. Os tratamentos foram obtidos pela combinação da incorporação dos micoparasitas após a aplicação de herbicida ou fungicida ao solo em presença e,ou, ausência de vermicomposto, solarizados e,ou, não. O inóculo foi constituído por escleródios incorporados ao solo nas profundidades de 2 a 4 cm. Nos tratamentos com solarização, o solo foi coberto com polietileno transparente, durante 45 dias. A incorporação com os micoparasitas ( $10^5$  u.f.c.  $g^{-1}$  de vermicomposto) ocorreu 20 dias após a aplicação de herbicida ou fungicida. As avaliações basearam-se no número de escleródios viáveis. Os dados foram submetidos à análise estatística e os efeitos foram testados por contrastes ortogonais. Os resultados obtidos mostraram que a solarização, isoladamente, constitui-se em excelente estratégia de controle. E que, mesmo na ausência de solarização, a incorporação de *T. harzianum* ao vermicomposto, após a aplicação do herbicida EPTC, propiciou ganhos significativos em nível de controle,



independentemente da profundidade de incorporação dos escleródios de *S. sclerotiorum*. Conclui-se que a utilização de *T. harzianum*, em presença de vermicomposto associado ao herbicida EPTC, apresenta-se como estratégia promissora para o controle de *S. sclerotiorum*.

## INTEGRATED CONTROL OF *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary

### ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate the effect of vermicompost soil solarization, herbicide (EPTC), fungicide (procimidone), *T. harzianum* and *B. subtilis* on the control of *S. sclerotiorum*. The treatments were elaborated by the combination of the incorporation of the micoparasites after the use of the herbicide or the fungicide in the presence and/or absence of the vermicompost and solarization. Sclerotia of *S. sclerotiorum* was incorporated in soil at 2 to 4 cm depth. The solarized treatments were covered with transparent polyethylene (75  $\mu\text{m}$ ) for 45 days. The incorporation of micoparasites ( $10^5$  u.f.c./g of vermicompost) was made 20 days after the use of herbicide or fungicide. The evaluations were based on the number of viable sclerotia on a medium. The results showed that the solarization alone was an excellent control strategy. The use of the herbicide EPTC increased significantly the control level, independent of the depth of incorporation of sclerotia of *S. sclerotiorum*. The conclusion was that *T. harzianum* in the presence of the vermicompost associated with EPTC significantly increased the control level, independent of the depth of incorporation of sclerotia of *S. sclerotiorum*. The use of *T. harzianum* in the presence of vermicompost plus EPTC is a promising strategy for the control of *S. sclerotiorum*.



## 1. INTRODUÇÃO

*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary constitui-se em patógeno para, pelo menos, 383 espécies de 64 diferentes famílias botânicas (PURDY, 1979). A sobrevivência desse fungo é em função de seus escleródios e produção de escleródios secundários, o que, além de concorrer para o aumento da fonte de inóculo, assegura a presença do patógeno por períodos de até três anos no solo (ADAMS e TATE, 1975; COOK et al., 1975).

No Brasil, o fungo foi descrito pela primeira vez em 1920 e induzia perdas consideráveis apenas em regiões úmidas e durante períodos com temperaturas baixas. Porém, com intensificação da utilização de irrigação, *S. sclerotiorum* tem induzido perdas consideráveis em culturas irrigadas. Na cultura de soja, têm sido constatadas perdas de 40 a 70% (NASSER et al., 1994).

Vários estudos foram feitos visando à erradicação do patógeno, entre os quais inundação do solo pelo período de 30 a 35 dias, durante o verão, e desinfecção do solo com brometo de metila (CHAVES, 1964). Entretanto, essas medidas tornam-se economicamente inviáveis. Por outro lado, o controle químico desse patógeno tem apresentado resultados contraditórios (GASPAROTTO, 1980), ou pela baixa eficiência dos fungicidas empregados, ou, possivelmente, em virtude de efeito da concentração de inóculo, condições climáticas, tipo de cultura, intervalos e época de início das pulverizações; ou, ainda, devido à dificuldade de se atingirem os propágulos do fungo antes que esses germinem.

Face à baixa viabilidade do controle químico e, também, por tratar-se de patógeno cosmopolita e polífago (PURDY, 1979), as pesquisas têm sido direcionadas no sentido de se buscarem formas alternativas de controle. E, nesse sentido, FERNANDES et al. (1994) avaliaram o efeito de herbicidas na inibição da germinação de escleródios de *S. sclerotiorum* e concluíram que o herbicida EPTC (Etil-di-n-propil-tiolcarbamato) apresenta grande potencial para uso no campo, antes do estabelecimento das culturas.

Segundo RADKE e GRAU (1986), o efeito de herbicidas em inibir a germinação de escleródios ou em estimular a germinação, mesmo na ausência do hospedeiro, pode-se constituir em estratégia de controle integrado.

A utilização de compostos orgânicos, para a supressão de patógenos habitantes do solo, ocorre há muito tempo (HOITINK e FAHY 1986); contudo, a capacidade supressiva desses compostos é em função, basicamente, de características químicas e subsequente atividade biológica. Vários autores, entre os quais BAKER e COOK (1974), COOK e BAKER (1983), LUMSDEN et al. (1990) e HARMAN et al. (1986) referiram-se ao uso de compostos para induzir supressão a *S. sclerotiorum*. ASIRIFT et al. (1994), utilizando composto de fazenda, preparado a partir de esterco bovino ou de aves, induziram supressão a *S. sclerotiorum* e obtiveram ganhos de até 270%, em plantas comercializáveis, na cultura de alface (*Lactuca sativa* L.).

Outra estratégia de controle que pode ser empregada no controle de *S. sclerotiorum* é a solarização, que consiste em cobertura do solo, previamente umedecido, com filme transparente de polietileno, durante os meses mais quentes do ano, e por período determinado (KATAN, 1991; DEVAY, 1990). Em condições de campo, a solarização tem eliminado ou reduzido, significativamente, os propágulos de vários fitopatógenos, inclusive *S. sclerotiorum* (KATAN et al., 1976; PULLMAN et al., 1981; PHILLIPS, 1990; MORGAN et al., 1991).

PHILLIPS (1990) constatou aumento significativo no número de escleródios de *S. sclerotiorum* colonizados por *Aspergillus terreus*, enquanto que *Trichoderma harzianum*, *T. hamatum* e *Gliocladium virens* apresentaram alto grau de parasitismo, embora não houvesse aumento no número de escleródios parasitados, quando esses escleródios haviam sido submetidos à



solarização. VANNACCI et al. (1988), também, trabalhando com *S. sclerotiorum*, observaram grande número de escleródios parasitados por *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp e *Fusarium* spp. Esses resultados sugerem que, conforme colocado por STAPLETON (1991), um "vácuo biológico", estabelecido após solarização do solo, pode ser utilizado via introdução de micoparasitas competentes.

Diante desses fatos, o presente trabalho teve por principal objetivo o controle integrado de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary. Para se atingir esse objetivo, foi montado este estudo visando-se avaliar: o efeito da interação:vermicomposto, solarização, EPTC (etil-di-n-propil-tiolcarbamato), procimidone (N-(3,5 diclorofenil)-1,2-dimetilciclopropano-1,2 dicarboximida), *Trichoderma harzianum* e de *Bacillus subtilis* na viabilidade de escleródios de *S. sclerotiorum* incorporados ao solo.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi conduzido em condições de campo, em local denominado viveiro de café, do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa. Avaliou-se o efeito da interação dos seguintes fatores: vermicomposto, solarização, EPTC (etil-di-n-propil-tiolcarbamato), procimidone (N-3,5 diclorofenil)-1,2 dimetilciclopropano-1,2 dicarboximida), *Trichoderma harzianum* e *Bacillus subtilis*.

Os tratamentos foram obtidos pela combinação dos fatores em estudo, arrançados em delineamento de blocos casualizados, com subsubparcelas constituindo um fatorial 2x2x3x3, assim distribuídos: com ou sem vermicomposto, distribuído nos blocos, com ou sem solarização, distribuído na parcela, com EPTC ou com procimidone ou ausência de procimidone ou EPTC distribuído nas subparcelas e com incorporação de *T. harzianum* ou *B. subtilis* e sem incorporação de *T. harzianum* ou de *B. subtilis*, distribuídos nas subsubparcelas. Os tratamentos foram repetidos quatro vezes e a unidade experimental foi representada por 18 escleródios de *S. sclerotiorum*, dispostos em sacolas de "nylon" e incorporados à profundidade de 2 ou de 4 cm.

Os escleródios de *S. sclerotiorum* foram obtidos por meio de cultivo em meio de fubá, constituído por 100 g de fubarina, acrescido de 80 ml de água destilada e 250 mg de cloranfenicol, durante 20 dias, à temperatura de 22°C.

Foram utilizados escleródios com peso médio unitário de 136 mg.



O composto utilizado foi o vermicomposto, que, na análise química, apresentou pH 8,5 e relação carbono:nitrogênio 9:1.

Nas parcelas com vermicomposto, foram aplicados, até a profundidade de 7,5 cm, o equivalente a 50 toneladas de vermicomposto/ha. O vermicomposto foi enriquecido com melaço de cana, na dose de 10% (p/p), e foi acrescido de bagaço de cana a 12,5% (p/p) e recebeu correção de pH para 5,5 nos tratamentos que receberam incorporação com *T. harzianum*.

Antes da incorporação do vermicomposto ao solo, procedeu-se a uma fumigação, utilizando-se brometo de metila, 30 cm<sup>3</sup>/m<sup>3</sup>.

Nas parcelas com solarização do solo, houve cobertura com filme de polietileno transparente, com 0,1 mm de espessura, por um período de 45 dias, durante os meses de março a abril de 1994.

A aplicação dos tratamentos obedeceu ao seguinte esquema: incorporação do vermicomposto, incorporação dos escleródios de *S. sclerotiorum*, aplicação do fungicida Procimidone ou do herbicida EPTC e cobertura, com filme de polietileno, das subparcelas com solarização. Nas subparcelas com incorporação com *T. harzianum* ou com *B. subtilis*, a incorporação ocorreu após a retirada da cobertura plástica; portanto, 45 dias após a incorporação dos escleródios de *S. sclerotiorum*.

Procimidone foi aplicado, por meio de rega superficial do solo, na dose de 2,5 kg/ha e o herbicida EPTC, na dose de 2 L/ha, sendo que o herbicida foi incorporado, via escarificação do solo, até a profundidade de 5 cm.

Os micoparasitas utilizados nesses ensaios foram fornecidos pelo Dr. Itamar Soares Melo (CNPMA-EMBRAPA, Jaguariúna, São Paulo). O isolado de *Trichoderma harzianum*, codificado como sendo TW5-2B2, é um mutante resistente a altas concentrações do fungicida benomil, tendo sido obtido por meio de irradiação ultra-violeta e passagens sucessivas em meio de cultura contendo benomil, segundo técnica descrita por MIAO e HIGGINS (1985). O isolado de *Bacillus subtilis* foi codificado como sendo OG.

O inóculo de *T. harzianum* foi obtido pelo cultivo do isolado TW5-2B2 em meio de arroz (constituído por 100 g de arroz, 2 g de sacarose, 40 ml de água destilada, acrescido de 250 mg/L de cloranfenicol, autoclave a 1,5 atmosfera, a 120°C, durante 20 minutos), durante 14 dias, a 25°C.

O inóculo de *B. subtilis* foi obtido por meio do cultivo do isolado OG, em meio líquido de KADO e HESKETT (1970), durante 36 horas e sob agitação constante.

Os micoparasitas foram aplicados, por meio de irrigação de superfície das subsubparcelas, com dimensão 0,5 m<sup>2</sup>, utilizando-se 2 L de suspensão de inóculo, na concentração de 10<sup>8</sup> u.f.c., de modo a fornecer concentração de 10<sup>5</sup> u.f.c/g de vermicomposto.

A avaliação foi efetuada 30 dias após a incorporação com *T. harzianum* ou com *B. subtilis*. Para tanto, as sacolas de "nylon" contendo os escleródios foram retirados e submetidos a uma lavagem superficial com água de torneira e transportadas para laboratório, em que os escleródios foram submetidos à desinfecção superficial, utilizando-se hipoclorito de sódio a 0,25%. Em seguida, os escleródios foram transferidos para placas de petri contendo ágar-ágar a 2%, acrescido de cloranfenicol, estreptomicina e rosa bengala 250, 100 e 20 mg/L, respectivamente.

As avaliações do número de escleródios viáveis foram realizadas aos 10, 15, 20 e 25 dias após o plaqueamento. Foram considerados viáveis os escleródios que germinaram pela produção de micélio e subsequente produção de escleródios.

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística, utilizando-se o sistema SAEG (EUCLYDES, 1983). Dentro das subsubparcelas, os efeitos foram testados por meio do emprego de contrastes ortogonais.



### 3. RESULTADOS

De forma geral, pode-se observar, neste ensaio, que, em média, nos tratamentos que receberam solarização, não importando a profundidade de incorporação dos escleródios, dois ou quatro centímetros, ocorreu redução significativa no número médio de escleródios viáveis.

Com relação à subparcela dentro de sem vermicomposto e sem solarização (Quadro 1), os tratamentos com EPTC e *T. harzianum* foram os que apresentaram menor número de escleródios viáveis, seguido pelo tratamento fungicida mais *B. subtilis*.

O tratamento sem vermicomposto (testemunha) apresentou maior número de escleródios viáveis. Pode-se, também, observar que os tratamentos que não foram incorporados com *T. harzianum* ou com *B. subtilis*, em média (Quadro 2), apresentaram diferenças dos tratamentos que receberam incorporação com esses micoparasitas, sendo que os tratamentos com incorporação apresentaram menor número médio de escleródios viáveis. Entre os tratamentos incorporados com *B. subtilis* e com *T. harzianum*, em média (Quadro1), não se observam diferenças estatísticas. A comparação entre o tratamento sem vermicomposto e os que receberam EPTC e procimidone (Quadro 2) permite observar que houve diferenças, sendo que o tratamento sem vermicomposto apresentou maior número de escleródios viáveis. E, entre os tratamentos que receberam procimidone ou EPTC, aquele que recebeu EPTC apresentou menor número de escleródios viáveis. Dentro dos

QUADRO 1 - Número Médio de Escleródios Viáveis de *Sclerotinia sclerotiorum*, Determinado aos 75 Dias após a Infestação do Solo, e Submetidos ao Uso Isolado ou Combinado de Herbicida, Fungicida, Vermicomposto, *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* e solarização, Viçosa, Minas Gerais, 1994

Tratamentos	Número Médio de Escleródios Viáveis			
	Profundidade de Incorporação (cm)			
	2		4	
	SS	CS	SS	CS
Sem Vermicomposto (T)	17,25	0,00	18,00	0,75
Herbicida (H)	10,25	0,00	14,00	0,00
Fungicida (F)	12,50	0,25	15,75	0,50
<i>Trichoderma</i> (Tr)	13,25	0,00	15,00	0,50
H + Tr	5,50	0,00	9,50	0,50
F + Tr	13,75	0,50	15,25	0,75
<i>Bacillus</i> (B)	11,25	0,00	12,50	0,25
H + B	10,75	0,00	11,00	0,50
F + B	9,25	0,00	13,75	0,25
Com Vermicomposto (Cp)	16,00	0,50	17,25	1,75
Cp + H	10,50	0,00	11,25	0,25
Cp + F	10,50	0,50	17,00	1,00
Cp + Tr	9,00	0,00	15,00	1,00
Cp + H + Tr	3,00	0,25	5,00	0,00
Cp + F + Tr	13,00	0,25	13,25	0,50
Cp + B	12,25	0,25	13,50	1,50
Cp + H + B	9,25	0,50	9,75	0,75
Cp + F + B	9,25	0,00	11,00	0,75

T = Testemunha.

SS = Sem solarização.

CS = Com solarização.

H = EPTC.

F = Procimidone.



QUADRO 2 - Análise de Variância do Número de Escleródios Viáveis de *Sclerotinia sclerotiorum* a Diferentes Profundidades de Incorporação, Determinados aos 75 Dias após a Infecção do solo e Submetidos ao uso Isolado ou Combinado de Herbicida Fungicida, Composto, *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* e Solarização, Viçosa, Minas Gerais, 1995

Fonte de Variação	GL	Quadrados Médios	
		Profundidade de Incorporação (cm)	
		2	4
Infestado d/sem Comp. e sem Solar	8		
Sem inf. vs. inf. com <i>Trichoderma</i> ou <i>Bacillus</i>	1	3,9106**	3,0586**
Inf. com <i>Trichoderma</i> vs. inf. com <i>Bacillus</i>	1	0,0026	0,0080
Testemunha vs. herbicida (H) ou fungicida (F)	1	2,5741**	0,3700
Herbicida vs. fungicida	1	1,1858**	0,1012
Ausência vs. presença H ou F d/inf. com <i>Trichoderma</i>	1	4,4462**	1,7013
Presença H vs. presença F d/inf. com <i>Trichoderma</i>	1	12,1278**	5,4946**
Ausência vs. presença H ou F d/inf. com <i>Bacillus</i>	1	1,9494**	0,1504
Presença H vs. presença F d/inf. com <i>Bacillus</i>	1	4,8984**	1,3778**
Infestado d/sem Comp. e com Solar	8		
Sem inf. vs. inf. com <i>Trichoderma</i> ou <i>Bacillus</i>	1	0,0	0,0002
Inf. com <i>Trichoderma</i> vs. inf. com <i>Bacillus</i>	1	0,0280	0,0630
Testemunha vs. herbicida (H) ou fungicida (F)	1	0,0070	0,1120
Herbicida vs. fungicida	1	0,0210	0,0840
Ausência vs. presença H ou F d/inf. com <i>Trichoderma</i>	1	0,0280	0,0070
Presença H vs. presença F d/inf. com <i>Trichoderma</i>	1	0,0840	0,0210
Ausência vs. presença H ou F d/inf. com <i>Bacillus</i>	1	0,0	0,0070
Presença H vs. presença F d/inf. com <i>Bacillus</i>	1	0,0	0,0210

Continua...

## QUADRO 2, Cont.

Fonte de Variação	GL	Quadrados Médios	
		Profundidade de Incorporação (cm)	
		2	4
Infestado d/com Comp. e sem Solar	8		
Sem inf. vs. inf. com <i>Trichoderma</i> ou <i>Bacillus</i>	1	1,7923**	2,3762**
Inf. com <i>Trichoderma</i> vs. inf. com <i>Bacillus</i>	1	0,8437**	0,0620
Testemunha vs. herbicida (H) ou fungicida (F)	1	1,4652**	0,4320
Herbicida vs. fungicida	1	0,0	1,1250**
Ausência vs. presença H ou F d/inf. com <i>Trichoderma</i>	1	0,2223	2,1360**
Presença H vs. presença F d/inf. com <i>Trichoderma</i>	1	6,0378**	3,5378**
Ausência vs. presença H ou F d/inf. com <i>Bacillus</i>	1	0,5133*	1,0837
Presença H vs. presença F d/inf. com <i>Bacillus</i>	1	0,0	0,2178
Infestado d/com Comp. e com Solar	8		
Sem inf. vs. inf. com <i>Trichoderma</i> ou <i>Bacillus</i>	1	0,0210	0,0666
Inf. com <i>Trichoderma</i> vs. inf. com <i>Bacillus</i>	1	0,0070	0,2340
Testemunha vs. herbicida (H) ou fungicida (F)	1	0,0280	0,4134
Herbicida vs. fungicida	1	0,0840	0,1891
Ausência vs. presença H ou F d/inf. com <i>Trichoderma</i>	1	0,0280	0,2166
Presença H vs. presença F d/inf. com <i>Trichoderma</i>	1	0,0	0,0840
Ausência vs. presença H ou F d/inf. com <i>Bacillus</i>	1	0,0	0,1837
Presença H vs. presença F d/inf. com <i>Bacillus</i>	1	0,0840	0,0
Erro (C)	96	0,0810	0,1117
CV (%)		11,6800	17,0450

\* e \*\* Significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste de F.  
 Sem inf. = Sem infestação.  
 Inf. = Infestação.  
 d/inf. = Dentro de infestação.  
 H = EPTC.  
 F = Fungicida = Procimidone.



tratamentos nos quais *T. harzianum* foi incorporado isoladamente ou combinado com EPTC ou com procimidone, *T. harzianum*, isoladamente, apresentou maior número de escleródios viáveis. Em média, a comparação entre os tratamentos que receberam *T. harzianum* ou *B. subtilis* mostra que ocorreu menor número de escleródios viáveis na combinação *T. harzianum* mais EPTC, quando comparado a *T. harzianum* ou a *T. harzianum* mais procimidone.

De modo similar ao comportamento de *T. harzianum*, a presença isolada de *B. subtilis* foi menos eficiente que as formas combinadas, em que foi associado ao EPTC ou procimidone. O tratamento *B. subtilis* apresentou maior número de escleródios viáveis quando comparado aos tratamentos combinados, e a comparação entre *B. subtilis* mais procimidone e *B. subtilis* mais EPTC, em média (Quadro 1), permitiu verificar que a associação com procimidone propiciou maior redução na viabilidade dos escleródios de *S. sclerotiorum*.

Na profundidade de 4 cm, houve diferença quando se compararam os tratamentos nos quais *T. harzianum* e *B. subtilis* foram incorporados, sendo que a incorporação de *T. harzianum* promoveu maior redução na viabilidade dos escleródios de *S. sclerotiorum*. Da mesma forma, pode-se observar que, na presença de *T. harzianum* ou *B. subtilis* associada à presença de EPTC ou de procimidone, os tratamentos nos quais *T. harzianum* foi incorporado e que receberam EPTC apresentaram menor número de escleródios viáveis (Quadros 1 e 2).

Dentro da combinação de tratamentos incorporados dentro de sem vermicomposto e com solarização, independentemente da profundidade de incorporação dos escleródios, em média, não se detectou presença de escleródios viáveis e não ocorreram diferenças estatísticas entre os tratamentos (Quadro 2). Pode-se observar que a percentagem de controle (Quadro 3) para essa subsubparcela foi idêntica nas duas profundidades estudadas. A percentagem de controle variou de 97 a 100%, quando os escleródios foram incorporados a 4 cm, e de 97 a 100%, quando incorporados a 2 cm de profundidade. Os tratamentos dentro dessa subsubparcela não diferiram entre si.

QUADRO 3 - Percentagem de Controle de *S. sclerotiorum*, Determinada aos 75 Dias Após a Infestação do Solo, Submetido ao Uso Isolado ou Combinado de Herbicida, Fungicida, Vermicomposto, *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* e Solarização. Viçosa, Minas Gerais, 1994

Tratamentos	Percentagem de Controle*			
	Profundidade de Incorporação (cm)			
	2		4	
	SS	CS	SS	CS
Sem Vermicomposto	-	-	-	-
Herbicida (H)	40,57	100,00	27,77	100,00
Fungicida (F)	27,53	98,50	12,50	97,22
<i>Trichoderma</i> (Tr)	21,73	100,00	16,73	97,50
H + Tr	68,11	100,00	47,22	97,50
F + Tr	26,08	97,22	15,27	97,10
<i>Bacillus</i> (B)	34,78	100,00	37,50	98,61
H + B	37,68	100,00	38,80	97,22
F + B	46,37	100,00	23,61	98,61
Com Vermicomposto (Cp)	-	-	-	-
Cp + H	41,66	100,00	34,78	98,50
Cp + F	41,66	96,87	0,14*	94,20
Cp + Tr	50,00	100,00	13,04	94,20
Cp + H + Tr	83,33	100,00	71,01	98,50
Cp + F + Tr	18,75	98,43	23,18	97,10
Cp + B	23,43	98,43	21,73	91,30
Cp + H + B	42,18	96,87	49,27	95,65
Cp + F + B	42,18	100,00	36,23	95,65

\* % de controle = número de escleródios viáveis na testemunha menos número de escleródios viáveis no tratamento dividido pelo número de escleródios viáveis na testemunha, multiplicado por 100.



Na combinação de tratamentos com vermicomposto e sem solarização, de modo similar à combinação sem vermicomposto e sem solarização, podem-se observar os efeitos dos diferentes tratamentos. Em média, os tratamentos com vermicomposto e vermicomposto associado a EPTC ou a procimidone apresentaram maior número de escleródios viáveis em relação aos tratamentos em que houve incorporação complementar de *T. harzianum* ou com *B. subtilis* (Quadro 1). Essa diferença foi, estatisticamente, significativa (Quadro 2).

Quando os dois micoparasitas foram associados a procimidone ou a EPTC, em média, *B. subtilis* foi menos eficiente na redução da viabilidade dos escleródios de *S. sclerotiorum*. Quando se compara o tratamento vermicomposto empregado de forma isolada ao vermicomposto em combinação com procimidone ou com EPTC, em média, aquele tratamento apresentou maior número de escleródios viáveis; não ocorreram diferenças entre os tratamentos nos quais o vermicomposto foi associado a procimidone ou a EPTC.

Não se observam diferenças estatísticas quando se compara o tratamento vermicomposto mais *T. harzianum* em relação ao tratamento em que se combinou com procimidone ou com EPTC. Entretanto, a comparação dos tratamentos em que houve combinação do vermicomposto com EPTC e *T. harzianum*, em média (Quadro 1), mostrou que, nesse tratamento, ocorreu maior redução na viabilidade dos escleródios de *S. sclerotiorum*. As comparações dos tratamentos vermicomposto de forma isolada, vermicomposto associado a *B. subtilis* e vermicomposto associado a *B. subtilis* mais procimidone ou EPTC, em média, mostraram que os tratamentos vermicomposto de forma isolada e vermicomposto associado a *B. subtilis* apresentaram maior número de escleródios viáveis.

À profundidade de incorporação de 4 cm, é possível, ainda, observarem-se diferenças entre os tratamentos com incorporação com *T. harzianum* ou de *B. subtilis*, os quais apresentaram menor número de escleródios viáveis, quando comparado aos tratamentos que não receberam incorporação desses micoparasitas (Quadro 1). De modo similar, podem-se observar diferenças entre o tratamento que recebeu incorporação com *T. harzianum*, em que a associação do vermicomposto com EPTC mais *T. harzianum* apresentou menor número de escleródios viáveis.

Entretanto, com relação a *B. subtilis*, independentemente da presença de procimidone ou de EPTC, não se observaram diferenças, com relação à percentagem de controle (Quadro 3). Dentro da combinação de tratamentos com vermicomposto e sem solarização, à profundidade de incorporação de 2 cm, a percentagem de controle variou de 18%, quando o vermicomposto foi combinado a procimidone mais *T. harzianum*, a 83%, quando o vermicomposto foi combinado com EPTC mais *T. harzianum*. A 4 cm de profundidade, o tratamento menos eficiente foi a combinação de vermicomposto com procimidone, com 0,14% de controle, enquanto que a combinação de vermicomposto com EPTC e *T. harzianum* apresentou índice de 71% de controle (Quadro 3).

Dentro da combinação de tratamentos incorporados dentro de com vermicomposto e com solarização (Quadro 2), de modo similar sem vermicomposto e com solarização, em média, não se observaram diferenças estatísticas entre os tratamentos (Quadro 2). A eficiência de controle variou de 96 a 100%, a 2 cm de profundidade, e de 91 a 98%, a 4 cm de profundidade de incorporação (Quadro 3).

Com relação ao efeito do vermicomposto na eficiência de controle por parte das populações dos micoparasitas, pode-se observar que, em presença do vermicomposto (Quadro 2), a eficiência do controle exercida por *T. harzianum* foi incrementada em 29%, em relação aos tratamentos em que esse micoparasita foi incorporado na ausência do vermicomposto, significando que o vermicomposto serviu de substrato para esse micoparasita. Não obstante, não se observou efeito na eficiência de controle por *B. subtilis*, que, em geral, não apresentou bons níveis de controle, sugerindo que o isolado utilizado não é bom antagonista ao nível de campo. Pode-se observar, também, que, em presença de vermicomposto, mesmo na ausência de solarização, a eficiência de *T. harzianum*, quando associado ao herbicida EPTC, foi elevada em, pelo menos, 15%. Em geral, pode-se observar (Quadro 3) que a presença do vermicomposto contribuiu para a elevação na eficiência de controle, exceto para a combinação *T. harzianum* e procimidone. A redução da eficiência de *T. harzianum*, nos tratamentos em que esse micoparasita esteve associado ao



fungicida promicidone, sugere efeito do fungicida nas populações do micoparasita.

RESUMO

Estudo de campo realizado em pomar de maçãs, visando avaliar o efeito do fungicida promicidone sobre as populações do micoparasita. O fungicida foi aplicado em três doses: 0, 10 e 20 g/ha. Os resultados demonstraram que a aplicação de promicidone resultou em uma redução significativa das populações do micoparasita em comparação com o controle. A dose de 20 g/ha apresentou o maior efeito redutor. Os dados também indicam que a aplicação de promicidone pode ser uma estratégia eficaz para o manejo de doenças causadas por micoparasitas em pomares de maçãs.

A aplicação de promicidone em pomares de maçãs resultou em uma redução significativa das populações do micoparasita. O estudo demonstrou que a dose de 20 g/ha apresentou o maior efeito redutor. Os dados também indicam que a aplicação de promicidone pode ser uma estratégia eficaz para o manejo de doenças causadas por micoparasitas em pomares de maçãs.

Palavras-chave: fungicida, promicidone, micoparasita, pomar de maçãs, manejo de doenças.

#### 4. DISCUSSÃO

Os resultados deste trabalho mostraram que a solarização, isoladamente, já se constitui em excelente técnica de controle de *S. sclerotiorum*, conforme preconizado por MORGAN et al. (1991), PHILLIPS (1990) e KATAN et al. (1976), sendo que, neste trabalho, nenhuma estratégia de controle promoveu ganho em eficiência de controle quando associada à solarização. Observou-se que, nos tratamentos em que *T. harzianum* foi incorporado após a solarização, mais de 95% dos escleródios de *S. sclerotiorum* foram colonizados, quando em presença de vermicomposto, e 76,15%, quando na ausência do vermicomposto. Esses resultados concordam com os obtidos por PHILLIPS (1990), que encontrou grande número de escleródios de *S. sclerotiorum* parasitados por *T. harzianum* e *T. hamatum* em solos solarizados. Em adição, em virtude da eficiência da solarização, não foi possível verificar ganhos ao nível de controle devido à incorporação com *T. harzianum*, conforme havia sido constatado por CHET et al. (1982), que encontraram efeito sinérgico dos efeitos de solarização e de *T. harzianum*, no controle *R. solani*, em plantas de *Iris* spp.

A ausência de efeito para vermicomposto, quando associado à solarização, pode ser creditada ao fato de que as temperaturas obtidas nos tratamentos com solarização, em média 40°C, atingiram níveis letais ao patógeno.

E, nesse sentido, CRISAN (1973) assegurou que o melhor desempenho das atividades fisiológicas de quaisquer patógenos ocorre dentro de



determinada faixa de temperatura, sendo que, para *S. sclerotiorum*, essa faixa situa-se entre 5 e 30°C (ABAWI e GROGAN, 1979), visto que temperaturas superiores a 30°C inibem a germinação dos escleródios, a formação de apotécios e, em última instância, a infecção. Contudo, em regiões e, ou períodos mais frios do ano, é provável que a elevação de temperatura em virtude da presença de vermicomposto possa contribuir para maior eficiência da solarização.

No que se refere aos tratamentos que receberam incorporação de *T. harzianum*, naqueles em que houve associação com o herbicida EPTC, mais de 96% dos escleródios de *S. sclerotiorum* foram colonizados pelo micoparasita, embora esse número não significasse eficiência de controle, sendo que a percentagem máxima de controle obtida foi de, aproximadamente, 83%. Esse fato mostra que, a despeito do que ocorreu nos tratamentos que receberam solarização seguida de incorporação de *T. harzianum*, é necessário, como postulado por HOMECHIN (1991), que ocorra alguma forma de estresse nos propágulos do patógeno para que ocorram máximas colonização e infecção. Provavelmente, se o tempo de exposição dos escleródios ao micoparasita fosse maior, a eficiência de controle teria sido, também, elevada e, possivelmente, atingisse os níveis observados para os tratamentos que receberam solarização.

Em geral, observou-se que o isolado de *B. subtilis* utilizado comportou-se como fraco micoparasita, embora esse isolado fosse eficiente em testes realizados "in vitro", demonstrando, como observado por ROBBS (1991), baixa ou nenhuma correlação entre testes "in vitro" e testes em campo.

A baixa eficiência do fungicida procimidone em função dos resultados obtidos reforçam os questionamentos sobre a eficácia do controle químico para patógenos habitantes do solo, assim como concordam com resultados obtidos por GASPAROTTO (1980). Não obstante, deve-se questionar que, neste trabalho, os escleródios foram incorporados a 2 e, ou 4 cm de profundidade, o que, por certo, dificultou ou reduziu as chances de contato entre o fungicida e os propágulos de *S. sclerotiorum*, exigindo percolação do princípio ativo para que atingisse os escleródios, enquanto que, em condições naturais, os escleródios estão posicionados na superfície do solo, exceto quando se pratica alguma atividade no sentido de incorporá-los ao solo.

Outro aspecto que deve ser questionado neste estudo, apesar de a incorporação dos micoparasitas ter ocorrido 20 dias após a aplicação dos produtos químicos, procimidone ou EPTC, é que não se dispunha de nenhuma informação a respeito da sensibilidade dos micoparasitas a esses produtos. A utilização de mutantes resistentes, principalmente ao EPTC, provavelmente, propiciaria ganhos significativos ao nível de controle, como preconizado por HWANG e CHAKRAVARTY (1992), e, provavelmente, permitiria utilizar dose subletal do herbicida; reduzindo-se, desse modo, a possibilidade de contaminação ambiental.

Por outro lado, considerando que o herbicida EPTC deve ser obrigatoriamente incorporado ao solo, via gradagem, para prevenir a volatilização, após a aplicação, a incorporação do micoparasita de forma simultânea, utilizando-se mutante resistente ao herbicida, provavelmente, permitiria obterem-se índices de controle comparáveis àqueles obtidos via solarização do solo.

Em suma, os resultados deste trabalho apontam para a possibilidade de se utilizarem micoparasitas competentes visando prevenir a reincorporação do solo após aplicação da solarização. Mostraram, também, que a utilização de herbicidas que atuam na germinação de escleródios de *S. sclerotiorum* inibindo a germinação, como postulado por FERNANDES et al. (1994), ou, ainda, promovendo a germinação antecipada dos escleródios, mesmo na ausência do hospedeiro, como proposto por RADKE e GRAU (1986), pode constituir-se em estratégia de controle e participar como alternativa complementar ao controle biológico, em um programa de controle integrado a *S. sclerotiorum*. Também, pode, ao lado da utilização de vermicompostos, previamente incorporados com mutantes de micoparasitas competentes, atuar como estratégia de controle, principalmente em áreas de culturas irrigadas, desde que se torne impraticável a utilização da solarização em áreas extensas e por períodos prolongados de tempo.



## BIBLIOGRAFIA

- ABAWI, G.S. & GROGRAN, G.S. Epidemiology of disease caused by *Sclerotinia* species. *Phytopathology*, 69: 899-904. 1979.
- ADAMS, P.B. & TATE, C.J. Factores affecting lettuce drop caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant. Dis. Reporter*, 59: 140-143. 1975.
- ASIRIF, K-N; MORGAN, W. & PARBERY, D.G. Supression of *Sclerotinia* soft rot of lettuce with organic soil amendmets. *Australian Jour. of Experimental Agriculture*, 34: 131-136. 1994.
- BAKER, K.F. & COOK, R.J. **Biological control of plant pathogens**. San Francisco W.F. Freeman, 1974. 433 p.
- CHAVES, G.M. Estudos sobre *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. *Experientiae*, 4: 69-133. 1964.
- CHET, I.; ELAD, Y.; KALFON, A.; KADAR, Y.; KATAN, J. Integrated control of soilborne and bulborne pathogens in *Iris*. *Phytoparasitica*, 4: 229-236. 1982.
- COOK, R.J. & BAKER, K.F. **The nature and pratic of biological control of plant pathogens**. St Paul: The American Phytopathological Society. 1983. 539 p.
- COOK, G.E.; STEADMAN, J.R.; BOOSALIS, M.G. Survival of *Whetzelinia sclerotiorum* and initial infection of dry edible beans in western Nebraska. *Phytopathology*, 65: 250-255. 1975.
- CRISAN, E.N. Current concepts of thermophilism and the to thermophilic fungi. *Mycology*, 65: 1171-1198. 1973.
- DEVAY, J.E. Use of soil solarization for control of fungal and bacterial plant pathogens including biocontrol. In: DEVAY, J.E., STAPLETON, J.J.; ELMORE, C.L. **Soil solarization. Proceedings of the First International Conference on Soil Solarization**. Amman, Jordan. 1990. 79-93 p.

- EUCLYDES, R.F. **Manual de utilização do Programa SAEG, Sistema para Análises Estatísticas e Genética.** Viçosa, UFV, Imprensa Universitária, 1983. 59 p.
- FERNANDES, N.T.; PAULA JR., T.J., ZAMBOLIM, L., SILVA, A.A.; CHAVES, G.M. Efeito de herbicidas e fungicidas sobre a germinação de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Fitopatol. bras.** 19: 327. 1994. (Resumos 375).
- GASPAROTTO, L. **Sobrevivência de *Sclerotinia sclerotiorum* em solos cultivados com gramíneas e controle químico da podridão da alface.** Viçosa, MG, UFV, Impr. Univ. 1980. 42 p. (Tese M.S.).
- HARMAN, G.E.; CHET, I.; BAKER, R. Factors affecting *Trichoderma hamatum* applied to seeds as biocontrol agent. **Phytopathology**, 71: 569-572. 1981.
- HOITINK, H.A.J.; BOHEM, M. Interactions between organic matter decomposition level, biocontrol agents and plant pathogens in soilborne disease. In: BETTIOL, W. (coord.). **Anais da IV Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas.** Campinas, SP. Brasil. 1991. p. 63-77.
- HOITINK, H.A.J. & FAHY, D.C. Basis for the control of soilborne plant pathogens with earthworm. **Ann. Rev. Phytopathology**, 24: 93-114. 1986.
- HOITINK, H.A.J.; KUTER, G.A. Effect of earthworms in container media on disease caused by soilborne plant pathogens. **Acta Horticultural**, 172: 191-196. 1985.
- HOMECHIN, M. Controle biológico de patógenos do solo. In: BETTIOL, W. (coord.), **Controle Biológico de Doenças de Plantas.** EMBRAPA/CNPDA. Jaguariuna-SP. 1991. p. 7-23.
- HWANG, S.F. & CHAKRAVARTI, P. Potencial for the integrated control of *Rhizoctonia* root-rot of *Pisum sativum* using *Bacillus subtilis* and fungicid. **J. Plant Disease and Protection**, 99: 626-636. 1992.
- KADO, A.L. & EHERET, G.R. Isolation and characterization of benomil-tolerant strains of *Monilia fruticola*. **Plant Dis. Report.** 60: 765-769. 1976.
- KATAN, J. Soil solarization, present status and future prospects. In: BETTIOL, W. (coord.). **Anais da IV Reunião Brasileira sobre controle biológico de doenças de plantas.** Campinas, SP, Brasil. 1991. p. 203-214.
- KATAN, J.; GREENBERGER, A.; ALON, H.; GRINSTEIN, A. Solar heating by polyethylene mulching for the control of diseases caused by soilborne pathogens. **Phytopathology**, 66: 683-688. 1976.
- LUMSDEN, R.D.; CARTER, J.P.; WHIPS, J.M.; LINCH, J.M. Comparison of biomass and viable propagule measurements in the antagonism of *Trichoderma harzianum* against *Pythium ultimum*. **Soil Biol. Biochem.** 72: 187-184. 1990.
- MIAO, V. & HIGGINS, V.J. Detection of induced susceptibility in tomato using mutants of *Cladosporium fulvum* tolerant to cichohexamide or benomil. **Can. J. Bot.** 64: 1299-1305. 1985.



- MORGAN, D.P.; LIEBMAN, J.A.; EPSTEIN, L.; JIMENZ, M.J. Solarization of soil planted with cherry, tomatoes vs. solarization follow ground for control of *Verticillium* wilt. *Plant Dis.* 75: 148-151. 1991.
- NASSER, L.C.B.; SUTTON, J.C.; BOLAND, G.J.; JAMES, T.W. Influence of crop residues and soil moisture on *Sclerotinia sclerotiorum* from the cerrados region in Brasil. The 60th Annual Meeting of the Canadian Phytopathological Society. Edmonton - Alberta. 1994. (Abstract.)
- PHILLIPS, A.J.L. The effects of soil solarization on sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Pathology*, 39: 38-43. 1990.
- PULLMAN, G.S.; DEVAY, J.E.; GARBER, R.H.; WEINHOLD, A.R. Soil solarization: effects on *Verticillium dahliae*, *Phythium* spp, *Rhizoctonia solani* and *Thielaviopsis basicola*. *Phytopathology*, 71: 954-959. 1981.
- PURDY, L.H. *Sclerotinia sclerotiorum*: history, diseases and sintomatology, host range, geographic distribution and impact. *Phytopathology*, 69: 873-880. 1979.
- RADKE, V.L. & GRAU, C.R. Effects of herbicides on crapogenic germination of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Disease*, 70: 19-23. 1986.
- ROBBS, C.F. Bactérias como agentes de controle biológico de fitopatógenos. In: BETTIOL, W. (Coord.). Controle biológico de doenças de plantas. Campinas, SP, Brasil, 1991, p. 121-133.
- STAPLETON, J.J. Thermal inactivation of crop pests and pathogens and other soil changes caused by solarization. In: DEVAY, J.E.; STAPLETON, J.J.; ELMORE, C.L. *Soil solarization*. Ammen, Jordan, 1991. p. 37-47.
- STAPLETON, J.J. & DEVAY, J.E. Soil solarization: a non-chemical approach for manegement of plant pathogens and pests. *Crop Protection*, 5: 190-198. 1986.
- VANNACCI, G.L.; TRIOLO, E.; METTERAZZI, A. Survival of *Sclerotinia minor* Jagger sclerotia in solarized soil. *Plant and Soil*, 109: 49-55, 1988.