

# IX Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas

6 a 9 de novembro de 2007 - Campinas/SP

[Home Page](#)

[Programação](#)

[Comissão](#)

[Local e data](#)

[Palestras](#)

[Resumos](#)

[Resumos Expandidos](#)

[Autores](#)

[Realização](#)

[Apoio](#)

[Guia do Participante](#)

[Contato](#)

[Adobe Reader 8.0](#)

**Embrapa**

Meio Ambiente



Após quatro anos da última reunião, ocorrida em Ilhéus, BA e 16 anos da última organizada em Campinas, SP, a Embrapa Meio Ambiente, em parceria com a Fundag - Fundação de Apoio à Pesquisa Agrícola, realizará a IX Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas.

O objetivo geral é reunir estudantes, pesquisadores, empresas do agronegócio e agricultores para discussão do momento atual sobre controle biológico de doenças de plantas no Brasil e as perspectivas de ampliação do seu uso. São esperados aproximadamente 200 participantes de várias regiões do Brasil, assim como de outros países. As palestras, apresentações orais e pôsteres serão priorizados com amplo espaço para discussão e interação.

O tema geral desta edição será **"Biocontrole de doenças de plantas no Brasil: uso atual e perspectivas"**, com ênfase em:

- Efeito de mudanças climáticas sobre o controle biológico de doenças de plantas
- Aspectos atuais e viabilidade técnica do controle biológico de fitopatógenos em cultivo protegido
- Indução da supressividade de solos a fitopatógenos com emulsão de peixe e esterco de suíno
- Controle biológico de doenças do café orgânico
- Controle biológico de patógenos de solo em grandes culturas: uma visão empresarial
- Implantação de empresa para produção e comercialização de agentes de biocontrole
- *Bacillus subtilis* e *Bacillus pumilus* para controle biológico de doenças de plantas
- Integração de métodos biológicos para o controle de doenças e pragas da cultura do Ilrírio
- Integração de métodos biológicos para o controle de doenças e pragas da cultura do *Spathiphyllum* e *Phalaenopsis* e pragas de hortaliças orgânicas.

Esperamos contar com sua participação e antecipadamente agradecemos.

Comissão Organizadora



# IX Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas

6 a 9 de novembro de 2007 - Campinas/SP

[Home Page](#)

[Programação](#)

[Comissão](#)

[Local e data](#)

[Palestras](#)

[Resumos](#)

[Resumos Expandidos](#)

[Autores](#)

[Realização](#)

[Apoio](#)

[Guia do Participante](#)



## Comissão



**Comissão Organizadora** – Embrapa Meio Ambiente

**Coordenador:** Wagner Bettiol

**Membros:** Marcelo Morandi, Raquel Ghini, Pedro José Valarini, Itamar Soares de Melo, Cristina Tiemi Shoyama, Maria Cristina Tordin, Maria Amélia de Toledo Leme, Agnelo Frizi Filho, Silvana Cristina Teixeira Estevão, Anamaria F. Mayer Dentzien, Luiz Guilherme Rebello Wadt, Margarete E. Nunes Crippa e Cláudia Vaz Crecci.

## Comitê Científico

Wagner Bettiol, Marcelo Morandi, Raquel Ghini, Itamar Soares de Melo, Pedro José Valarini e Marusia Stefanova

## Reuniões Anteriores

- I- 9 e 10 de outubro de 1986. Piracicaba, SP
- II- 14 a 16 de outubro de 1987. Piracicaba, SP
- III- 9 a 11 de outubro de 1989. Piracicaba, SP
- IV- 8 a 10 de outubro de 1991. Campinas, SP
- V- 15 a 20 de maio de 1994. Gramado, RS
- VI- 15 a 18 de fevereiro de 2000. Campinas, SP
- VII- 26 e 27 de novembro de 2001. Bento Gonçalves, RS
- VIII- 26 a 28 de novembro de 2003. Ilhéus, BA





[Voltar página Principal](#)  
[Palestras](#)

P1- [Commercialization of Biocontrol Agents for Use against Plant Pathogens.](#)

Deborah Fravel

P2- [Impacto das mudanças climáticas globais sobre o controle biológico de doenças de plantas.](#)

Raquel Ghini e Wagner Bettiol

P3- [Fish emulsion and liquid swine manure: model systems for development of organic amendments as fertilizers with disease suppressive properties.](#)

George Lazarovits, Pervaiz Abbasi, Kenneth Conn, Janet Hill e Sean Hemmingsen

P4- [A indústria no controle biológico: produção e comercialização de microrganismos no Brasil.](#)

Rogério Biaggioni Lopes

P5- [A utilização do controle biológico para grandes culturas – a experiência do grupo Sementes Farroupilha.](#)

Alan W.V. Pomella

P6- [Serenade® \(\*Bacillus subtilis\* strain QST 713\) and Sonata \(\*Bacillus pumilus\* strain QST2808\), new biological tools for integrated and organic disease control programs.](#)

D. W. Edgecomb e D. C. Manker

P7- [Integração de métodos biológicos para o controle de doenças e pragas da cultura do lírio.](#)

Johannes Petrus W. de Wit

P8- [Integração de métodos biológicos para o controle de doenças e pragas da cultura do \*Spathiphyllum\* e \*Phalaenopsis\*.](#)

Ronaldo Aluisio Kievitsbosh

P9- [Controle biológico de doenças no café orgânico.](#)

Luiz A. Maffia; Fernando Haddad e Eduardo S. G. Mizubuti



[Voltar página Principal](#)

## RESUMOS

- 001 [Avaliação do potencial de \*Bacillus subtilis\* na proteção e no desenvolvimento da soja.](#)
- 002 [Colonização de raízes em soja co-inoculadas com \*Bradyrhizobium japonicum\* e \*Enterobacter agglomerans\*.](#)
- 003 [Caracterização de solos de Pernambuco quanto à supressividade a \*Pectobacterium carotovorum\* subsp. \*carotovorum\*.](#)
- 004 [Expressão enzimática de duas espécies de \*Trichoderma\* em meio de indução contendo quitina ou micélio de \*Sclerotinia sclerotiorum\*.](#)
- 005 [Expressão enzimática de duas espécies de \*Trichoderma\* em meio de indução contendo quitina ou micélio de \*Sclerotinia sclerotiorum\*.](#)
- 006 [Potencial de rizobactérias de bananeiras no controle de \*Fusarium oxysporum\* f. sp. \*cubense\*.](#)
- 007 [Aplicação de \*Bacillus subtilis\* no controle da meloidoginose em mudas de tomateiro.](#)
- 008 [Avaliação de formulação contendo \*Bacillus subtilis\* no enraizamento, perfilhamento e controle de mancha parda na cana-de-açúcar.](#)
- 009 [Avaliação da ação inibidora de Agrolmin sobre o crescimento de fungos nematófagos.](#)
- 010 [Efeito antifúngico de extratos obtidos a partir de \*Azadirachta indica\* e \*Eucalyptus citriodora\* em \*Sclerotium rolfsii\* e \*Macrophomina phaseolina\*.](#)
- 011 [Biocontrole da vassoura-de-bruxa \(\*Crinipellis perniciosa\*\) do cupuaçuzeiro por \*Clonostachys\*.](#)
- 012 [Produção de metabólitos de \*Trichothecium roseum\* e seu efeito no controle da vassoura-de-bruxa do cacauzeiro.](#)
- 013 [Avaliação do crescimento de \*Trichoderma\* em fontes de amido.](#)
- 014 [Utilização de \*Trichoderma\* como promotor de crescimento em mudas de pinhão manso.](#)
- 015 [Seleção de \*Trichoderma\* para o controle de \*Fusarium oxysporum\* em maracujá.](#)
- 016 [Efeito de forrageiras utilizadas para a implantação de plantio direto de arroz em várzea tropical sobre \*Rhizoctonia\*, \*Fusarium\* e \*Trichoderma\*.](#)
- 017 [Efeito da rotação de culturas sobre \*Rhizoctonia solani\*, \*Trichoderma\* e atividade microbiana em área sob integração lavoura-pecuária.](#)
- 018 [Avaliação da Produção de Esporos de \*Trichoderma harzianum\* em Arroz e Milheto sob Diferentes Condições de Umidade.](#)
- 019 [Metabólitos bioativos de \*Paenibacillus macerans\* endofítico para o controle de \*Rhizoctonia solani\*.](#)
- 020 [Seleção de extratos botânicos compatíveis com o agente de biocontrole \*Clonostachys rosea\* para o controle de \*Botrytis cinerea\* em roseiras.](#)
- 021 [A história do estudo do controle biológico de doenças de plantas na ESALQ/USP.](#)

- 022 [Rizobactérias fluorescentes isoladas de um sistema orgânico de produção de hortaliças antagônicas a \*Fusarium oxysporum\* f. sp. \*vasinfectum\* in vitro.](#)
- 023 [Pigmentos à base de polímeros podem fixar maior quantidade de conídios de \*Trichoderma asperellum\* em sementes de soja?](#)
- 024 [Promoção da germinação in vitro de sementes de \*Casaria sylvestris\* por metabólitos de \*Trichoderma\*.](#)
- 025 [Efecto del extracto de ajo sobre la germinación de esclerocios de \*Sclerotium cepivorum\* en condiciones de campo.](#)
- 026 [Espectro de ação de isolados bacterianos no biocontrole do crestamento bacteriano comum a partir da microbiolização de sementes de feijão.](#)
- 027 [Controle da podridão de raiz e promoção de crescimento em alface hidropônica com bactérias Gram positivas.](#)
- 028 [Seleção de actinobactérias de manguezais para o controle da podridão de raiz causada por \*Pythium aphanidermatum\* em plântulas de pepino e de alface.](#)
- 029 [Controle biológico do mofo cinzento do morangueiro por \*Clonostachys rosea\* em condições de campo.](#)
- 030 [Utilização de leveduras epífitas para o controle de \*Lasiodiplodia theobromae\* in vitro.](#)
- 031 [Atividade antagônica de \*Trichoderma\* e controle de \*Lasiodiplodia theobromae\*, \*Fusarium oxysporum\* e \*Botrytis cinerea\* in vitro.](#)
- 032 [Viabilidade da associação de extrato vegetal e bioprotetor.](#)
- 033 [Sanidade de sementes de cenoura submetidas a tratamentos com biopreparados.](#)
- 034 [Avaliação in vitro de óleos essenciais para o controle de \*Thanatephorus cucumeris\*, agente causal da mela do feijoeiro.](#)
- 035 [Efeito de compostos voláteis de extratos de \*Piper hispidum\* e \*P. tuberculatum\* sobre fitopatógenos de solo.](#)
- 036 [Ensaio de contato direto de extratos de \*Piper hispidum\* e \*P. tuberculatum\* sobre fitopatógenos de solo.](#)
- 037 [Avaliação in vitro de óleos essenciais para o controle de \*Fusarium oxysporum\*, agente causal do mal-do panamá.](#)
- 038 [Inviabilização de \*Sclerotinia sclerotiorum\* em presença de nitrogênio e matéria orgânica no solo.](#)
- 039 [Determinação do tempo mínimo para seleção de isolados de \*Bacillus\* no controle da mancha angular.](#)
- 040 [Interação de fungos micorrízicos arbusculares e patógenos causadores de podridão de raízes nativos em citros, sob cultivo convencional e orgânico.](#)
- 041 [Plantas daninhas com incidência de fitopatógenos candidatos a agentes de controle biológico.](#)
- 042 [Rizobactérias e a indução de resistência sistêmica em cultivos hidropônicos.](#)
- 043 [Efeito de tratamentos alternativos no controle da podridão-mole da couve-chinesa causada por \*Pectobacterium carotovorum\* subsp. \*carotovorum\*.](#)
- 044 [Atividade antifúngica de extratos de plantas a \*Sclerotinia sclerotiorum\*.](#)
- 045 [Influência da torta de \*Azadirachta indica\* sobre diferentes horas de molho em água na inibição do crescimento micelial de \*Sclerotinia sclerotiorum\*.](#)
- [Extratos de \*Azadirachta indica\* e \*Eucalyptus citriodora\* na inibição do](#)

- 046 [crescimento micelial e formação de escleródios de \*Sclerotinia sclerotiorum\*.](#)
- 047 [Eficiência de \*Azadirachta indica\* associada à \*Pongamia glabra\* no crescimento micelial de \*Sclerotinia sclerotiorum\*.](#)
- 048 [Inibição do vírus do mosaico do fumo \(TMV\) por frações do extrato micelial de \*Lentinula edodes\*.](#)
- 049 [Atividade antifúngica \*in vitro\* de extratos de \*Lentinula edodes\*.](#)
- 050 [Costa Rican experience in crop disease biological control.](#)
- 051 [Proteção de morangueiro contra antracnose por \*Saccharomyces cerevisiae\*.](#)
- 052 [Seleção de fungos antagonistas para o controle do oídio em mudas de \*Eucalyptus benthamii\*.](#)
- 053 [Biological Control of aflatoxin-producing \*Aspergillus flavus\* by \*Pichia anomala\*: Efficacy and Practical Application.](#)
- 054 [Controle biológico de doenças de flores e frutos jovens de citros.](#)
- 055 [Efeito do aumento da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico sobre a comunidade microbiana do filopiano da soja em estufa de topo aberto.](#)
- 056 [Uso do óleo de citronela no controle da ramulose do algodoeiro.](#)
- 057 [Efeito de óleos vegetais no controle de \*Colletotrichum gossypii\* var. \*cephalosporioides\*.](#)
- 058 [Promoção do crescimento de tomateiro para processamento industrial tratado com \*Trichoderma harzianum\*.](#)
- 059 [Controle de \*Fusarium solani\* e \*Rhizoctonia solani\* em lavoura de feijoeiro comum com aplicação de \*Trichoderma harzianum\* em jato dirigido.](#)
- 060 [Efeito do tratamento de sementes de soja com \*Trichoderma harzianum\* sobre a produtividade da soja.](#)
- 061 [Survival and spread of \*Trichoderma atroviride\* SC1 in vineyard soil.](#)
- 062 [Actividad sinérgica entre fungicidas dicarboximidas y timol para el control de \*Sclerotium cepivorum\* en condiciones de laboratorio.](#)
- 063 [Potencial de isolados de \*Trichoderma\* no controle de \*Fusarium oxysporum\* f.sp. \*cubense\*, \*in vitro\*.](#)
- 064 [Potencial de isolados bacterianos no biocontrole de doenças da cultura do arroz irrigado.](#)
- 065 [Espectro de ação de diferentes isolados biocontroladores frente a diferentes estirpes de \*Bipolaris oryzae\* e cultivares de arroz irrigado.](#)
- 066 [Introdução de agentes de \*Trichoderma\* em substratos para a produção de mudas de hortaliças.](#)
- 067 [Produção de ácido indol acético por \*Trichoderma\* no biocontrole de fitopatógenos.](#)
- 068 [Efeito do hidrolisado de peixe na severidade da murcha causada por \*Fusarium oxysporum\* f.sp. \*lycopersici\* raça 3 em tomateiro.](#)
- 069 [\*Bacillus\* para o tratamento de sementes de algodão contaminadas com \*Colletotrichum gossypii\* var. \*cephalosporioides\*.](#)
- 070 [Alterações provocadas pela suspensão de \*Bacillus subtilis\* sobre os urediniósporos de \*Phakopsora pachyrhizi\*.](#)
- 071 [Produtos alternativos para o controle da ferrugem asiática da soja em casa de vegetação.](#)
- 072 [Controle biológico de \*Fusarium oxysporum\* f. sp. \*chrysanthemi\* com](#)

- biopreparados de *Trichoderma*.
- 073 Seleção de isolados de *Trichoderma* para o controle do complexo *Fusarium solani* em genótipos de soja sob plantio direto.
- 074 Progênes de *Coffea arábica* resistentes à ferrugem visando o sistema orgânico de cultivo.
- 075 Integração de métodos físicos e biológicos no controle de doenças em viveiros de plantas medicinais: estudo de caso com *Cordia verbenacea*.
- 076 Controle alternativo de *Geotrichum candidum* através de extratos aquosos de plantas medicinais.
- 077 Controle de *Sclerotinia sclerotiorum* por *Trichoderma* em cártamo.
- 078 *Pseudomonas fluorescens* e *Pseudomonas putida* isoladas de um sistema orgânico de produção de hortaliças apresentando antagonismo *in vitro* contra *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*.
- 079 Desenvolvimento de substrato supressivo para o controle de *Fusarium* em crisântemo.
- 080 Método para identificação de isolados de *Trichoderma stromaticum* eficientes para o biocontrole da vassoura-de-bruxa do cacauzeiro.
- 081 Obtenção e seleção *in vitro* de isolados procariontes residentes de filoplano de macieira visando o biocontrole da Mancha das Folhas da Macieira.
- 082 Análise do potencial inibitório de *Streptomyces* frente ao fitopatógeno *Rhizoctonia solani*, visando seu biocontrole.
- 083 Interação de fungos micorrízicos arbusculares, *Trichoderma harzianum* e *Bacillus subtilis* no controle de *Phytophthora parasitica* em limoeiro 'cravo'.
- 084 Efeito da temperatura e hospedeiro sobre o crescimento e eficiência de isolados de *Clonostachys rosea* no controle de *Botrytis cinerea*.
- 085 Avaliação de substratos para multiplicação de isolado de *Trichoderma harzianum* e *T. viride*.
- 086 Influência de metabólitos produzidos por *Trichoderma* sobre esporulação de *Fusarium*.
- 087 Utilização de *Trichoderma harzianum* no controle da pinta-preta (*Alternaria solani*) em batata.
- 088 Produção de metabólitos por *Trichoderma viride* no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 2 em tomateiro.
- 089 Utilização de *Trichoderma harzianum* no controle *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides* do maracujazeiro.
- 090 Avaliação da sobrevivência de *Trichoderma asperellum* sobre folhas de feijoeiro em função do horário da aplicação e da utilização de adjuvantes.
- 091 Antagonismo *in vitro* de rizobactérias contra *Ralstonia solanacearum* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.
- 092 Prospecção por isolados bacterianos capazes de hidrolisar quitina.
- 093 Prospecção por isolados bacterianos produtores de antibióticos ativos contra fungos fitopatogênicos II—dados adicionais.
- 094 Bactérias endofíticas do cafeeiro induzem a produção de enzimas relacionadas com a defesa da planta contra a ferrugem (*Hemileia vastatrix*).
- 095 Seleção de microrganismos endofíticos como agentes de biocontrole da ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix*).
- 096 Bioprospecção de microrganismos endofíticos promotores do crescimento

- [do cafeeiro e estudo dos mecanismos envolvidos.](#)
- 097 [Aumento no crescimento de mudas de cafeeiro e redução na severidade da ferrugem mediados por possíveis isolados de rizobactérias.](#)
- 098 [Gêneros e espécies de rizobactérias isoladas de um sistema orgânico de produção de hortaliças apresentando antagonismo contra \*Rhizoctonia solani\* e \*Sclerotium rolfsii\* in vitro.](#)
- 099 [Avaliação de diferentes substratos, condição de aeração e formas de tratamento para multiplicação de fungos nematófagos.](#)
- 100 [Controle biológico de \*Meloidogyne incognita\* em cultivo de quiabeiro orgânico utilizando fungos nematófagos.](#)
- 101 [Controle biológico de \*Meloidogyne mayaguensis\* em goiabeira com fungos nematófagos.](#)
- 102 [Avaliação preliminar de substratos para multiplicação de \*Arthrobotrys oligospora\*.](#)
- 103 [\*Datura metel\*: evidências de antibiose a mosca branca, afídeos e outras pragas, reduzindo infestação em plantas vizinhas de batata \(\*Solanum tuberosum\*\).](#)
- 104 [Bioprospecção de macroalgas marinhas e plantas aquáticas para o controle da antracnose do feijoeiro.](#)
- 105 [Resíduos orgânicos associados à solarização para o controle das doenças do feijão causadas por \*Sclerotium rolfsii\*.](#)
- 106 [Isolamento e avaliação de rizobactérias no controle da fusariose em bananeira.](#)
- 107 [Inibição de \*Fusarium\* por actinomicetos isolados de rizosfera de Araucária.](#)
- 108 [Supressividade a \*Sclerotium rolfsii\* em cultivos envasados de \*Phalaenopsis\* utilizando biofertilizante, hidrolisado de peixe e \*Trichoderma\*.](#)
- 109 [Diferentes sistemas de manejo cultural visando o controle alternativo de podridão mole em copo-de-leite.](#)
- 110 [\*Streptomyces\* sp. ASBV-1 diminui a viabilidade de conídios de \*Aspergillus parasiticus\* e acúmulo de aflatoxinas em sementes de amendoim.](#)
- 111 [Supressividade de solo a \*Meloidogyne\* por \*Pasteuria penetrans\* nos estados do Maranhão e Santa Catarina.](#)
- 112 [Comportamento de \*Trichoderma\* em solo sob irrigação por inundação.](#)
- 113 [Fungitoxicidade de um actinomiceto a \*Colletotrichum truncatum\* causador da antracnose em soja.](#)
- 114 [Inibição do crescimento de fungos fitopatogênicos com actinomicetos.](#)
- 115 [Controle do crestamento bacteriano comum do feijoeiro pela microbiolização de sementes com actinomicetos.](#)
- 116 [Inibição do crescimento de bactérias fitopatogênicas por actinomicetos.](#)
- 117 [Seleção massal de procaritos com ação antagonista a \*Pseudomonas savastanoi\* pv. \*glycinea\*, agente causal do crestamento bacteriano da soja.](#)
- 118 [Uso de procaríoto no controle de \*Xanthomonas axonopodis\* pv. \*phaseoli\* em feijoeiro.](#)
- 119 [Antagonismo \*in vitro\* de rizobactérias de bananeira a fungos fitopatogênicos.](#)



[Voltar página Principal](#)  
[Resumos Expandidos](#)

006 - [POTENCIAL DE RIZOBACTÉRIAS DE BANANEIRAS NO CONTROLE DE \*Fusarium oxysporum\* f. sp. cubense.](#)

Érika Cristina Teixeira dos Anjos, Myrzânia Lira Guerra, Vilma Maria dos Santos, Rosana Lucia Machado Sampaio, Uided Maaze Tiburcio Cavalcante, Rosa de Lima Ramos Mariano, Leonor Costa Maia

007 - [Aplicação de \*Bacillus subtilis\* no controle da meloidoginose em mudas de tomateiro.](#)

Fabio F. de Araujo; Marlon H. M. de Carvalho; Gabriel V. P. Marchesi

008 - [Avaliação de formulação contendo \*Bacillus subtilis\* no enraizamento, perfilhamento e controle de mancha parda na cana-de-açúcar.](#)

Fabio F. de Araujo; Vitor H. de Moraes

043 - [Efeito de tratamentos alternativos no controle da podridão-mole da couve-chinesa causada por \*Pectobacterium carotovorum\* subsp. \*carotovorum\*.](#)

Alessandra de Lima Garcia, Kátia Cilene da Silva Felix, Érika Cristina T. dos Anjos, Marco Aurélio Siqueira da Gama, Cléidio da Paz Cabral, Elineide Barbosa da Silveira, Rosa Lima Ramos Mariano

048 - [Inibição do vírus do mosaico do fumo \(TMV\) por frações do extrato micelial de \*Lentinula edodes\*.](#)

Marizete F.P. Godoy, Juliana F. de S. Daniel, Edson Rodrigues Filho e Sergio F. Pascholati

049 - [Atividade antifúngica \*in vitro\* de extratos de \*Lentinula edodes\*.](#)

Marizete F.P. Godoy, Juliana F. de S. Daniel, Edson Rodrigues Filho e Sérgio F. Pascholati

055 - [Efeito do aumento da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico sobre a comunidade microbiana do filoplano da soja em estufa de topo aberto.](#)

Ricardo Contreira Lessin, Raquel Ghini

056 - [Uso do óleo de citronela no controle da ramulose do algodoeiro.](#)

Waléria Guerreiro Lima, Péricles de Albuquerque Melo Filho, Marcos Paz Saraiva Câmara, Roseane Cavalcanti dos Santos, Cláudio Augusto Gomes da Câmara, Adriano Márcio da Silva, Alessandra de Lima Garcia

057 - [Efeito de óleos vegetais no controle de \*Colletotrichum gossypii\* var. \*cephalosporioides\*.](#)

Waléria Guerreiro Lima, Péricles de Albuquerque Melo Filho, Marcos Paz Saraiva Câmara, Roseane Cavalcanti dos Santos, Cláudio Augusto Gomes da Câmara, Adriano Márcio da Silva, Adriano Márcio Freire da Silva, Alessandra de Lima Garcia, Cíntia Sousa Bezerra

074 - [PROGÊNIES DE \*COFFEA ARABICA\* RESISTENTES À FERRUGEM](#)

VISANDO O SISTEMA ORGÂNICO DE CULTIVO.

Júlio César Mistro, Luiz Carlos Fazuoli, Gérson Silva Giomo, Antonio Carlos Baião de Oliveira, Marcos Rafael Petek, Masako Thoma Braghini

091 - Antagonismo *in vitro* de rizobactérias de bananeiras contra *Ralstonia solanacearum* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.

Vilma M. Santos, Érika C. T. Anjos, Rosa L. R. Mariano, Uided M. T. Cavalcante

109 - Diferentes sistemas de manejo cultural visando o controle alternativo de podridão mole em copo-de-leite.

Débora Maria Zoccoli; Celso Katsuhito Tomita; Carlos Hidemi Uesugi

## **Avaliação do potencial de *Bacillus subtilis* na proteção e no desenvolvimento da soja**

Pietro Agostini, Mariana C. Lotto, Pedro J. Valarini, Itamar S. Melo

*Embrapa Meio Ambiente, CP 69, 13820-000, Jaguariúna/SP. E-mail: itamar@cnpma.embrapa.br.*

Métodos naturais no controle de fitopatógenos vêm sendo amplamente estudados como alternativa ao uso de agroquímicos. Os microrganismos demonstram grande potencial como agentes benéficos na agricultura, e *Bacillus subtilis* é um dos agentes com maior potencial na proteção fitossanitária e no desenvolvimento de diversas culturas, pois esse agente pode melhorar a nutrição das plantas, pela solubilização de fósforo, produção de fitormônios e disponibilização de nutrientes. O trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de *Bacillus subtilis* (OG) na proteção e no desenvolvimento de soja. A avaliação do controle biológico de *Rhizoctonia solani* e da promoção de crescimento foram realizadas em casa-de-vegetação, tendo como parâmetros a incidência da doença, emergência das plântulas, tamanho de parte aérea e radicular, bem como o peso seco das mesmas. Como resultados, tem-se que a incidência da doença foi reduzida em 65% quando *B. subtilis* foi inoculado via sementes. Quando avaliada a emergência das plântulas, tem-se que, no tratamento controle, o índice de emergência das sementes foi de 20,84%, índice este de 61,1% quando co-inoculados *B. subtilis* OG e *Bradirhizobium japonicum*, valor superior quando inoculada com apenas uma das bactérias. Situação semelhante foi obtida na avaliação de promoção de crescimento, no qual a co-inoculação mostrou resultados superiores à testemunha não inoculada, tanto quanto na inoculação isolada das bactérias. Os resultados mostraram-se bastante promissores quanto ao uso deste isolado bacteriano como alternativa ao uso de fungicidas, bem como para incremento da produção agrícola, uma vez que estimula a relação simbiótica da soja com *B. japonicum*, incrementa a emergência das plântulas, podendo aumentar a produtividade agrícola e inibir a incidência de doenças radiculares.

**Palavras-chave:** *Bacillus subtilis*, *Rhizoctonia solani*, controle biológico, promoção de crescimento, soja.

## Colonização de raízes em soja co-inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* e *Enterobacter agglomerans*

**Pietro Agostini; Mariana C. Lotto, Itamar S. Melo**

*Embrapa Meio Ambiente, CP 69, 13820-000, Jaguariúna/SP. E-mail: pietro@cnpma.embrapa.br; itamar@cnpma.embrapa.br*

A competência na colonização das raízes é um fator relevante na procura por microrganismos capazes de incrementar a produtividade agrícola, uma vez que as bactérias promotoras de crescimento de plantas (PGPR) ocupam um nicho favorável na planta, atuando na promoção de crescimento com a exsudação de fitormônios, nutrientes, compostos químicos, bem como inibindo fitopatógenos. Bactérias endofíticas são aquelas que residem no interior de tecidos vegetais sem causar danos, e tem demonstrado potencial para atuarem como PGPR. Parte do nitrogênio necessário para bons rendimentos da soja no Brasil é oriunda da associação simbiótica com *Bradyrhizobium japonicum*. A co-inoculação com PGPR pode favorecer o desempenho simbiótico do rizóbio e incrementar a produção de grãos. Com o objetivo de verificar a viabilidade da co-infecção de sementes de soja, um isolado de *B. japonicum* SEMIA 5079, e um isolado bacteriano endofítico de soja, *Enterobacter agglomerans* EN-79, em tratamentos distintos, foram inoculados em substrato Phytigel:água para análise da germinação, formação de biofilme, e para confirmar a colonização radicular, foi utilizada Microscopia Eletrônica de Varredura. O tratamento EN-79, co-inoculado com SEMIA 5079, apresentou 88,89% de germinação, enquanto o controle não inoculado e o inoculado apenas com o rizóbio apresentaram 32,32% e 55,55% de germinação. A co-inoculação foi responsável por uma formação de um biofilme mais denso por toda a raiz quando comparado com os outros tratamentos. A visualização em MEV mostrou que a inoculação com EN-79 apresentou colonização abundante por toda a raiz. A inoculação apenas de *B. japonicum* SEMIA 5079 evidenciou a formação de grandes colônias, em pontos distintos da raiz, sempre associado à formação de uma mucilagem. Quando co-inoculadas EN-79 e SEMIA 5079, o crescimento foi similar ao do tratamento exclusivamente com SEMIA 5079, com a formação de grandes colônias fortemente aderidas à superfície da raiz, sendo também possível observar o crescimento das duas bactérias associadas, comprovando que a linhagem EN-79 não inibiu o crescimento do *B. japonicum*. Estes resultados demonstram que a co-inoculação traz benefícios à planta e pode ser viável a formulação de inoculantes para soja com bactérias benéficas, associadas a *B. japonicum*.

**Palavras-chave:** Microrganismos Endofíticos, *Bradyrhizobium japonicum*, promoção de crescimento, colonização de raízes, MEV, soja.

## **Caracterização de solos de Pernambuco quanto à supressividade a *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum***

**Indira del C. M. Alvarado; Sami J. Michereff; Rosa L. R. Mariano; Adriano M. F. Silva; Clístenes W. A. Nascimento**

*UFRPE, 52171-900, Recife/PE, E-mail: rmariano@truenet.com.br*

A podridão-mole causada por *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Pcc) é fator limitante para o cultivo de olerícolas no estado de Pernambuco. As características do solo e os fatores ambientais podem influenciar a população de Pcc e o desenvolvimento da doença. Este trabalho objetivou avaliar a taxa de extinção da população de Pcc em 24 amostras de solos de Pernambuco e analisar as características físicas, químicas e microbiológicas dos solos associadas com a supressividade ou conducividade ao patógeno. No estudo da influência dos solos na população de Pcc, utilizou-se mutante resistente a rifampicina (Pcc127<sup>Rif</sup>), sendo calculada a taxa de extinção relativa da população (TERP) que variou de 0,0547 a 0,6327 log (UFC)/dia. Seis solos mostraram-se supressivos a Pcc127<sup>Rif</sup> enquanto cinco evidenciaram conducividade. Os grupos de solos baseados na TERP de Pcc127<sup>Rif</sup> não apresentaram relação com os municípios de coleta, tipos de coberturas do solo na época da coleta ou classes texturais dos solos. Considerando-se todos os solos, não foram constatadas correlações significativas ( $P \leq 0,05$ ) entre a TERP de Pcc127<sup>Rif</sup> e as características químicas, físicas e microbiológicas dos solos. Nos seis solos mais supressivos, a TERP de Pcc127<sup>Rif</sup> se correlacionou significativamente com a densidade aparente do solo ( $r = 0,76$ ), populações de bactérias totais ( $r = 0,82$ ) e *Bacillus* ( $r = 0,80$ ). A população de *Bacillus* se correlacionou com a densidade aparente, mas não com a população de bactérias totais. Nos cinco solos que se apresentaram mais conducentes houve correlação entre a TERP de Pcc127<sup>Rif</sup> e a população de *Bacillus* ( $r = -0,86$ ).

**Palavras-chave:** *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, podridão-mole, solos supressivos, solos conducentes, ecologia.

## **Expressão enzimática de duas espécies de *Trichoderma* em meio de indução contendo quitina ou micélio de *Sclerotinia sclerotiorum***

**Danillo O. Alvarenga, Paulo R. Queiroz, Luzia H. C. Lima, Sueli C. M. Mello**

*Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, CP 02372, 70770-900, Brasília/DF, E-mail: danillo@cenargen.embrapa.br*

O gênero *Trichoderma* apresenta organismos que podem atuar como micoparasitas de fungos fitopatogênicos. Esta interação é mediada por enzimas que hidrolisam os componentes da parede celular do hospedeiro, o que torna sua hifa fragilizada, resultando na sua morte. Desse modo, a caracterização enzimática favorece a seleção de linhagens de fungos antagonistas com potencial de biocontrole. Os objetivos deste trabalho foram analisar os padrões de expressão enzimática de duas espécies de *Trichoderma* e comparar duas fontes de carbono como indutoras de expressão de enzimas micolíticas. Suspensões de conídios de *T. asperellum* CEN201 e *T. harzianum* CEN241 foram inoculadas em meio completo. Após 48 h de crescimento a 28 °C a 150 rpm, a biomassa obtida foi transferida para meio salino acrescido de quitina ou micélio de *Sclerotinia sclerotiorum* como única fonte de carbono. Para as análises de cinética enzimática, em intervalos de 24 h foram coletadas amostras por filtração a vácuo, por um período de 120 h após o inóculo. Os extratos obtidos foram analisados quanto à produção total de proteínas extracelulares e quanto à expressão de quitinases, N-acetilglicosaminidases,  $\beta$ -1,3-glucanases e proteases, sendo posteriormente submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida desnaturante. A dosagem enzimática não mostrou diferença significativa entre os extratos da mesma linhagem quando obtidos de crescimento em quitina ou em micélio de *S. sclerotiorum*. Contudo, a eletroforese mostrou diferentes padrões de bandas para uma mesma espécie quando crescida em diferentes fontes de carbono, o que pode ser resultante da liberação de proteínas extracelulares no meio de cultura estimuladas por outros componentes da parede celular do micélio do fitopatógeno. Os resultados obtidos indicam que a quitina presente na parede celular do hospedeiro pode estar relacionada com a expressão enzimática de hidrolases durante o processo de micoparasitismo, podendo haver, além daquelas enzimas tradicionalmente relatadas, a expressão de proteínas acessórias ao processo.

**Palavras-Chave:** *Trichoderma*, micoparasitismo, enzimas quitinolíticas

## **Determinação dos mecanismos de antagonismo de *Trichoderma asperellum* a *Sclerotium rolfii* em Feijoeiro**

**Danillo O. Alvarenga, Paulo R. Queiroz, Luzia H. C. Lima, Sueli C. M. Mello**

*Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, CP 02372, 70770-900, Brasília/DF, E-mail: danillo@cenargen.embrapa.br*

O gênero *Trichoderma* apresenta fungos que são amplamente utilizados no biocontrole de fungos fitopatogênicos. Entre as formas de inibição destes patógenos, podemos encontrar competição, micoparasitismo, antibiose e indução de resistência sobre a planta. Para determinação do mecanismo de antagonismo utilizado pela linhagem *T. asperellum* CEN201 para inibição de *Sclerotium rolfii*, o fungo causador da podridão do colo do feijoeiro, realizou-se a sua comparação com *T. harzianum* CEN 241, uma linhagem de baixo antagonismo. Os fungos foram avaliados nos aspectos de crescimento micelial e esporulação em meio sólido, expressão de quitinases e N-acetilglicosaminidases em presença de quitina, expressão de celulases em presença de celulose e produção de antibióticos em meio líquido. Apesar de CEN241 ter apresentado maior velocidade de crescimento, não houve diferença significativa entre as duas linhagens quanto à produção de conídios. CEN201 apresentou menor capacidade de expressão de quitinases e N-acetilglicosaminidases, enzimas diretamente relacionadas ao micoparasitismo. Pôde ser verificada uma baixa atividade celulolítica por ambos os fungos, o que geralmente significa uma baixa capacidade de competência rizosférica. Quanto à produção de antibióticos, observou-se uma alta capacidade de inibição de micélio de *S. rolfii* e *Sclerotinia sclerotiorum* por filtrado de cultura líquida de CEN201, o que não foi observado para CEN241. Esta capacidade de inibição não foi correlacionada a uma maior liberação de proteínas extracelulares no meio de cultura. Não houve redução significativa do crescimento micelial de *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* sp. e *Cylindrocladium* sp. por nenhum dos dois fungos. Com estes dados, pode-se concluir que a principal forma de inibição do desenvolvimento de *S. rolfii* em feijoeiro por *T. asperellum* CEN201 é a antibiose, com a liberação de metabólitos não protéicos. Confirmado o potencial de inibição de *S. sclerotiorum* por CEN201, esta metodologia pode otimizar o processo de seleção de antagonistas, tornando-o mais barato e eficiente.

**Palavras-Chave:** *Trichoderma asperellum*, *Sclerotium rolfii*, antagonismo.

## Potencial de rizobactérias de bananeiras no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

Érika C. T. Anjos<sup>1</sup>, Myrzânia L. Guerra<sup>2</sup>, Vilma M. Santos<sup>1</sup>, Rosana L. M. Sampaio<sup>2</sup>, Uided M. T. Cavalcante<sup>1</sup>, Rosa L. R. Mariano<sup>2</sup>, Leonor C. Maia<sup>1</sup>

<sup>1</sup>UFPE. 50670-420, Recife/PE, E-mail: erikaanjos@yahoo.com.br. <sup>2</sup>UFRPE, R. Dom Manoel de Medeiros, s/n - Dois Irmãos, 52171-900, Recife/PE.

O cultivo da bananeira destaca-se no cenário nacional pela alta produção e variedade de produtos que podem ser consumidos *in natura* ou processados industrialmente. Porém, a sua produtividade sofre grandes perdas anuais pelo ataque de fungos fitopatogênicos, sendo o mais conhecido e de elevada ocorrência o *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc), agente causal do Mal-do-Panamá. O controle biológico de doenças de plantas tem sido alvo crescente de pesquisas e este trabalho objetivou investigar a ação de Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (RPCP) no controle *in vitro* desse patógeno. Foram testadas seis rizobactérias (endofíticas e epifíticas) isoladas de raízes de bananeiras sadias e previamente selecionadas como promotoras do crescimento de mudas micropropagadas de bananeiras cv. Grand Naine (BAN29, BAN36, BAN81, BAN82, S1 e S2) frente a quatro isolados de Foc (CFMM802, CFMM1236, URM2201 e URM267). Em placas de Petri foram realizados pareamentos, sendo a rizobactéria semeada em risca a 2,5 cm da borda da placa e o Foc depositado em disco (5 mm) de micélio na extremidade oposta da placa. Após 9 dias de incubação avaliou-se a inibição do crescimento micelial pela medição do diâmetro médio das colônias fúngicas, comparando-se à testemunha. No segundo ensaio, em 50 mL do meio líquido batata-dextrose (BD) foram colocados 1 mL de suspensão de cada rizobactéria (ajustada em fotocolorímetro para a concentração de 10<sup>8</sup> UFC/mL) e dois discos contendo micélio do fungo. A avaliação foi realizada após 12 dias de incubação por meio do peso seco micelial. Nos dois ensaios, o delineamento foi do tipo inteiramente casualizado utilizando-se seis RPCP e quatro Foc com 4 repetições no experimento em placas e 8 repetições no experimento em Erlenmeyers. A rizobactéria BAN36 foi a mais eficiente no controle do patógeno, reduzindo significativamente as variáveis de crescimento de todos os isolados de Foc. Esta rizobactéria proporcionou reduções da ordem de 67% no crescimento micelial do isolado CFMM802 a 100% do peso seco micelial do isolado URM267. As rizobactérias BAN81 e S1 somente afetaram o desenvolvimento do isolado CFMM802. A rizobactéria BAN36, já considerada promotora do crescimento de bananeiras, demonstrou nesse estudo ação inibitória contra o Foc, sugerindo-se a produção de substâncias tóxicas como um dos mecanismos responsáveis, o que deverá ser alvo de futuros estudos.

*Palavras-chave:* antagonismo *in vitro*, RPCP, Mal-do-Panamá

## Aplicação de *Bacillus subtilis* no controle da meloidoginose em mudas de tomateiro

Fabio F. de Araujo; Marlon H. M. de Carvalho; Gabriel V. P. Marchesi

UNOESTE, Rod. Raposo Tavares, Km 572, 19067-175, Presidente Prudente/SP, E-mail: [fabio@unoeste.br](mailto:fabio@unoeste.br)

A meloidoginose no tomateiro constitui-se em uma das principais doenças da cultura, sendo a mesma resultante do parasitismo de nematóides nas raízes. O desequilíbrio biológico no solo reduz a ocorrência natural de inimigos naturais do parasita no solo. As rizobactérias têm sido estudadas como potenciais antagonistas deste parasita podendo ser utilizadas dentro de programas de controle biológico desta doença. O objetivo deste trabalho foi de avaliar o efeito de *Bacillus subtilis* PRBS-1, isolada do solo, como promotor de crescimento e supressão de nematóides formadores de galhas em tomate. Sementes de tomate cultivar Santa Clara foram semeadas em substrato comercial, acondicionado em bandejas de isopor e aos 35 dias foram transplantadas para solo (5 kg) acondicionado em sacos plásticos. O solo foi coletado de área de cultivo de tomate com infestação natural de nematóides formadores de galhas do gênero *Meloidogyne*. Os tratamentos empregados visando ao controle da meloidoginose foram efetivados pela aplicação de formulação contendo *Bacillus subtilis* e o nematicida Carbofuran. As plantas foram conduzidas em casa de vegetação durante 80 dias com reposição de umidade do solo até a capacidade de campo. Para avaliação do crescimento das plantas foi medida a altura das plantas aos 70 dias de condução do experimento. As plantas foram coletadas aos 85 dias, sendo separada as raízes da parte aérea para avaliação de nematóides. As raízes e a parte aérea foram pesadas após a coleta do material para determinação da massa fresca produzida. Foi avaliada a presença de massas de ovos segundo escala de notas de Sasser & Taylor; em seguida as raízes foram processadas para determinação do número de ovos e juvenis recém-eclodidos. A produção de massa fresca da parte aérea do tomate foi incrementada pelos tratamentos químico e biológico. A massa fresca de raízes foi reduzida com o tratamento com *Bacillus subtilis*. O efeito do tratamento biológico sobre a reprodução do nematóide foi mais pronunciado na redução do desenvolvimento de massas de ovos na raiz. O presente estudo indica que a estirpe de *B. subtilis* utilizada neste trabalho interfere na reprodução do nematóide, em tomate, sob condições de casa de vegetação. Como a eficácia de agentes de biocontrole é influenciada por fatores bióticos e abióticos no ambiente, há necessidade de estudos adicionais para indicar se esta atividade persiste em condições de campo.

**Palavras-chave:** Nematicida, controle biológico, rizobactérias.

## **Avaliação de formulação contendo *Bacillus subtilis* no enraizamento, perfilhamento e controle de mancha parda na cana-de-açúcar**

**Fabio F. de Araujo; Vitor H. de Moraes**

*UNOESTE, Rod. Raposo Tavares, Km 572, 19067-175, Presidente Prudente/SP, E-mail: [fabio@unoeste.br](mailto:fabio@unoeste.br)*

O monocultivo da cana-de-açúcar causa desequilíbrio nas propriedades do solo, o que tem levado ao surgimento de diversos problemas fisiológicos e fitossanitários. A propriedade biológica tem sido bastante afetada por este monocultivo principalmente pelo constante uso de produtos químicos. *Bacillus subtilis* é uma rizobactéria com potencial para uso agrícola, atuando principalmente no controle biológico de doenças e promoção de crescimento de plantas. Na área do controle de doenças as rizobactérias também podem promover o fenômeno da indução de resistência em plantas. Para viabilizar sua utilização comercial faz-se necessário o desenvolvimento de trabalhos com formulação e modos de aplicação da bactéria nos cultivos agrícolas. Objetivou-se com este estudo definir modos de aplicação de produto formulado contendo *B. subtilis* para avaliar a promoção de crescimento e controle de mancha parda em cana-de-açúcar. Utilizou-se uma formulação a base de caulinita contendo o isolado de *B. subtilis* (PRBS 1) empregando-se três modos de aplicação na etapa de plantio da cana de açúcar: 1- Imersão dos toletes de cana em produto, contendo a bactéria, dissolvido em água; 2- Pulverização do produto nos toletes no sulco de plantio; 3- Distribuição do produto no sulco de plantio. O experimento foi conduzido em campo (Penápolis/SP) em parcelas de 42 m<sup>2</sup> com delineamento de blocos ao acaso com quatro repetições. O plantio da cana foi realizado em 30/09/2006, sendo efetivado todos os tratamentos culturais necessários. Aos 90 dias do plantio foi realizada a avaliação do número de perfilhos da cana em 2 m linear, amostrado ao acaso em cada parcela. Aos 150 dias foi realizada a avaliação da massa radicular e da parte aérea em dez plantas por parcela em cada tratamento. A avaliação da incidência de mancha parda foi realizada em dez plantas por parcela, pela contagem de lesões, características da doença, em folhas do terço médio da planta. Os resultados encontrados revelaram que a aplicação do produto no sulco na maior dosagem proporcionou maior perfilhamento da cana planta em comparação a testemunha. O tratamento com a menor dose do produto no sulco aumentou a massa da parte aérea e raiz da cana. Ocorreu redução da incidência de mancha parda no tratamento que teve a imersão dos toletes na solução contendo *B. subtilis*. Concluiu-se que a formulação contendo *B. subtilis* promoveu maior perfilhamento e crescimento da cana, aos 150 dias, na aplicação no sulco e redução de mancha parda na cultura quando aplicação foi por imersão dos toletes antes do plantio.

**Palavras-chave:** *Sacharum* spp., controle biológico, rizobactérias.

## **Avaliação da ação inibidora de Agrolmin sobre o crescimento de fungos nematófagos**

**Bruno F. F. Barbosa; Pedro L. M. Soares; Jaime M. Santos**

*FCAV/UNESP, Rod. Paulo Donato Castellane, s/nº, 14884-900, Jaboticabal/SP. E-mail: [brutere@fcav.unesp.br](mailto:brutere@fcav.unesp.br).*

O laboratório de Nematologia da UNESP/FCAV de Jaboticabal está desenvolvendo projetos para formulação, produção e comercialização de fungos nematófagos. Um dos problemas a serem sanados está relacionado ao efeito antagônico que alguns produtos utilizados na agricultura podem causar à ação dos fungos. O presente estudo objetivou verificar o possível efeito inibitório do produto Agrolmin (solução de ácidos húmicos e fúlvicos) da empresa Agrolatino, sobre o crescimento dos fungos nematófagos *Dactylella* sp., *Monacrosporium robustum* e *Paecilomyces lilacinus*. Quatro discos de micélio de 5 mm de diâmetro dos diferentes isolados, produzidos em BDA foram transferidos para placas de Petri contendo ágar-água 2% e depositados em torno do centro das placas, equidistantes entre si. No centro das placas foi adicionado um disco de papel filtro de 30 mm de diâmetro ao qual foi embebido com o mencionado produto. O produto foi testado nas concentrações de 100%; 50% e 20% e 0%. As placas foram mantidas em B.O.D. a 25°C por sete dias, no escuro, até a completa colonização da superfície do meio. Nenhum dos tratamentos provocou o aparecimento do alo de inibição ao crescimento dos fungos. Todos os tratamentos mostraram um estímulo ao vigor do crescimento micelial. As observações demonstraram que o produto Agrolmin não é limitante ao desenvolvimento dos fungos nematófagos testados.

## **Efeito antifúngico de extratos obtidos a partir de *Azadirachta indica* e *Eucalyptus citriodora* em *Sclerotium rolfsii* e *Macrophomina phaseolina***

**Kássia A. G. Barbosa<sup>1</sup>; Heloísa T. Corradini<sup>1</sup>; Riccely Á. Garcia<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ULBRA, Av Beira Rio, 1001, 75523-200, Itumbiara/GO, E-mail: [kassiabarbosa@yahoo.com.br](mailto:kassiabarbosa@yahoo.com.br); <sup>2</sup>UFU, Uberlândia-MG.

A procura por agentes antimicrobianos a partir de plantas é intensa uma vez que as plantas apresentam em sua composição substâncias efetivas contra fitopatógenos e são praticamente inofensivos ao meio ambiente. O presente trabalho objetivou avaliar o efeito de extratos obtidos a partir de *A. indica* e *E. citriodora* sobre o crescimento micelial de *M. phaseolina* – isolado fornecido pelo LAMIP-UFU, e de *S. rolfsii*. Os extratos foram obtidos de folhas secas trituradas em liquidificador e imersas em água destilada esterilizada, na proporção de 100g/L, por 8 horas. Decorrido este período os extratos foram filtrados em gaze estéril e incorporados ao meio BDA estéril, nas doses de 0 (ausência de extrato), 10, 20, 30, 40 e 50% para *M. phaseolina*, com 5 repetições, e doses de 0, 10, 20, 30 e 40% para *S. rolfsii*, com 4 repetições, ambos em delineamento experimental inteiramente casualizado. O meio contendo o extrato foi distribuído em placas de Petri com 8,5 cm de diâmetro. Após a solidificação, um disco (6 mm de diâmetro) contendo micélio dos fungos testados foi repicado para o centro das placas e incubados a  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  com fotoperíodo de 12 horas. A avaliação teve início após 48 horas da instalação do experimento, medindo-se diariamente o diâmetro das colônias, e perdurou até que as colônias fúngicas no tratamento testemunha, atingiram a borda da placa. Para *M. phaseolina* a inibição percentual obtida com *A. indica* variou de 4,9% (10% do extrato) a 72,7% (50% do extrato), e com *E. citriodora*, a variação foi de 15,5 a 54,4% para as mesmas doses. Para *S. rolfsii* a inibição do crescimento micelial variou de 4,7 a 83% com extrato de *A. indica* e 5,2 a 39,4% com extrato de *E. citriodora* para as doses de 10 e 40%, respectivamente. Verificou-se que a maior porcentagem de inibição de crescimento micelial foi diretamente proporcional ao aumento das doses dos extratos de *A. indica* e de *E. citriodora*.

**Palavras-chave:** *Sclerotium rolfsii*, *Macrophomina phaseolina* e extratos de plantas.

## Biocontrole da vassoura-de-bruxa (*Crinipellis perniciosa*) do cupuaçuzeiro por *Clonostachys*

Cleber N. Bastos

CEPLAC/SUPOR/ESJOH, CP 46, 67105-970, Marituba/PA, E-mail: [cleber@ufpa.br](mailto:cleber@ufpa.br)

Dentre os vários fatores que afetam o desenvolvimento da cultura do cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum*), a vassoura-de-bruxa, causada pelo fungo *Crinipellis perniciosa*, assume alta importância pelo seu elevado potencial destrutivo, chegando a causar sérios prejuízos na produção. Objetivou-se avaliar a capacidade de um isolado de *Clonostachys* sp. em proteger mudas de cupuaçuzeiro contra infecção por *C. perniciosa*. Para produção do inóculo, o antagonista foi multiplicado no meio de grãos esterilizados de arroz. Dois ensaios foram realizados em separado. No primeiro, foram usadas mudas de cupuaçuzeiro (três meses de idade) plantadas em saco de polietileno mantidas em casa de vegetação as quais receberam os seguintes tratamentos: (A) pulverização com água (controle); (B) pulverização com suspensão de esporos do agente biológico ( $1 \times 10^7$  esporos/ml) e (C) pulverização com 0,1% (p.c) do fungicida tebuconazole (controle padrão). Cada tratamento foi realizado com cinco repetições de 10 plantas em arranjo inteiramente casualizado. Após 15 dias da aplicação, as plantas foram transportadas para o campo e colocadas sob cupuaçuzeiros contendo forte pressão de inóculo (vassouras necróticas) para infecção natural. A avaliação da incidência da doença foi realizada oito meses após. O segundo ensaio foi conduzido em casa de vegetação, sendo as plantas pulverizadas com a suspensão de esporos ( $1 \times 10^7$  esporos/ml) de *Clonostachys* seis dias antes da inoculação com *C. perniciosa*. As inoculações consistiram na deposição de 30  $\mu$ l de uma suspensão de  $2 \times 10^5$  basidiósporos/ml no ápice das plantas, sob condições de câmara úmida climatizada ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e UR 100%). A avaliação da incidência da doença foi realizada 60 dias após as inoculações. Observou-se, nos dois ensaios, que nas plantas correspondentes ao tratamento testemunha ocorreu alta incidência de vassoura-de-bruxa, diferindo estatisticamente ( $P < 0,05$ ) dos tratamentos *Clonostachys* sp. e fungicida. *Clonostachys* sp. demonstrou alta eficácia no controle de *C. perniciosa* com comportamento estatístico semelhante ao controle padrão (tebuconazole).

**Palavras-chave:** *Theobroma grandiflorum*, vassoura-de-bruxa, controle biológico.

## Produção de metabólitos de *Trichothecium roseum* e seu efeito no controle da vassoura-de-bruxa do cacauero

Cleber N. Bastos

CEPLAC/SUPOR/ESJOH, CP 46, 67105-979, Marituba/PA, E-mail: [cleber@ufpa.br](mailto:cleber@ufpa.br)

A importância econômica da vassoura-de-bruxa do cacauero (*Theobroma cacao*), causada pelo fungo *Crinipellis pernicioso*, tem estimulado os pesquisadores a buscar métodos alternativos de controle, a fim de se evitar ou, pelo menos, minimizar os prejuízos que essa doença tem ocasionado. O fungo *Trichothecium roseum* obtido de vassouras de bruxa secas de lobeira (*Solanum lycocarpum*), o qual se mostrou antagônico a *C. pernicioso*, pela técnica de cultivo pareado foi testado quanto à produção de metabólitos tóxicos. Discos (5 mm de diâmetro) de meio de cultura contendo micélio de *T. roseum* foram transferidos para Erlenmeyers de 250 ml contendo 50 ml de batata-dextrose, os quais foram incubados em temperatura ambiente de laboratório por 10 dias, sem agitação constante. O caldo fermentado foi filtrado em papel de filtro (Whatman n° 4) e, em seguida, submetido à filtração em membrana millipore (0,22 µm). Em laboratório foi determinada a inibição da germinação de basidiósporos e do crescimento micelial de *C. pernicioso*, em diferentes concentrações do líquido metabólico (LM). Em casa de vegetação, foram avaliados os efeitos protetivo e sistêmico sobre o patógeno, usando-se mudas de cacau com 30 dias de idade. As plantas foram pulverizadas com o LM na concentração de 5% até o ponto de escorrimento e oito dias após a aplicação ocorreu a inoculação, depositando-se 30 µl de uma suspensão de  $2 \times 10^5$  basidiósporos/ml nas gemas apicais em câmara úmida climatizada (25±2 °C e UR 100%). Os resultados dos ensaios *in vitro* revelaram que o LM inibiu em 100% a germinação na concentração de 2%, e 41,46% do crescimento na concentração de 20%. Em casa de vegetação, o LM demonstrou efeitos protetivo e sistêmico contra a infecção por *C. pernicioso*, sendo capaz de reduzir significativamente a incidência da vassoura-de-bruxa, quando comparado à testemunha, sem apresentar fitotoxicidade.

**Palavras-chave:** *Theobroma cacao*, líquido metabólico, controle biológico.

## IX Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas

### Avaliação do crescimento de *Trichoderma* em fontes de amido

**Marinês P. Bomfim; Abel R. S. José; Tiyoiko N. H. Rebouças; Ricardo L. Santos; Ivan V. B. Souza**

UESB, Vitória da Conquista/BA, 45083-900. E-mail: [mpbfito@gmail.com](mailto:mpbfito@gmail.com).

O presente trabalho objetivou avaliar a taxa de crescimento *in vitro* de espécies de *Trichoderma* em diferentes meios de cultura. O trabalho foi desenvolvido na Biofábrica da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia Campus de Vitória da Conquista - BA. Foram utilizados como fonte de amido, Inhame (*Dioscorea* spp.), Batata doce (*Ipomoea* spp.), Mandioca (*Manihot esculenta*) e Taro (*Colocasia esculenta*), as espécies de *Trichoderma* em estudo foram: *Trichoderma viride*, *T. virens* e *T. harzianum*. Sob condições de assepsia, cerca de 20 mL de cada meio foram vertidos em placas de Petri de 9 cm de diâmetro após a solidificação do meio, foi colocado no centro das placas de Petri um discos de 7mm retirados das bordas de colônias dos antagonistas em estudo crescidos em BDA por sete dias. As placas foram mantidas a 25°C e crescimento micelial do fitopatógeno foi determinado aos 2, 4 e 6 dias de incubação. Conclui-se que os meios de cultura utilizando Inhame, Batata doce e Taro proporcionaram um melhor crescimento dos antagonistas em estudo não diferindo entre si, diferindo dos demais tratamentos com mandioca e batata.

**Palavras-chave:** Inhame, Batata doce, Mandioca, Batata, Taro.

## IX Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas

### Utilização de *Trichoderma* como promotor de crescimento em mudas de pinhão manso

**Marinês P. Bomfim; Ivan V. B. Souza; Abel R. S. José; Tiyoiko N. H. Rebouça; Ricardo L. Santos; Wedisson O. Santos; Jean F. T. Alves.**

UESB, Vitória da Conquista/BA, 45083-900 [mpbfito@gmail.com](mailto:mpbfito@gmail.com)

O Pinhão manso, da família das Euforbiáceas, exigente em insolação e com forte resistência à seca, é uma cultura viável para pequenas propriedades rurais, com mão-de-obra familiar, sendo mais uma fonte de renda e emprego. Configura-se uma alternativa atraente para produção de óleo para fins energéticos. As espécies de *Trichoderma* estão entre os microrganismos mais comumente estudados como agentes de biocontrole que apresentam, também, atividade como promotores de crescimento. Conduziu-se este trabalho com o objetivo de estudar o efeito do fungo *Trichoderma viride* e *T. harzianum* como promotores de crescimento em mudas de pinhão incorporado ao substrato. O trabalho foi desenvolvido em casa de vegetação da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia *Campus* de Vitória da Conquista - BA. O tratamento do substrato com *Trichoderma* proporcionou às mudas maior comprimento e superfície total de raízes, o que se refletiu em maior absorção de água e nutrientes e, conseqüentemente, maior vigor. O comprimento específico radicular, que é definido como o comprimento de raízes por unidade de massa seca do sistema radicular, indica o diâmetro médio de raízes. Constatou-se que a aplicação do antagonista no substrato resultou em valores de comprimento específico mais elevados, expressando a espessura das raízes (raízes mais grossas). Para o tratamento sem aplicação do *Trichoderma* spp. foi verificado menor comprimento específico das raízes (raízes mais finas). Tem sido observado, em condições de campo, que a aplicação de *Trichoderma* spp. no substrato das mudas se reflete em maior desenvolvimento da raiz pivotante e de radículas, maior enfolhamento da parte aérea das mudas, com coloração verde mais intensa das folhas.

**Palavras-chave:** *Jatropha curcas*, promotor de crescimento, raiz.

## IX Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas

### Seleção de *Trichoderma* para o controle de *Fusarium oxysporum* em maracujá

**Marinês P. Bomfim; Ricardo L. Santos; Abel R. S. José; Tiyoko N. H. Rebouças; Ivan V. B. Souza**

UESB, Vitória da Conquista - BA, 45083-900 [mpbfito@gmail.com](mailto:mpbfito@gmail.com)

A fusariose do maracujazeiro, causada por *Fusarium oxysporum* f. *passiflorae*, doença do sistema radicular, provoca murcha imediata, colapso e morte das plantas em qualquer estágio de desenvolvimento e é um dos principais problemas fitossanitários da cultura. Dentre os fungos antagonistas, os do gênero *Trichoderma* têm sido um dos mais estudados para o controle de fitopatógenos do solo por ocorrerem naturalmente no solo. O presente trabalho objetivou avaliar o potencial *in vitro* de *Trichoderma* spp., crescido em diferentes fontes de amido, no controle de *F. oxysporum* em maracujazeiro. As fontes de amido utilizado foram Inhame, Mandioca e Batata, adicionou-se a cada 200mL do meio de cultura fundente (45-55 °C) 2mL da suspensão dos antagonistas em estudo na concentração  $1 \times 10^8$  conídios/mL, após solidificação foi colocado no centro da placas de Petri um discos de 7mm retirados das bordas de colônias de *F. oxysporum*, crescidos em meio BDA por sete dias. As placas foram mantidas a 25°C. O delineamento empregado foi inteiramente casualizado com oito repetições, sendo analisado com o auxílio do teste Tukey a 5%. A avaliação foi realizada aos sete dias de incubação. Através dos resultados obtidos conclui-se que *Trichoderma viride*, *T. virens* e *T. harzianum* são antagonistas ao fitopatógeno em estudo, havendo uma maior inibição do fitopatógeno quando crescido no meio de cultura com Inhame e Batata.

**Palavras-chave:** Controle biológico, doença de solo, fontes de amido.

IX Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas  
**Efeito de forrageiras utilizadas para a implantação de plantio direto de arroz em várzea tropical sobre *Rhizoctonia*, *Fusarium* e *Trichoderma***

Renata S. Brandão<sup>1</sup>; Murillo Lobo Jr<sup>2</sup>, Maria H. A. Salviano<sup>1</sup>; Alberto B. Santos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>UFLA, CP3037, Lavras/MG, E-Mail: [brandaobio@hotmail.com](mailto:brandaobio@hotmail.com); <sup>2</sup>Embrapa Arroz e Feijão, CP 179, Santo Antonio de Goiás/GO, E-Mail: [murillo@cnpaf.embrapa.br](mailto:murillo@cnpaf.embrapa.br)

A intensificação do uso de várzeas tropicais no Estado do Tocantins requer vários cuidados para a manutenção de sua sustentabilidade, restringindo o desenvolvimento de patógenos e mantendo populações de antagonistas, como *Trichoderma* spp e formas saprófitas de *Fusarium oxysporum*. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de forrageiras utilizadas, para implantação do sistema plantio direto, sobre patógenos do solo e agentes de controle biológico. Amostras compostas da camada 0-10 cm de solo em várzea cultivada em Formoso do Araguaia/TO, foram retiradas de um experimento de seleção de forrageiras para formação de palhada e cultivo do arroz irrigado no sistema plantio direto. Os tratamentos consistiram em sorgo, sorgo + *Brachiaria brizantha* ou *B. decumbens*, milho, milho + *B. brizantha* ou *B. decumbens*, semeados em 05/2007. Uma área ao lado com vegetação nativa foi avaliada como testemunha. Os tratamentos foram delineados em blocos ao acaso, com quatro repetições. Amostras coletadas em 07/2007 foram diluídas em série e plaqueadas em meios de cultura semi-seletivos, para estimativa de populações de *Trichoderma* spp., *F. oxysporum* e *Rhizoctonia solani*. Os resultados foram submetidos à ANOVA. Isolados de *Trichoderma* spp. foram encontrados em todos os tratamentos, com populações variando entre 7600 e 12667 propágulos por grama de solo (ppg), respectivamente em cultivo de sorgo e de milho. *Rhizoctonia solani* não foi encontrada nos tratamentos de milho com as braquiárias nem sob vegetação nativa, sob a qual encontrou-se a maior densidade de *F. oxysporum* (2000 ppg). Nas parcelas com sorgo solteiro, *R. solani* foi encontrada em 4,44% dos resíduos orgânicos do solo. Os tratamentos serão novamente conduzidos, para verificar se milho com braquiárias permanecem como melhores opções para controle de *R. solani*.

Palavras-chave: integração lavoura-pecuária, controle biológico, solos supressivos.

IX Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas  
**Efeito da rotação de culturas sobre *Rhizoctonia solani*, *Trichoderma* e atividade microbiana em área sob integração lavoura-pecuária**

**Renata S. Brandão<sup>1</sup> ; Murillo Lobo Jr.<sup>2</sup>; Maria H. A. Salviano<sup>1</sup>; Gustavo H. A. Gontijo<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>UFLA, CP 3037, 37200-000, Lavras/MG, E-Mail: brandaobio@hotmail.com; <sup>2</sup>Embrapa Arroz e Feijão, CP 179, 75375-000, Santo Antônio de Goiás/GO, E-Mail: murillo@cnpaf.embrapa.br; <sup>3</sup>UFGO, Goiânia, GO.

A integração lavoura-pecuária (ILP) é uma estratégia utilizada para o controle de patógenos que habitam o solo e o desenvolvimento de sistemas de produção sustentáveis. Rotações de cultura envolvendo *Brachiaria* spp. têm contribuído para o controle de podridões radiculares causadas por *Fusarium solani* e *Rhizoctonia solani*, com a redução da densidade de inóculo de patógenos, devido ao incremento de populações de saprófitas, re-estruturação do solo e aumento da matéria orgânica. O objetivo deste trabalho foi identificar e quantificar populações naturais de *R. solani* e do antagonista *Trichoderma*, além de avaliar a atividade microbiana do solo em uma área de ILP. O estudo foi realizado na Embrapa Arroz e Feijão (Santo Antônio de Goiás, GO). Em julho de 2007 foram obtidas amostras de solo compostas, da camada 0-10 cm, em seis rotações de cultura envolvendo feijoeiro comum e pastagens, com diferentes históricos de cultivo. Amostras de solo de uma pastagem degradada e de vegetação nativa, em áreas anexas ao experimento foram utilizadas como testemunhas. Em laboratório, suspensões de solo diluídas em série foram plaqueadas em meios de cultura de ágar-água e de Martin, respectivamente, visando a quantificação de *R. solani* e *Trichoderma* spp. A atividade microbiana nos tratamentos foi estimada com a hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA). Sob vegetação nativa, foi estimada a maior atividade microbiana (173,93 mg FDA hidrolisado g<sup>-1</sup>.s<sup>-1</sup>) e ausência de *R. solani*. O patógeno teve população de 0,74% de resíduos orgânicos colonizados (%ROC) em pastagem degradada até 5,93 %ROC, em feijoeiro comum após soja. Outros tratamentos apresentaram densidade do patógeno em níveis intermediários. O solo sob pastagem degradada apresentou maior densidade de *Trichoderma* spp. com 18533 propágulos por grama de solo.

Palavras-chave: Podridões radiculares, controle biológico, plantio direto.

**Avaliação da Produção de Esporos de *Trichoderma harzianum* em Arroz e Milheto sob Diferentes Condições de Umidade**

**Leonardo M. Brauna<sup>1</sup>; Magno R. Carvalho Filho<sup>1</sup>; Irene Martins<sup>2</sup> e Sueli C. M. Melo<sup>2</sup>.**

<sup>1</sup>UnB, Asa Norte, Brasília, DF. 70910-900. [leonardo@minarebrauna.com.br](mailto:leonardo@minarebrauna.com.br). Embrapa Cenargen. E-mail: [smello@cenargen.embrapa.br](mailto:smello@cenargen.embrapa.br)

O desenvolvimento de uma formulação apropriada é um pré-requisito importante para a implementação de um programa de controle biológico usando microrganismos antagônicos. A formulação de um agente de controle biológico depende da produção em larga escala de sua biomassa bem como da manutenção de sua viabilidade no final do processo. O isolado CEN 238 (*T. harzianum*) da coleção de cultura da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, foi obtido da rizosfera da cultura de algodão e foi testado como agente de controle para *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii*, demonstrando ser um agente de biocontrole eficiente. Para a avaliação da produção massal desse agente, no qual objetivou a maior produção de conídios, foram utilizados dois substratos: arroz e milheto. Para avaliar os efeitos da umidade sobre o desenvolvimento do fungo, adicionou água aos substratos nas concentrações de 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100% v/m. O material foi, então, deixado em repouso por 3, 6, 12 e 24 horas antes da autoclavagem. Após a esterilização, inocularam-se três discos de 5 mm de diâmetro retirados de culturas de *Trichoderma*, em cada frasco contendo o substrato umedecido, os quais foram incubados em BOD a 25°C por seis dias. Uma amostra (1gr) da massa produzida foi diluída em série para contagem em câmara de Neubauer. Não houve diferença significativa na produção de esporos, a partir da concentração de 60% de água. Além disso, os resultados indicaram 60% de água, 12 horas antes da autoclavagem como melhor tratamento, proporcionando melhor esporulação deste isolado, em ambos os substratos utilizados. No caso do milheto, os tratamentos 24 horas com 30, 40 e 50% de água, apresentaram, também, bons resultados, superados apenas pelo tratamento 12 horas com 60% de água. Em arroz, a melhor esporulação obtida com o tratamento 12 horas e 60% foi superior comparado ao mesmo tratamento com o substrato de milheto.

**Palavras-chave:** Produção massal, *Trichoderma harzianum*, controle biológico.

## IX Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas

### Metabólitos bioativos de *Paenibacillus macerans* endofítico para o controle de *Rhizoctonia solani*

**Sarah P. Canova, Luciana F. Reyes, Itamar S. Melo**

Meio Ambiente, CP 69, 13820-000, Jaguariúna (SP), E-mail: [itamar@cnpma.embrapa.br](mailto:itamar@cnpma.embrapa.br)

Os microrganismos endofíticos colonizam tecidos internos de plantas sem causar-lhes qualquer dano aparente, apresentando grande potencial para o controle biológico por ocuparem nicho semelhante ao do patógeno e, ainda, produzirem metabólitos secundários bioativos. Este trabalho visou avaliar um isolado de *Paenibacillus macerans* endofítico de raiz de mandioca (*Manihot esculenta*) no biocontrole de *Rhizoctonia solani*. A linhagem de interesse foi identificada por análise do perfil de ácidos graxos da parede celular (FAME) e avaliada quanto à produção de metabólitos antifúngicos. Verificou-se, em testes de antagonismo, inibição do crescimento micelial do fitopatógeno. A obtenção do extrato bruto se deu por fermentação em meio batata dextrose (BD) por 4 dias de incubação a 150 rpm e 30 °C, seguido de extração com acetato de etila, sendo realizados posteriormente, ensaios de antibiose, onde foi evidenciada forte atividade biológica. A identificação do metabólito se deu por espectrometria de massa, indicando ser surfactina, biossurfactante da classe dos lipopeptídeos, que possuem comprovada atividade antibiótica por solubilização dos principais componentes de membranas celulares microbianas. A linhagem *P. macerans* demonstrou eficiência *in vitro* no biocontrole de *R. solani*. Contudo, há necessidade de verificar este mesmo metabólito *in vivo*, para futura obtenção de novos produtos biotecnológicos.

**Seleção de extratos botânicos compatíveis com o agente de biocontrole *Clonostachys rosea* para o controle de *Botrytis cinerea* em roseiras**

**Leticia E. Caovila; Marcelo A. B. Morandi; Elen R. Santos**

*Embrapa Meio Ambiente, CP 69, 13820-000, Jaguariúna;SP, E-mail: mmorandi@cnpma.embrapa.br*

O mofo cinzento (*Botrytis cinerea*) é um dos principais problemas fitossanitários na produção de flores e plantas ornamentais. As principais medidas alternativas de controle para o mofo cinzento incluem práticas de saneamento; alteração do ambiente (temperatura, UR e radiação); aplicação de substâncias em pré e pós colheita e o controle biológico. Os extratos vegetais podem ser uma alternativa potencial para complementar o controle biológico de *B. cinerea*, especialmente em cultivos onde não é permitido (como os orgânicos) ou que se quer reduzir o uso de fungicidas (como em ornamentais), para proteger as flores da infecção. Para a seleção dos extratos em laboratório foram avaliadas a inibição do crescimento micelial *in vitro* e a supressão da esporulação do patógeno em discos de folhas de roseira. Os seguintes extratos foram testados: talo e casca de Quinaquina (*Geissospermum sericeum*, Fam. Apocynaceae); folha e talo de Café branco (*Esenbeckia almawillia*, Fam. Rutaceae) e talo e folha de Lacre (*Vismia sandwithii*, Fam. Guttiferae). Um tratamento com o solvente utilizado no preparo dos extratos (Tween 80 a 5%) foi adicionado como testemunha. Na avaliação da inibição do crescimento micelial de *B. cinerea in vitro*, apenas os extratos de folha de Café branco e casca de Quinaquina diferiram da testemunha (pLSD,  $p \geq 0,05$ ). Verificou-se que o solvente utilizado no preparo dos extratos teve efeito negativo sobre o crescimento do patógeno, porém não diferiu da testemunha. No ensaio em discos de folha, apenas o extrato de casca de Quinaquina proporcionou redução significativa na esporulação do patógeno (pLSD,  $p \geq 0,05$ ). Neste caso, não se observou efeito do solvente sobre o crescimento do patógeno. Dos extratos avaliados, o único que proporcionou redução significativa e consistente de *B. cinerea* foi o de casca de Quinaquina. Esta planta é nativa da flora Amazônica e é ainda pouco estudada. A composição química de seu extrato ainda não foi completamente elucidada, porém supõe-se que sua ação antimicrobiana seja devido à presença de alcalóides. Este extrato inibiu também o crescimento do agente de biocontrole *C. rosea*. Outros extratos de espécies de plantas que produzem cumarinas, substâncias sulfuradas, alcalóides e alguns óleos essenciais serão testados. Será dada ênfase àqueles que sejam passíveis de serem usados em conjunto com *C. rosea*.

**Palavras-chave:** *Rosa* spp. L., mofo cinzento, extratos vegetais, controle biológico.

## **A história do estudo do controle biológico de doenças de plantas na ESALQ/USP**

**Elke J. B. N. Cardoso**

*USP/ESALQ, CP 9 13418-900, Piracicaba (SP), E-mail: [ejbncard@esalq.usp.br](mailto:ejbncard@esalq.usp.br).*

O controle de doenças causadas por organismos telúricos é especialmente difícil porque a aplicação de fungicidas encontra barreiras metodológicas difíceis de superar ou, ainda, por meio de variedades resistentes, que também é uma tecnologia complexa, custosa e muito demorada. Na ESALQ iniciou-se o estudo do controle biológico da murcha do feijoeiro causada por *Fusarium oxysporum* f.sp. phaseoli, de grande expressão econômica no Brasil. Foram isolados 10 gêneros de fungos do interior de feijoeiros crescidos em solo natural inoculado com o *Fusarium*, mas sem mostrar os sintomas da doença. Este resultado demonstrou eloquentemente o fato de que o interior de plantas, tal como acontece com outros seres, é colonizado pelos mais variados microrganismos, alguns patogênicos, porém muitos outros sem efeito perceptível ou, ainda, agentes de controle biológico. Montaram-se diversos experimentos em casa de vegetação, fazendo-se a inoculação de cada um dos possíveis antagonistas sozinho, do *Fusarium* sozinho e a co-inoculação de ambos. Entre os efeitos observou-se prejuízo na germinação das plantas de feijoeiro quando inoculados com alguns desses isolados em solo esterilizado, a ausência de efeito na presença de alguns desses fungos e uma tendência de controle da doença com alguns poucos isolados antagonistas. Posteriormente iniciou-se o estudo do controle biológico da doença conhecida pelo nome de “Bakanae” do arroz, que é causada por *Fusarium moniliforme* e foi observada pela primeira vez no Brasil em 1966, na região de Lorena/SP. Instalou-se experimento em casa de vegetação, em vasos, utilizando dois tipos de solos. Amostras dos solos foram autoclavadas e a metade foi reinoculada com solo natural. Os tratamentos foram 1 e 4: solo autoclavado; 2: solo autoclavado e reinoculado com solo natural; 3: solo natural. Em todos semeou-se o arroz e os vasos dos tratamentos 1, 2 e 3 foram inoculados com *Fusarium moniliforme*, enquanto o tratamento 4 ficou como testemunha. Em outro experimento com solo natural, solo autoclavado e solo autoclavado reinoculado com solo natural fez-se suplementação com 1% de quitina ou 1% de glicose. Houve efeito de controle biológico na presença de quitina em solo natural e reinoculado com solo natural, mas não em solo esterilizado. A glicose teve efeito prejudicial em todos os tratamentos. Das plantas em solo natural sem sintomas da doença foram recuperados os fungos *Chaetomium*, *Trichoderma* e *Penicillium*. Entretanto, é provável que o controle na presença de quitina tenha sido principalmente por ação dos actinomicetos, pois, num experimento à parte utilizou-se o mesmo solo, incubando-o com quitina, com glicose ou sem aditivo. A contagem de grupos de microrganismos antes e após a incubação mostrou uma grande multiplicação dos actinomicetos apenas onde havia quitina. Na literatura já havia relatos de que a adição de quitina pode diminuir a severidade de várias doenças causadas por *Fusarium* spp.

**Palavras-chave:** *Phaseolus vulgaris* L., *Oryza sativa* L., Fungos fitopatogênicos.

## **Rizobactérias fluorescentes isoladas de um sistema orgânico de produção de hortaliças antagônicas a *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* in vitro**

**Jacqueline F. Carvalho<sup>1</sup>; Anelise Dias<sup>1</sup>, Rafael S. Pacheco<sup>1</sup>, Marcius V. B. Silva<sup>1</sup>, Gustavo R. Xavier<sup>1</sup>, Norma G. Rumjanek<sup>1</sup>, Raul L. D. Ribeiro<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Embrapa Agrobiologia, 23890-000, Seropédica/RJ, E-mail: norma@cnpab.embrapa.br; <sup>2</sup> UFRRJ; 23890-000, Seropédica/RJ

Uma coleção formada por 94 isolados de *Pseudomonas fluorescens* e *P. putida* e 25 isolados de outras espécies de rizobactérias foi obtida da rizosfera de hortaliças: couve (*Brassica oleracea* var. *acephala*), alface (*Lactuca sativa*), salsa (*Petroselinum sativum*) e rúcula (*Eruca sativa*). Essa coleção foi analisada quanto à capacidade antagonística contra o fungo fitopatogênico *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* in vitro. As hortaliças haviam sido cultivadas em um sistema orgânico de produção em Seropédica/RJ. Um isolado virulento de *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, cedido pelo Instituto Agronômico de Campinas, foi crescido em meio BDA por 8 dias a  $28 \pm 2^\circ$  C, retirando-se após a incubação, um disco da colônia com 0,5 cm de diâmetro imediatamente transferido para o centro de uma placa de Petri contendo meio King B. A 2 cm da borda dessa placa foi inoculada cada estirpe bacteriana a ser testada quanto à capacidade antagonística. As placas foram mantidas a  $28 \pm 2^\circ$  C e após 8, 10 e 12 dias foram determinados os tipos de interação entre patógeno e bactéria. Foram verificados três tipos de resposta: (I) ausência de antagonismo, (II) fraco antagonismo, caracterizado pelo crescimento fúngico por toda a placa, porém com desenvolvimento micelial esparso na zona próxima à bactéria e, (III) indicativo de competição definido pela paralisação do crescimento do fungo ao contactar a colônia bacteriana. Nenhuma das estirpes avaliadas foi capaz de induzir a formação de halo de inibição que identifica uma resposta antagonística típica. Aproximadamente 70% dos isolados apresentaram respostas antagonísticas enquadradas nos tipos II e III. As estirpes pertencentes à espécie *P. fluorescens* apresentaram o maior percentual de antagonismo ao fungo, sendo que 18 delas mostraram atividade competitiva do tipo III de um total de 22 estirpes. Resposta do tipo II foi encontrada apenas em estirpes identificadas como *P. fluorescens* e *P. putida*.

**Palavras-chave:** antagonismo, *Fusarium oxysporum*, pseudomonas, controle biológico.

Pigmentos à base de polímeros podem fixar maior quantidade de conídios de *Trichoderma asperellum* em sementes de soja?

**Bruno L. Chagas<sup>1</sup>; Rodrigo G. Santos<sup>1,2</sup>; Alan W. V. Pomella<sup>1,2</sup>, A.W.V.;**

<sup>1</sup>UNIPAM, E-mail: bruno7979@hotmail.com; <sup>2</sup>Laboratório de Biocontrole Farroupilha, Av. Cica 555, 38706-000, Patos de Minas/MG; E-mail: alan@sementesfarroupilha.com.br

A utilização de corantes à base de polímeros no tratamento de sementes tem como principal função diferenciar aquelas tratadas das não tratadas, além de ajudar a fixação de agrotóxicos. O objetivo desse trabalho foi avaliar o aumento de fixação de conídios de *Trichoderma asperellum* em sementes de soja, com a utilização de corantes à base de polímeros. Foi verificado também a resposta de plantas aos tratamentos no estágio inicial de seu desenvolvimento. A primeira fase contou com 5 tratamentos onde 4 polímeros foram avaliados em conjunto com uma suspensão de *T. asperellum* na concentração de  $2,3 \times 10^9$  esporos/mL. A testemunha recebeu apenas o tratamento com o fungo. Após secar por uma 1 hora, retirou-se 10 sementes de cada tratamento, adicionou-se 10 mL de água, agitou-se por 5 segundos e fez-se a primeira contagem das suspensões em câmara de Neubauer. A suspensão líquida foi retirada do tubo e as sementes secadas a temperatura ambiente por 1 hora sobre papel filtro. O mesmo processo foi repetido para a segunda e terceira contagens, a cada contagem as sementes foram agitadas por 60 segundos. Ao final, as mesmas foram colocadas sobre BDA 1/5 para avaliação da germinação dos conídios. Na segunda fase, as sementes foram tratadas de forma semelhante e em seguida plantadas em casa de vegetação em delineamento de blocos ao acaso com 4 repetições. Aos 20 DAP, foi obtido o peso das raízes e o da parte aérea de 3 plantas de cada parcela. Os resultados indicaram que com relação a fixação dos conídios, o tratamento com o corante Blue se diferiu dos demais com 61% mais esporos do que aquele somente com o *T. asperellum*. Nenhum corante prejudicou a germinação dos esporos do fungo. O presente ensaio mostrou que o uso de pigmentos a base de polímeros podem fixar maior número de esporos nas sementes de soja. No entanto, há necessidade de mais estudos visando respostas na planta.

## **Promoção da germinação *in vitro* de sementes de *Casearia sylvestris* por metabólitos de *Trichoderma***

**Evandro Q. Cherer, Karla G. Ribas, Solange B. Tedesco, Antonio C. F. da Silva**

*UFSM, Av. Roraima, nº 1000, Cidade Universitária, Santa Maria/RS, 97105-900, Email: [acfsilva@smail.ufsm.br](mailto:acfsilva@smail.ufsm.br)*

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de metabólitos produzidos pelos isolados TSM2 de *Trichoderma viride*, e dos isolados 2B2 e 2B22 de *Trichoderma harzianum* na germinação de sementes da espécie medicinal *Casearia sylvestris* (Carvalhinho), visando a conservação e utilização sustentável, pois algumas populações desta espécie possuem baixa taxa de germinação de sementes. O teste de germinação de sementes foi realizado em germinador, com temperatura constante de 25°C e 12 h de luz, constando de três tratamentos para cada um dos isolados de *Trichoderma* e um tratamento com o método de esterilização das sementes em hipoclorito de sódio 2 % (controle). Foi utilizado o método do papel celofane, onde foram colocadas membranas de papel celofane em placas de Petri contendo meio BDA. Discos contendo micélio e esporos de cada isolado foram transferidos para o centro das placas, nenhum disco foi transferido para o tratamento controle. As membranas foram retiradas após três dias, e 20 sementes foram transferidas para cada placa nos tratamentos (5 repetições). Foi verificada baixa porcentagem de germinação das sementes para todos os tratamentos. Observou-se uma maior porcentagem de germinação das sementes de *Casearia sylvestris* para o tratamento contendo metabólitos do isolado de *Trichoderma harzianum* 2B22 (7%) em comparação ao tratamento controle com hipoclorito (4 %). Futuros experimentos devem ser realizados para resolver o problema de contaminação com a utilização do método do papel celofane. Nas condições em que foram realizados estes experimentos, observou-se uma maior promoção da germinação de sementes de *Casearia sylvestris* para o tratamento contendo metabólitos de *Trichoderma harzianum* 2B22.

**Palavras-chaves:** planta medicinal, carvalhinho, promoção de germinação.

## **Efecto del extracto de ajo sobre la germinación de esclerocios de *Sclerotium cepivorum* en condiciones de campo**

**Conles, M., E.I. Lucini, E. Argüello, MP, Zunino, V. Yossen, J.A. Zygodlo**

FCA. UNC. E-mail: [eilucini@agro.uncor.edu](mailto:eilucini@agro.uncor.edu).

*Sclerotium cepivorum* es el agente causal de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla, enfermedad responsable de importantes pérdidas económicas en la producción del ajo en la Provincia de Córdoba (Argentina). La estructura reproductiva de resistencia de *S. cepivorum* son los esclerocios, los que pueden permanecer viables en suelo por periodos de hasta 20 años, siendo resistentes a fungicidas sintéticos y orgánicos. La incorporación en suelo de diversos compuestos derivados del ajo estimulan la germinación de los esclerocios, pudiendo eliminar o reducir su población. Con la finalidad de buscar diferentes técnicas de control para incorporar al manejo de la enfermedad se planteó el objetivo de investigar el efecto del extracto acuoso de ajo sobre la germinación de los esclerocios de *S. cepivorum* en condiciones de campo. El extracto de ajo se obtuvo por arrastre de vapor. En bolsas de tela de poliéster se colocaron 30 g de suelo, mas 50 esclerocios y 10 mL de extracto de ajo. Las bolsas se enterraron en una parcela y el suelo se mantuvo a capacidad de campo. El extracto de ajo se agregó cada 15 días. Los tratamientos fueron control, con dos aplicaciones de extracto (a) y con tres aplicaciones de extracto (b). Los datos se tomaron a los 60 y 90 días de la última aplicación. Se evaluó el número de esclerocios recuperados vivos. Se realizaron 3 repeticiones para cada tratamiento y los resultados fueron analizados mediante un modelo de Análisis de Varianza para un diseño en bloques. A los 60 días se observó que el tratamiento (a) mostró una reducción alrededor de un 50% en el número de esclerocios vivos, mientras que el tratamiento (b) mostró un reducción cercana al 90%. La reducción en el número de inóculo viable permite reducir las pérdidas del cultivo.

## **Espectro de ação de isolados bacterianos no biocontrole do crestamento bacteriano comum a partir da microbiolização de sementes de feijão.**

**Bianca O. Corrêa, Andréa B. Moura, Vanessa N. Soares, Juliane Ludwig**

*UFPE; Pelotas/RS. [bianca.obescorrea@yahoo.com.br](mailto:bianca.obescorrea@yahoo.com.br); [abmoura@ufpel.tche.br](mailto:abmoura@ufpel.tche.br).*

O crestamento bacteriano comum (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*) (Xap) é uma das doenças bacterianas mais importantes para a cultura do feijão. As perdas acarretadas por esse patógeno podem alcançar até 45%. Visando ao controle da doença, sementes foram microbiolizadas com suspensões dos isolados DFs093 (*Bacillus* sp), DFs513 (*Pseudomonas veronii*), DFs769 (*Bacillus cereus*), DFs831 e DFs842 (*Pseudomonas fluorescens*), DFs843 e DFs912 (*Rhodococcus fascians*) e das combinações M01 (DFs093+769+831), M02 (DFs093+769+842) e M03 (DFs769+831+348) com solução salina (NaCl 0,85%) na concentração de OD<sub>540</sub>=0,5 em agitação (10°C/5 horas). Como testemunhas foram utilizadas sementes imersas em solução salina. Primeiramente os tratamentos foram testados contra 16 estirpes de Xap. Para tanto, folhas cotiledonares foram destacadas e inoculadas por incisão com suspensão de cada estirpe do patógeno (OD<sub>540</sub>=0,2), sendo avaliadas quanto a incidência e severidade após 2, 4, 6, 8 e 10 dias. Os mesmos biocontroladores foram testados microbiolizando sementes de 23 cultivares de feijão, quando folhas cotiledonares e trifolioladas foram inoculadas, com o isolado patogênico Xap28 e avaliadas conforme descrito anteriormente. Os tratamentos apresentaram amplo espectro de ação tanto para o controle de diferentes estirpes proporcionando reduções de 80, 78 e 94% da severidade, incidência e índice da doença, respectivamente. A combinação M01 apresentou atividade biocontroladora de maior espectro, sendo efetiva contra todas as estirpes testadas, bem como apresentando maior média geral de controle. A combinação M01 seguida dos isolados DFs831, DFs912 e DFs842 foram os que apresentaram maior espectro de ação sobre as cultivares, para os dois estádios de desenvolvimento das folhas. As cultivares que apresentaram as melhores médias de controle, considerando os dois estádios vegetativos, foram Guateian 6662, carioca, IAPAR 31, Chocolates com 43,8; 39,6; 38,5 e 33,2%, respectivamente. Foi possível observar aumento do controle nas folhas trifolioladas em relação às cotiledonares. De modo geral, os tratamentos com DFs831 e a combinação M01 foram os que proporcionaram os melhores resultados tanto com relação às diferentes estirpes quanto para as cultivares. O(s) isolado(s) e combinação (ões) que possuem amplo espectro de ação quando desafiados por diferentes estirpes do patógeno e ou quando utilizados para microbiolizar diferentes cultivares de feijão apresentam alto potencial, pois, as chances de proporcionarem resultados consistentes em diversas situações são ampliadas.

## Controle da podridão de raiz e promoção de crescimento em alface hidropônica com bactérias Gram positivas.

Elida B. Correa<sup>1</sup>; Wagner Bettioli<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>FCA/UNESP, CP 237, 13610-307, Botucatu, SP; <sup>2</sup>Embrapa Meio Ambiente, CP 69, 13820-000, Jaguariúna/SP. E-mail: bettioli@cnpma.embrapa.br

O objetivo do trabalho foi avaliar o potencial de *Bacillus subtilis* e de *Paenibacillus lentimorbus* no controle da podridão de raiz causada por *Pythium aphanidermatum* e na promoção de crescimento de plantas de alface hidropônica. O controle foi avaliado adicionando-se nos tanques de solução nutritiva, meio de cultura fermentado ou não pelas bactérias na concentração de 1%, dois dias antes e quatro dias após a inoculação das plantas. As plantas foram inoculadas artificialmente e naturalmente. A inoculação artificial foi realizada mergulhando-se as raízes das plantas em suspensão de  $1 \times 10^4$  zoósporos/mL por 30 minutos, sendo que a inoculação natural foi realizada por meio do fornecimento de inóculo das plantas inoculadas artificialmente. A promoção de crescimento foi avaliada adicionando-se diferentes concentrações de meio de cultura (0, 0,1%, 1% e 10%) fermentado ou não pelas bactérias nos tanques de solução nutritiva e por meio da adição de diferentes concentrações de células de *B. subtilis* (0,  $10^4$ ,  $10^5$  e  $10^6$  /mL de solução nutritiva). O delineamento foi em dois blocos casualizados, em que cada parcela experimental foi constituída por 20 plantas. *P. lentimorbus* e *B. subtilis* diminuíram a % de recuperação do patógeno das raízes das plantas inoculadas artificialmente em 67% e 17%, respectivamente. Nas plantas naturalmente inoculadas a diminuição foi de 100% e 40%, respectivamente. O tratamento testemunha inoculada apresentou menor desenvolvimento das plantas, quando comparado aos demais tratamentos. Os tratamentos com as bactérias apresentaram maior massa fresca da parte aérea das plantas inoculadas artificialmente, e *P. lentimorbus* proporcionou o maior desenvolvimento das plantas inoculadas naturalmente. A adição de *B. subtilis* nas concentrações de 0,1% e 1% de meio de cultura fermentado, e de  $10^4$  células/mL de solução nutritiva incrementou o desenvolvimento das plantas. A promoção de crescimento das plantas não foi verificada com a adição de *P. lentimorbus* na solução nutritiva. A concentração de 10% do meio de cultura não fermentado pelas bactérias ou fermentado por *B. subtilis* reduziu o desenvolvimento das plantas. Conclui-se que a utilização de bactérias Gram positivas é uma promissora medida para o controle da podridão de raiz causada por *P. aphanidermatum* e para o incremento vegetal de alface hidropônica.

## **Seleção de actinobactérias de manguezais para o controle da podridão de raiz causada por *Pythium aphanidermatum* em plântulas de pepino e de alface**

Elida B. Correa<sup>1</sup>, Wagner Bettioli<sup>2</sup>

<sup>1</sup>FCA/UNESP, CP 237, 13610-307, Botucatu/SP, <sup>2</sup>Embrapa Meio Ambiente, CP 69, 13820-000, Jaguariúna/SP, E-mail: bettioli@cnpma.embrapa.br.

O objetivo do trabalho foi estudar a capacidade de actinobactérias isoladas de manguezais no controle da podridão de raiz causada por *Pythium aphanidermatum* em plântulas de pepino 'Safira' e alface 'Vera'. As plântulas, com três dias de idade, foram transferidas para frascos de vidro de 20 ml contendo 15 ml de solução nutritiva (1,1mS/ml) e acondicionadas em câmara de crescimento com fotoperíodo de 12h a 28°C ± 1°C. Os isolados de actinobactérias (AERC-1; MSC330; MSC334; MSC463; AMC41; 22B; R-2-17; A-2-3; L-3-28A; MGE7) foram introduzidos na concentração de 10<sup>6</sup> células/mL de solução nutritiva, quatro dias após o transplante. A inoculação de *P. aphanidermatum* (4x10<sup>3</sup> zoósporos/mL de solução nutritiva) foi realizada dois dias após a introdução das actinobactérias. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com dez repetições. A avaliação da morte das plântulas foi realizada durante 20 dias e no final desse período foi re-isolado o patógeno das raízes. Para os dois hospedeiros a sobrevivência das plântulas foi de: 100% na testemunha não inoculada. A sobrevivência de plântulas foi de 100% para os isolados AMC41 e MGE7 em pepino, sendo o re-isolamento do patógeno positivo em todos os tratamentos, com exceção da testemunha não inoculada. Em plântulas de alface a sobrevivência foi de: 100% para os isolados L-3-28A, MSC330; 22B; R-2-17 e MSC463. O re-isolamento do patógeno nas raízes de alface foi de 70% para o isolado L-3-28A e acima de 80% nos demais tratamentos, com exceção da testemunha não inoculada. Conclui-se que os isolados MGE7 e AMC41 são promissores agentes de biocontrole da podridão de raiz em pepino, e o isolado L-3-28A para alface. Esses isolados serão testados em condições hidropônicas no sistema NFT (técnica de fluxo laminar).

## **Controle biológico do mofo cinzento do morangueiro por *Clonostachys rosea* em condições de campo**

**Luciano V. Cota, Luiz A. Maffia, Paulo E. Macedo, Ricardo Antunes, Eduardo S. G. Mizubuti**

UFV, Viçosa/MG, 36570-000, E-mail: [lamaffia@ufv.br](mailto:lamaffia@ufv.br)

O mofo cinzento, causado por *Botrytis cinerea* (Bc), é uma das principais doenças do morangueiro. Como o controle desta doença é difícil, há muito se estuda o controle biológico como componente de manejo. Como parte de um programa de controle biológico, nesse trabalho avaliou-se o controle biológico de Bc por *Clonostachys rosea* (Cr) em condições de campo. Testou-se a eficiência de quatro isolados do antagonista (com uma ou duas aplicações semanais), um tratamento com fungicida (procymidone alternado semanalmente com captan) e uma testemunha, em que se aplicou água. Os experimentos foram conduzidos em 2006 e 2007, em delineamento em blocos ao acaso, com quatro repetições. Semanalmente, avaliaram-se: colonização foliar por Cr (CF), número médio de conidióforos de Bc em folhas (NMC), incidência de Bc em flores (IFlor) e em frutos (IFrutos), produção (Prod) e incidência de infecções latentes de Bc em frutos (IL). Em ambos os anos, a CF foi maior quando se aplicou o antagonista duas vezes por semana. O NMC foi maior na testemunha e menor com aplicação de Cr duas vezes por semana. A IFlor foi menor com a aplicação de Cr duas vezes por semana e similar com a aplicação semanal de Cr e o tratamento com fungicida. A IFrutos foi maior na testemunha (20 a 30%) e menor com aplicação de Cr duas vezes por semana (3 a 10%). A Prod média por parcela variou entre 1,74 e 1,91 kg na testemunha, entre 2,47 e 2,64kg com a aplicação semanal de Cr, entre 2,66 a 3,34 kg com a aplicação de fungicida e entre 3,49 e 3,75 kg com a aplicação de Cr duas vezes por semana. A IL foi maior na testemunha (20%) e inferior a 10% nos demais tratamentos. O antagonista foi mais eficiente que os fungicidas testados no controle do mofo cinzento. Em programas de manejo da doença, deve-se priorizar maior número de aplicações de Cr, visto os melhores resultados obtidos com a aplicação do antagonista duas vezes por semana.

**Palavras-chave:** *Botrytis cinerea*, *Gliocladium roseum*, *Fragaria x ananassa*.

## **Utilização de leveduras epífitas para o controle de *Lasiodiplodia theobromae* in vitro**

**Thiago M. L. Cruz; Jameson G. Silva; Maria N. G. Pessoa; Rafaela P. Melo; Isabela O. Lima, Keniesd M. Sampaio**

UFC - CP 12168, Fortaleza/CE, E-mail: [thiagomaykel@yahoo.com.br](mailto:thiagomaykel@yahoo.com.br)

Leveduras isoladas da superfície de órgãos de algumas plantas são promissoras no controle de vários fungos, principalmente os que ocorrem em pós-colheita. No presente estudo objetivou-se avaliar a ação antagonística de leveduras epífitas, obtidas de folhas de nim (*Azadirachta indica*) contra *L. theobromae*, um dos fungos mais prevalentes em frutíferas cultivadas no Estado do Ceará. O potencial antagonístico de 17 isolados de leveduras foi determinado através do percentual de inibição de do patógeno *in vitro*. As colônias utilizadas para preparo da suspensão das leveduras foram cultivadas em meio ¼ BDA, após 3 repicagens sucessivas a cada 24 h. Empregou-se o método do funil, usando-se um funil de vidro de 7 cm de boca, imerso nas suspensões de leveduras e depositados em placas de Petri contendo BDA. Vinte e quatro horas após o plaqueamento dos antagonistas foram transferidos discos de ágar contendo estruturas de *Lasiodiplodia*, no centro de cada placa e incubou-se durante 7 dias a  $27 \pm 2$  °C e fotoperíodo de 12 h. Cada tratamento foi constituído de 5 repetições mais a testemunha, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado. A avaliação foi efetuada sete dias após incubação, determinando-se o percentual de inibição do patógeno em relação à testemunha. Verificou-se que os isolados mais eficientes foram FN 8 e FN 9, com 61 % e 60 % de inibição, respectivamente, seguidos dos isolados FN 6 (48 %) e FN 15 (44 %). Conclui-se que os isolados de leveduras, são promissores no controle do patógeno, podendo ser utilizados para futuras formulações produzidas em escala comercial.

**Palavras-chave:** antagonismo, controle biológico, *Lasiodiplodia theobromae*.

## **Atividade antagônica de *Trichoderma* e controle de *Lasiodiplodia theobromae*, *Fusarium oxysporum* e *Botrytis cinerea* *in vitro*.**

**Thiago M. L. Cruz; Jameson G. Silva; Maria N. G. Pessoa; Rafaela P. Melo; Isabela O. Lima, Keniesd M. Sampaio**

UFC; CP 12168, Fortaleza/CE, E-mail: [thiagomaykel@yahoo.com.br](mailto:thiagomaykel@yahoo.com.br)

*Trichoderma* controla diversos fungos fitopatogênicos, o que leva à sua utilização em formulações que são comercializadas para o controle de doenças em plantas ocasionadas por patógenos de solo ou de pós-colheita. Objetivou-se nesse estudo avaliar a ação antagonística de *Trichoderma* sp, isolado de sementes de feijão caupí, contra *Lasiodiplodia theobromae*, *Botrytis cinerea* e *Fusarium oxysporum* *in vitro*. Os ensaios foram conduzidos pelo emprego do método de culturas pareadas, realizando-se uma avaliação da percentagem de inibição dos patógenos 9 dias após o pareamento em placas de Petri contendo meio BDA. A sobrevivência destes fungos foi avaliada aos 14 dias após incubação, através da obtenção de 10 discos de ágar de 6 mm de diâmetro, removidos das áreas dos respectivos patógenos e transferência destes para placas de Petri contendo BDA, utilizando-se 10 discos/patógeno, distribuídos em grupos de dois, colocados em lados opostos de uma mesma placa, incubados durante 7 dias a  $27 \pm 2$  °C e fotoperíodo de 12 h. Cada tratamento foi constituído de 5 repetições mais a testemunha, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado. A avaliação da ação antagonista foi efetuada nove dias após incubação pela determinação do percentual de inibição e demonstrou a eficiência de *Trichoderma* no controle dos patógenos, sendo a maior inibição verificada para *B. cinerea* (70 %), seguido de *L. theobromae* (55 %) e *F. oxysporum* (49 %). No teste de sobrevivência verificou-se que o único patógeno que sobreviveu foi *F. oxysporum*, e mesmo assim em uma percentagem baixa, apenas 10 %. Os resultados apresentados demonstram a existência de mecanismos de ação que podem ser atribuídos à atividade competitiva e uma possível ação de hiperparasitismo e/ou antibiose, mecanismos estes ainda em fase de avaliação.

**Palavras-chave:** *Trichoderma* sp, antagonismo, controle biológico, *Fusarium oxysporum*, *Lasiodiplodia theobromae* e *Botrytis cinerea*.

## **Viabilidade da associação de extrato vegetal e bioprotetor**

**Miria R. Durigon; Simone C. Brand; Emanuele Junges; Clarice G. Manzoni; Paola Milanesi; Marlove F. B. Muniz; Elena Blume; Maria N. D. Weber.**

*UFSM, Cidade Universitária, Santa Maria/RS; 97105-900. E-mail: elenablu@gmail.com.*

Com o avanço dos sistemas orgânicos no cultivo de plantas, vem aumentando o interesse por novas práticas que substituam os fungicidas tradicionais. Nesse sentido, os extratos vegetais adquirem papel importante, sendo que inúmeras propriedades antimicrobianas foram comprovadas nas mais diversas plantas. O fungo *Trichoderma* sp. possui ação antifúngica e antimicrobiana e sua eficácia foi confirmada em diversos casos. O presente experimento foi conduzido com o objetivo de avaliar o efeito do extrato aquoso de urtiga (*Urtica dioica*) no crescimento micelial de *Trichoderma* sp., analisando a possibilidade do uso simultâneo desses dois métodos de controle de doenças de plantas. O extrato aquoso à base de urtiga foi incorporado ao meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) nas concentrações de 0, 5, 10, 15, 20, 25 e 30%. Discos de BDA contendo micélio do fungo foram adicionados ao meio de cultura. As avaliações foram realizadas 24, 48, 72 e 96 h após a instalação do experimento, medindo-se as colônias do fungo. A maior inibição (em torno de 20%) no crescimento de *Trichoderma* foi observada na concentração de 20% de extrato de urtiga em todos os tempos avaliados, especialmente nas primeiras 72h. Inibições menores foram observadas nas demais concentrações, tendendo a diminuir após 96h de contato, indicando uma possível adaptação do fungo ao produto com o tempo. Para as concentrações menores que 20%, observou-se um favorecimento no crescimento do fungo em até 5%, variando com o tempo de exposição. O uso simultâneo de extratos vegetais e de *Trichoderma* no controle de doenças deve ser objeto de mais estudos.

## Sanidade de sementes de cenoura submetidas a tratamentos com biopreparados

Miria R. Durigon; Simone C. Brand; Paola Milanesi; Marlove F. B. Muniz; Elena Blume; Maria N. D. Weber

<sup>1</sup>UFMS, Cidade Universitária, Santa Maria/RS. 97105-900. E-mail: elenablu@gmail.com.

Diversos produtos à base de *Trichoderma* são comercializados para uso em substrato de produção de mudas e/ou tratamento de sementes. O presente experimento busca testar biopreparados de *Trichoderma* sp., na sanidade de sementes de cenoura, em condições controladas. As sementes de cenoura foram tratadas com Trichodel<sup>®</sup> e Agrotrich<sup>®</sup>, produtos que contém linhagens de *Trichoderma* sp., além de um produto formulado com um isolado de *Trichoderma* sp. e também uma testemunha. A semeadura foi realizada em gerbox com papel filtro, ambos esterilizados, sendo utilizadas 4 repetições de 50 sementes por tratamento. O método utilizado foi o de papel filtro com congelamento, a fim de inibir a germinação, e as gerbox foram mantidas em câmara climatizada. Após 7 dias procedeu-se à avaliação quanto a presença de fungos. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, sendo os dados transformados em percentual de incidência, submetidos ao teste de Tukey a 5 % de probabilidade para comparação de médias. No tratamento testemunha, as sementes apresentaram baixa incidência de fungos. A incidência de *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp. e *Gonatotryps* sp. não diferiram estatisticamente entre os tratamentos. No tratamento utilizando o Agrotrich<sup>®</sup> houve incidência apenas de *Trichoderma* sp. o que demonstra sua capacidade de sobrevivência, mesmo em condições artificiais. O tratamento que utilizou o Trichodel<sup>®</sup> e o tratamento com o isolado de *Trichoderma* apresentaram elevada incidência de *Trichoderma* sp. O tratamento com o Trichodel<sup>®</sup> apresentou as maiores incidências de *Penicillium* sp. e *Aspergillus* sp. Os tratamentos com Agrotrich<sup>®</sup> e o isolado de *Trichoderma* sp. demonstraram que *Trichoderma* apresenta capacidade de sobrevivência, possibilitando assim a colonização do solo e, conseqüentemente, apresentando-se como importante agente de controle biológico. O Trichodel<sup>®</sup> não foi eficiente no tratamento de sementes de cenoura.

**Palavras-chave:** *Daucus carota* L., *Trichoderma* sp., tratamento de sementes.

## **Avaliação *in vitro* de óleos essenciais para o controle de *Thanatephorus cucumeris*, agente causal da mela do feijoeiro**

**Cléber de F. Fernandes; Maurício R. A. Santos; José Roberto V. Júnior; Antonieta A. Andrade; Talita C. J. Santana; Andrina G. Silva; Renato A. Lima; Domingos S. G. Silva; Valdir A. Facundo**

*Embrapa Rondônia, C.P. 406, 78900-970, Porto Velho/RO. E-mail: cleberon@cpafro.embrapa.br.*

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*) constitui uma das principais leguminosas cultivadas no Brasil, especialmente na Região Norte, onde é largamente utilizada como fonte alimentar, sendo rico em ferro, proteínas e carboidratos, especialmente em cultivos de subsistência, dentro da agricultura familiar. Entretanto, esta cultura enfrenta diversos fatores que afetam a qualidade e/ou quantidade dos grãos produzidos, onde pode-se destacar o ataque de doenças, notadamente da mela do feijoeiro, causada pelo fungo *Thanatephorus cucumeris*, responsável por perdas consideráveis na produção desta cultura. O presente trabalho visou testar diferentes óleos essenciais para o controle da mela, buscando assim, reduzir o uso de agrotóxicos, os quais são responsáveis por grande número de intoxicações de agricultores bem como consumidores, além de causarem danos ao ambiente. Para tanto, óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Hedychium coronarium* e *Piper marginatum*, extraídos por meio de um sistema de arraste a vapor, foram testados contra o fungo. Para isto, discos de 5 mm de diâmetro de cultura do isolado do fungo foram colocados no centro de placas de Petri contendo meio BDA, sendo que, na área periférica das placas, foram dispostos simetricamente quatro discos de papel de filtro, cada um com 10 µL do óleo essencial avaliado. Como controle, utilizou-se discos sem o óleo essencial. O delineamento foi inteiramente casualizado, com três repetições (placas) por tratamento. Avaliou-se o crescimento dos fungos, a cada 24 horas, durante oito dias, medindo-se o diâmetro das colônias. Total inibição do crescimento fúngico foi observada para *Cymbopogon nardus* e *Piper marginatum*, enquanto que para *Hedychium coronarium* observou-se formação de halos de inibição, com diâmetro médio de 11,86 mm. No controle, o diâmetro médio foi de 80 mm. Os resultados obtidos sugerem o potencial dos óleos essenciais testados no controle deste fitopatógeno.

**Palavras-chave:** *Phaseolus vulgaris* L., Mela do feijoeiro, Citronela, Lírio-do-brejo, Elixir paregórico, Controle biológico, *Rhizoctonia solani*, Teia micélica.

## **Efeito de compostos voláteis de extratos de *Piper hispidum* e *P. tuberculatum* sobre fitopatógenos de solo**

**Cléberson de F. Fernandes; José Roberto V. Júnior; Maurício R. A. Santos; Andrina G. Silva; Arêssa O. Correa; Domingos S. G. Silva; Valdir A. Facundo**

*Embrapa Rondônia, CP. 406, 78900-970, Porto Velho, RO, E-mail: [cleberon@cpafro.embrapa.br](mailto:cleberon@cpafro.embrapa.br).*

O uso de extratos de plantas para o controle de doenças de plantas é uma alternativa interessante em face do uso indiscriminado de agrotóxicos nas lavouras. Esses produtos têm amplo espectro e baixo nível de toxicidade ambiental. Neste trabalho foi determinado o efeito de compostos voláteis produzidos a partir de extratos alcoólicos obtidos por arraste de vapor de plantas de *Piper hispidum* e *Piper tuberculatum*. Para tanto, discos de micélio de 0,5 cm de diâmetro de *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *musae* e *Colletotrichum gloeosporioides* foram depositados no fundo de placas de Petri contendo meio de cultura BDA. Na tampa da placa foi fixado um disco de papel de filtro ao qual se dispensou 10µL do extrato. Foram usadas doses de extrato concentrado e diluído à metade da concentração do extrato bruto. Como controle utilizou-se discos embebidos em água mineral esterilizada. As tampas foram seladas com parafilme e levadas à incubadora tipo B.O.D. por uma semana. As avaliações do crescimento micelial foram feitas diariamente, por meio da medição do diâmetro médio das colônias. Para cada tratamento foram usadas quatro repetições, num delineamento inteiramente casualizado. Os compostos voláteis produzidos não foram capazes de inibir por completo o crescimento micelial dos fungos avaliados. Foi possível observar que ambos os extratos apresentam efeito fungistático sobre os diferentes patógenos testados, quando comparados com o tratamento controle. Esse processo de retardamento do crescimento é interessante do ponto de vista de tratamentos de substratos, onde o produto não produziria um vácuo biológico no ambiente apenas dando tempo suficiente à planta de se desenvolver e ser capaz de escapar ao ataque do patógenos em estádios de crescimento mais vulneráveis da planta.

**Palavras-chave:** óleos essenciais, *Colletotrichum gloeosporioides*, tratamento de substrato; *Rhizoctonia solani*; *Sclerotium rolfsii*; *Fusarium oxysporum*

## **Ensaio de contato direto de extratos de *Piper hispidum* e *P. tuberculatum* sobre fitopatógenos de solo**

**Cléber de F. Fernandes; José Roberto V. Júnior; Maurício R. A. Santos; Andrina G. Silva; Arêssa O. Correa; Domingos S. G. Silva; Valdir A. Facundo**

*Embrapa Rondônia, CP 406, 78900-970, Porto Velho, RO, E-mail: [cleberon@cpafro.embrapa.br](mailto:cleberon@cpafro.embrapa.br).*

Os extratos de plantas podem substituir o uso de fungicidas para o controle de doenças. Neste trabalho foi determinado o efeito de extratos alcoólicos obtidos por arraste de vapor de plantas de *Piper hispidum* e *Piper tuberculatum* sobre o crescimento de diferentes fitopatógenos de solo. Para tanto, discos de micélio de 0,5 cm de diâmetro de *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *musae* e *Colletotrichum gloeosporioides* foram depositados no fundo de placas de Petri contendo meio de cultura BDA semi-sólido. Equidistantemente do disco de micélio, foram feitas quatro perfurações no meio de cultura, deixando cavidades abertas. Em cada uma das cavidades, os tratamentos utilizados foram: a) 10 µL do extrato de *P. hispidum* ou *P. tuberculatum*; b) 10 µL de extrato diluído à metade da concentração do extrato bruto; c) 10 µL do fungicida Benomyl (0,6 g/L) e; d) 10 µL de água mineral esterilizada. As placas foram seladas com parafilme e levadas à incubadora por uma semana. As avaliações do crescimento micelial foram feitas diariamente, por meio da medição do diâmetro médio das colônias. Avaliou-se também, se formado, o diâmetro do halo de inibição do fungo. Para cada tratamento foram usadas quatro repetições, num delimitamento inteiramente casualizado. Os compostos voláteis produzidos não foram capazes de inibir por completo o crescimento micelial dos fungos avaliados. Os dois extratos apresentaram efeito fungistático sobre os diferentes patógenos testados, quando comparados com o tratamento controle. O extrato de *P. hispidum* apresentou efeito de controle semelhante ao fungicida. No caso de *P. tuberculatum*, embora o controle tenha sido observado, a eficiência do extrato foi inferior ao tratamento com o fungicida comercial. O uso de *P. hispidum* e *P. tuberculatum*, via irrigação do substrato ou através de fumigação, pode ser uma alternativa viável. Entretanto, mais ensaios precisam ser realizados para comprovar os efeitos benéficos dos mesmos extratos.

**Palavras-chave:** óleos essenciais, *Colletotrichum gloeosporioides*, tratamento de substrato; *Rhizoctonia solani*; *Sclerotium rolfsii*; *Fusarium oxysporum*

## **Avaliação *in vitro* de óleos essenciais para o controle de *Fusarium oxysporum*, agente causal do mal-do panamá**

**Cléber de F. Fernandes; Maurício R. A. Santos; José Roberto V. Júnior; Antonieta A. Andrade; Talita C. J. Santana; Andrina G. Silva; Renato A. Lima; Domingos S. G. Silva; Valdir A. Facundo.**

*Embrapa Rondônia, CP 406, 78900-970, Porto Velho, RO, E-mail: cleberon@cprofro.embrapa.br*

A banana é uma das frutas mais produzidas no mundo, sendo o Brasil o principal produtor mundial. Em Rondônia, a banana ocupa lugar de destaque, apresentando-se como uma das principais fruteiras cultivadas. Assim como ocorre com a maioria das culturas, a bananeira também é atacada por diversas pragas e doenças. Dentre estas, podemos destacar o mal-do panamá, causado pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *musae*, o qual é responsável por perdas consideráveis na produção desta cultura, notadamente para a banana Maçã. O presente trabalho testou diferentes óleos essenciais para o controle do mal-do panamá. Para tanto, óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Hedychium coronarium* e *Piper marginatum*, extraídos por meio de um sistema de arraste a vapor, foram testados contra o fungo. Para isto, discos de 5 mm de diâmetro de cultura do isolado do fungo foram colocados no centro de placas de Petri contendo meio BDA, sendo que, na área periférica das placas, foram dispostos simetricamente quatro discos de papel de filtro, cada um com 10 µL do óleo essencial avaliado. Como controle, utilizou-se discos sem o óleo essencial. O delineamento foi inteiramente casualizado, com três repetições (placas) por tratamento. Avaliou-se o crescimento dos fungos, a cada 24 horas, durante oito dias, medindo-se o diâmetro das colônias. Inibição do crescimento fúngico foi observada para *C. nardus*, *H. coronarium* e *P. marginatum*, com colônias apresentando diâmetros médios de 5, 37,4 e 25,5 mm, respectivamente. No controle, o diâmetro médio foi de 72,1 mm. Os resultados sugerem o potencial dos óleos essenciais testados no controle biológico deste microrganismo.

**Palavras-chave:** *Musa sp.*, Mal-do-panamá, Citronela, Lírio-do-brejo, Elixir paregórico, Controle biológico.

Inviabilização de *Sclerotinia sclerotiorum* em presença de nitrogênio e matéria orgânica no solo

Leila C. L. Ferraz<sup>1</sup>; George Lazarovits<sup>2</sup>; Nilton L. Souza<sup>1</sup>; Armando Bergamin Filho<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>FCA/UNESP- Botucatu/SP, E-mail:leilouback@pesquisador.cnpq.br. <sup>2</sup>Agriculture and Agri-food Canada, 1391 Sandford Street, London, Ontário, Canadá, E-mail: lazarovitsg@agr.gc.ca, <sup>3</sup>ESALQ/USP, Piracicaba/SP.

A adição de resíduos orgânicos pode auxiliar na redução da viabilidade de patógenos veiculados pelo solo, pois ao aplicar energia através de resíduos orgânicos ricos serão alteradas as comunidades de microrganismos do solo, e vários mecanismos podem estar associados com a redução destes patógenos, como o aumento da concentração da amônia, do ácido nitroso, de ácidos graxos voláteis, e de agentes potenciais de controle biológico. Os resultados obtidos neste projeto puderam elucidar alguns mecanismos associados a redução da viabilidade de escleródios visando ao controle de *Sclerotinia sclerotiorum* através do uso de matéria orgânica e de fertilizante sintético, rico em nitrogênio, isoladamente e na simulação da solarização do solo. Também, observou-se quanto à viabilidade dos escleródios da interação do contato direto destes com o tratamento (no solo), e a interação indireta do tratamento com os escleródios localizados na parte aérea dentro do recipiente (no ar), para tentar observar a presença de elementos gasosos. Os tratamentos foram comparados quanto à composição química dos fatores: pH e formação de amônia ( $\text{NH}_3^+$ ) e amônio ( $\text{NH}_4^-$ ), que podem ter sido alterados durante a realização deste ensaio. Todos os fatores foram avaliados nas datas de coleta aos 4, 14 e 28 dias após o período de incubação. Observou-se que, independente do período de incubação (4, 14 ou 28 dias), o tratamento de fertilizante sintético seguido do resíduo de ave (ambos ricos em nitrogênio) foram os mais prósperos para redução da viabilidade dos escleródios, e conferiu maior número de escleródios contaminados. Também, o aquecimento do solo à 45°C (simulação de solarização em estufa) foi um fator preponderante no controle do patógeno em estudo, independente do período de incubação. Maior incidência de contaminantes também foram observados nos mesmos tratamentos e nos mesmos períodos de avaliação. Observou-se a elevação do pH dos tratamentos em valores próximos a nove (9), e o aumento da concentração de amônio ( $\text{NH}_4$ ) e de amônia ( $\text{NH}_3$ ) que foram concomitantes nos tratamentos que apresentaram a inviabilização total dos escleródios e no mesmo período de avaliação. Estes resultados sugerem que o nível elevado de pH (>9), e o aumento da concentração de amônia foram letais aos escleródios independentemente do aquecimento do solo nestes tratamentos.

## Determinação do tempo mínimo para seleção de isolados de *Bacillus* no controle da mancha angular

**Henrique M. Ferro<sup>1</sup>, Ricardo M. Souza, Flavio H. V. Medeiros<sup>1</sup>, Danilo A. Soares<sup>1</sup>, Alan W. V. Pomela<sup>2</sup>, José C. Machado<sup>1</sup>, Helon S. Neto<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>UFLA, CP 3037, 37200-000, Lavras/MG, E-mail: [agro\\_monteiro@yahoo.com.br](mailto:agro_monteiro@yahoo.com.br);

<sup>2</sup>Sementes Farroupilha, CP 90, 38702-054, Patos de Minas/MG; E-mail: [Alan@sementesfarroupilha.com.br](mailto:Alan@sementesfarroupilha.com.br)

As sementes constituem a principal forma de disseminação de *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* (Xam), agente da mancha angular do algodão. Entretanto, não existe produto registrado para o tratamento de sementes visando ao controle dessa doença. Assim, o tratamento biológico com *Bacillus* spp. pode representar uma alternativa viável. Portanto, o trabalho teve como objetivo determinar o número mínimo de avaliações necessárias para determinar a eficiência de isolados no controle da bacteriose do algodoeiro durante a seleção. Os antagonistas foram obtidos de solo rizosférico e de raízes de algodoeiro em áreas com longo histórico de cultivo do algodão. No laboratório, foram multiplicados em meio ágar nutriente e preparadas suspensões na concentração de  $10^8$  células/mL, utilizadas para o tratamento de sementes, imersão por 30 minutos, cultivar Deltapine Acala 90, previamente desinfestadas (NaHClO 0.5%) e inoculadas artificialmente com Xam pelo método de infiltração a vácuo. As sementes foram semeadas 12h após o tratamento em substrato comercial e avaliadas quanto ao estande até o 5º dia após semeadura (DAS), quando foi feita câmara úmida por 24 h. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com 37 tratamentos e 3 repetições (5 plantas /repetição). A severidade da mancha angular foi avaliada aos 6, 9, 13, 16, 20, 23, 27 e 30 DAS. Os dados de severidade foram usados para cálculo do índice de McKinney e analisados pela área abaixo da curva de progresso da doença. Foi observada interação tempo x tratamento e no desdobramento dos tratamentos foi observada diferença significativa entre os tratamentos a partir da segunda avaliação, ou seja 13 DAS. Como não houve alteração nos grupos de significância para esta avaliação até os 30 DAS, conclui-se que este é o tempo mínimo para seleção de isolados de *Bacillus* no controle da mancha angular.

**Palavras chave:** *Gossypium hirsutum* L., erradicação, screening

## **Interação de fungos micorrízicos arbusculares e patógenos causadores de podridão de raízes nativos em citros, sob cultivo convencional e orgânico**

**Soraya .C. França. Adriana P.D. Silveira**

*IAC, CP 28; 13001-970, Campinas/SP. E-mail: apdsil@iac.sp.gov.br; Soraya.deCarvalhoFranca@UGent.be*

Entender as complexas interações microbianas nos solos sujeitos a diferentes manejos agrícolas é fundamental para o sucesso do controle biológico no campo. Com o objetivo de estudar a interação de patógenos causadores de podridão radicular e as comunidades de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) nativos de sistemas de produção convencional e orgânico de plantas cítricas, foi realizado um experimento com plantas de limão 'Cravo', semeadas diretamente em vasos com solo coletado nos pomares sob os sistemas de produção. No mesmo solo foram avaliadas a atividade e a biomassa microbianas e a diversidade de FMAs. A comunidade de FMAs nativos presente no solo natural, de ambos os sistemas de produção, proporcionou uma alta colonização radicular, o que foi refletido no maior teor de fósforo foliar em plantas micorrizadas, principalmente no convencional. Porém, o solo natural do sistema orgânico foi desfavorável ao crescimento das plantas, resultando nas menores massas de matéria seca de parte aérea, de raiz e total. A podridão de raízes observada nos tratamentos com solo natural pode ter sido causada por *Phytophthora* e *Pythium* ou por outros patógenos provenientes do campo. A severidade da podridão foi maior nas raízes das plantas do solo sob sistema de produção orgânico. O solo do sistema orgânico apresentou maior atividade e biomassa microbianas e riqueza e diversidade de espécies de FMAs que no solo do sistema convencional.

**Palavras – chave:** micorriza arbuscular, laranja, agricultura orgânica, controle biológico.

# Plantas daninhas com incidência de fitopatógenos candidatos a agentes de controle biológico

**Daniel A. S. Franco<sup>1</sup>; Tiago Zaiden<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Instituto Biológico, CP 70; 13001-970, Campinas/SP. E-mail: [franco@biologico.sp.gov.br](mailto:franco@biologico.sp.gov.br);*

<sup>2</sup>*PUC, CEP: 13060-904, Campinas/SP, E-mail: [tiago.zaiden@gmail.com](mailto:tiago.zaiden@gmail.com)*

O conhecimento da flora de plantas daninhas existentes nas culturas agrícolas é de grande importância para a adoção de medidas de controle evitando a interferência destas na cultura, principalmente, no período crítico de competição. Deste modo, torna-se necessária a identificação das espécies mais frequentes, pois cada espécie, de acordo com seu potencial de estabelecer-se na área e sua agressividade, pode interferir de forma mais ou menos acentuada nas culturas. As doenças das plantas daninhas podem ser monitoradas, constituindo a etapa inicial de um programa de controle biológico de plantas daninhas com fitopatógenos. Assim, este trabalho teve como objetivo identificar as espécies de plantas daninhas com incidência de fitopatógenos candidatos a agentes de controle biológico. O monitoramento das plantas daninhas foi realizado, mensalmente, em culturas de cana-de-açúcar, milho, citros, jardins e áreas alagadas durante os anos de 2005 a 2007. As plantas daninhas foram observadas visualmente e as com sintomas de doenças foram fotografadas e coletadas para proceder ao isolamento do agente causal da doença. As plantas daninhas identificadas com a presença de doenças fúngicas foram: tiririca (*Cyperus rotundus*), corda-de-viola (*Ipomoea nil*), trapoeraba (*Commelina benghalensis*), picão-preto (*Bidens pilosa*), leiteiro (*Euphorbia heterophylla*), capim-camalote (*Rottboelia exaltata*), falsa-serralha (*Emilia fosbergii*), rabo-de-foguete (*Conyza bonariensis*), grama-seda (*Cynodon dactylon*), carrapichão (*Xanthium strumarium*), melão-de-são-caetano (*Monardica charantia*), trevo (*Oxalis latifolia*) e lírio-do-brejo (*Hedychium coronarium*). De acordo com os resultados obtidos podemos concluir que importantes espécies de plantas daninhas são hospedeiras de doenças, revelando diversidade biológica pouco estudada. Futuramente, os agentes causais destas doenças deverão ser identificados, preservados e estudados, visando a seleção de candidatos a agentes de controle biológico. O controle biológico de plantas daninhas com patógenos pode promover um efetivo, seguro e uma solução de baixo custo para muitos problemas importantes de plantas daninhas em diversos agroecossistemas.

**Palavras chave:** Plantas daninhas, doenças, controle biológico.

# Rizobactérias e a indução de resistência sistêmica em cultivos hidropônicos

**Sueli S. Freitas<sup>1</sup>; Fernanda S. Bernardes<sup>1</sup>; Flávia R. A. Patrício<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>IAC, CP 28, Campina/SP, [sfreitas@iac.sp.gov.br](mailto:sfreitas@iac.sp.gov.br); <sup>2</sup>Instituto Biológico, Campinas/SP, [flavia@biologico.sp.gov.br](mailto:flavia@biologico.sp.gov.br)

O cultivo hidropônico é uma técnica agrícola que permite incrementos na produtividade e qualidade dos produtos, mas é também propício ao desenvolvimento de fitopatógenos. O controle de patógenos por rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs) é uma alternativa viável na prevenção de doenças nesses ambientes, particularmente a resistência sistêmica induzida (RSI). Os objetivos deste trabalho foram: avaliar se isolados do grupo fluorescente do gênero *Pseudomonas* inoculados em sementes de alface (*Lactuca sativa* cv. Verônica) antagonizam *Pythium aphanidermatum* *in vitro* e observar se os isolados selecionados *in vitro* reduzem a severidade dos sintomas de *P. aphanidermatum* em pepino (*Cucumis sativus* cv. Hokushin) em sistema hidropônico. Realizaram-se um experimento em laboratório e dois em casa de vegetação. O experimento *in vitro* consistiu na inoculação dos isolados em sementes pré-germinadas de alface, distribuídas sobre ágar-água, com o inóculo de *P. aphanidermatum* no centro das placas de Petri. Cinco dias depois, determinou-se o número de plântulas vivas. No experimento *in vivo* utilizaram-se plântulas de pepino desenvolvidas em sistema hidropônico. Pela técnica de raízes subdivididas, parte do sistema radicular recebeu a suspensão bacteriana e a outra, *P. aphanidermatum*. A ocorrência e a severidade dos sintomas da doença foram quantificadas pela determinação da matéria seca da parte aérea e das raízes. Dos 60 isolados testados no experimento *in vitro*, 37% promoveram maior crescimento radicular e 40%, maior desenvolvimento do hipocótilo na ausência do patógeno. Oito isolados promoveram o crescimento da raiz tanto na ausência quanto na presença do patógeno. Dezenove promoveram o crescimento do hipocótilo em ambas as condições. Os isolados Ps 21A, Ps 140B e Ps 140C proporcionaram maior desenvolvimento radicular e do hipocótilo nos tratamentos sem e com *P. aphanidermatum*. No experimento *in vivo*, os isolados Ps 140B e Ps 141A não apresentaram diferenças de massa da matéria seca na presença ou na ausência do inóculo de *P. aphanidermatum*, demonstrando uma possível expressão da RSI.

**Palavras-chave:** resistência sistêmica induzida, rizobactérias promotoras do crescimento de plantas, hidroponia.

## **Efeito de tratamentos alternativos no controle da podridão-mole da couve-chinesa causada por *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum***

**Alessandra L. Garcia, Kátia C. S. Felix, Érika C. T. Anjos, Marco A. S. Gama, Cléidio P. Cabral, Elineide B. Silveira, Rosa L. R. Mariano**

*UFRPE, 52171-900, Recife, PE, Brasil. E-mail: rmariano@truenet.com.br*

A couve-chinesa apresenta uma produção média anual em Pernambuco em torno de 75,6 toneladas, e assim como outras olerícolas, é afetada por diversas fitobacterioses, destacando-se a podridão-mole, causada por *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de tratamentos alternativos no controle da doença em nervuras de folhas destacadas de couve-chinesa. Foram testados os seguintes tratamentos: óleos essenciais de andiroba, eucalipto e nim (0,5%); antibióticos nisina (5 µg/ml) e kasugamicina (0,2%); sais (NaHCO<sub>3</sub>, Ca(CO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, Ca(SO<sub>4</sub>) e C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub>K) a 0,2 M; isolados avirulentos de *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* (suspensões a 10<sup>9</sup> UFC/ml); isolados de BPCPs (suspensões a 10<sup>7</sup> UFC/ml) [*B. megaterium* pv. *cerealis* (Rab 7), *Bacillus* sp. (Rab 9), *Bacillus cereus* (C 210 e C 240), *Bacillus subtilis* (R 14)]; e isolados de leveduras (suspensões a 10<sup>8</sup> UFC/ml) [*Saccharomyces* sp. (SC1), *S. cerevisiae* (SC2), *Candida albicans* (CA1), *Rhodotorula* sp. (RH1) e (RH2)]. Não houve diferença significativa do período de incubação da podridão-mole nos tratamentos *B. megaterium* pv. *cerealis* (Rab7), *B. cereus* (C240), *C. albicans* (CA1), *Rhodotorula* sp. (RH1) e (RH2), *Saccharomyces* sp. (SC1), *S. cerevisiae* (SC2) e testemunha. No entanto, foi verificada redução significativa da severidade final da doença às 48 horas após a inoculação nos tratamentos Rab7, CA1, RH1 e SC1, com valores de 46,35; 66,01; 59,05 e 75%, respectivamente. Os tratamentos com óleos essenciais, antibióticos, sais e isolados avirulentos de *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* não foram eficientes, reduzindo o período de incubação e aumentando a severidade final da doença. Conclui-se que as leveduras e o promotor de crescimento Rab 7 foram promissores em reduzir a severidade final da doença, podendo ser indicados para novos estudos visando ao manejo da podridão-mole da couve-chinesa.

**Palavras chaves:** Bactérias promotoras de crescimento de plantas, óleos essenciais, mutantes avirulentos, sais orgânicos e inorgânicos, controle biológico.

## **Atividade antifúngica de extratos de plantas a *Sclerotinia sclerotiorum*.**

**Ricceley Á. Garcia<sup>1\*</sup>; Fernando C. Juliatti<sup>1</sup>, Kássia A. G. Barbosa<sup>2</sup>.**

<sup>1</sup>UFU, Av. Amazonas s/nº, 38400-902, Uberlândia/MG. E-mail: [ricceleyavila@yahoo.com.br](mailto:ricceleyavila@yahoo.com.br);

<sup>2</sup>ULBRA, Itumbiara/GO.

O mofo branco da soja causado por *Sclerotinia sclerotiorum* vem tornando-se importante nos campos de produção. O objetivo deste trabalho foi estudar diferentes extratos de plantas sobre a inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 5 repetições. As 10 plantas estudadas foram coletadas nas cidades de Uberlândia-MG e Goiátuba-GO, sendo elas: chorão (*Schinus molle*), mentrasto (*Ageratum conyzoides*), alfafaca (*Ocimum* sp.), losna (*Artemisia alsinthium*), jambolão (*Syzygium cumini*), arruda (*Ruta graveolens*), mandioca (*Manihot esculenta*), Santa Bárbara (*Melia azedarach*) e pimenta longa (*Piper aduncum*). As partes botânicas estudadas foram as folhas com exceção de pimenta longa, que além da folha estudou-se o fruto. Para liberação das substâncias as plantas secas e moídas ficaram de molho em água destilada e esterilizada por 12 horas, na dosagem de 100 g/L água. Posteriormente procedeu-se a filtração em gaze estéril e os extratos foram incorporados em meio BDA. Discos de micélio de 6 mm de diâmetro com 8 dias de idade originados de escleródios foram transferidos para o centro das placas contendo os extratos e demais tratamentos (testemunha como controle negativo e fungicida procimidone na dosagem de 100 ppm do produto comercial como controle positivo). As placas foram incubadas a temperatura de 22–25°C durante 2 dias. A avaliação consistiu em medições diárias do diâmetro das colônias iniciadas após 24 horas de incubação e encerradas 48 horas após, momento em que as colônias fúngicas do tratamento testemunha tomaram toda a superfície do meio. Determinou-se a porcentagem de inibição do crescimento micelial a partir dos dados obtidos. Nenhuma planta foi igual ao fungicida procimidone que inibiu 100 % do crescimento micelial. Das plantas estudadas a pimenta longa foi a mais promissora quando utilizado o fruto, inibindo 43 % do crescimento micelial. As plantas chorão, jambolão e alfafaca foram iguais a testemunha.

**Palavras-chave:** *S. sclerotiorum*, extratos de plantas, crescimento micelial.

## **Influência da torta de *Azadirachta indica* sobre diferentes horas de molho em água na inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*.**

**Riccelly Á. Garcia; Fernando C. Juliatti, Juliana A. S. Martins.**

*UFU, Av. Amazonas s/nº, 38400-902, Uberlândia-MG. E-mail: [riccelyavila@yahoo.com.br](mailto:riccelyavila@yahoo.com.br).*

O cultivo orgânico necessita de produtos alternativos no controle de doenças de plantas e entre estes produtos está a planta de nim indiano (*Azadirachta indica*) que apresenta potencial fungicida, nematocida, inseticida e acaricida. Este trabalho foi realizado com o objetivo de informar qual o período mais indicado para liberação das substâncias presentes na torta de nim para a água utilizando o patógeno *Sclerotinia sclerotiorum*. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 5 repetições. Torta de sementes de *Azadirachta indica* na dosagem de 100 g/L de água foi deixada de molho por 30 minutos, 2, 5, 8, 12, 16, 20 e 24 horas para liberação das substâncias. Posteriormente, os extratos aquosos foram coados em gaze e incorporados ao meio BDA na dosagem de 30%. Discos de micélio de 6 mm de diâmetro de mesma idade originados de escleródios foram transferidos para o centro das placas contendo os extratos das diferentes horas e a testemunha. Após o plaqueamento as placas foram incubadas a temperatura de 22 – 25°C por 2 dias. A avaliação consistiu em medições diárias do diâmetro das colônias iniciadas após 24 horas de incubação. As medições foram interrompidas 48 horas após incubação, momento em que as colônias do tratamento testemunha tomaram toda a superfície do meio. Determinou-se a porcentagem de inibição do crescimento micelial a partir dos dados obtidos. O período de 2 horas foi o mais promissor, seguido de 5 horas. Entretanto, a capacidade de inibição foi de 4,4% para 2 horas e 3,6 % para 5 horas, indicando que a torta de *Azadirachta indica* na dosagem estudada apresenta baixo potencial fungicida para *Sclerotinia*.

**Palavras-chave:** *S. sclerotiorum*, torta de *A. indica*, crescimento micelial.

## **Extratos de *Azadirachta indica* e *Eucalyptus citriodora* na inibição do crescimento micelial e formação de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*.**

**Riccelly Á. Garcia<sup>1\*</sup>; Fernando C. Juliatti<sup>1</sup>, Kássia A. G. Barbosa<sup>2</sup>.**

<sup>1</sup>UFU, Av. Amazonas s/nº, 38400-902, Uberlândia/MG. E-mail: [riccellyavila@yahoo.com.br](mailto:riccellyavila@yahoo.com.br);

<sup>2</sup>ULBRA, Itumbiara-GO.

*Sclerotinia sclerotiorum* é um fungo bastante polífago e agressivo. Na cultura da soja a doença podridão branca vem crescendo cada vez mais nos campos de cultivo desta leguminosa. Este trabalho teve como objetivo avaliar extratos de *A. indica* e *E. citriodora* na inibição do crescimento micelial e formação de escleródios de *S. sclerotiorum*. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 5 repetições. Os tratamentos foram compostos dos extratos de *A. indica* e *E. citriodora* na dosagem de 30%, fungicida procimidone na dosagem de 100 ppm do produto comercial como controle positivo e testemunha como controle negativo. As folhas secas e trituradas foram deixadas de molho em água destilada e esterilizada por 12 horas para liberação das substâncias. Em seguida procedeu-se a filtragem em gaze e os extratos foram incorporados em meio BDA. Discos de micélio de 6 mm de diâmetro com 8 dias de idade originados de escleródios foram transferidos para o centro das placas contendo os extratos e demais tratamentos. As placas foram incubadas a temperatura de 22–25°C durante 2 dias. A avaliação consistiu em medições diárias do diâmetro das colônias iniciadas após 24 horas de incubação e encerradas 48 horas após, momento em que as colônias do tratamento testemunha tomaram toda a superfície do meio. A avaliação da formação de escleródios foi realizada no 15º dia após a incubação, contando-se o número de escleródios. Determinou-se a porcentagem de inibição do crescimento micelial a partir dos dados obtidos. O fungicida procimidone inibiu 100 % o crescimento micelial, enquanto que os extratos de *A. indica* e *E. citriodora* inibiram 92% e 25 %, respectivamente, diferindo dos controles negativo e positivo. Quanto a formação de escleródios os tratamentos procimidone e extrato de *A. indica* impediram a formação de escleródios. Nota-se que apesar da inibição não ter sido igual ao fungicida procimidone, a planta *A. indica* apresenta potencial para demais estudos.

**Palavras-chave:** *S.sclerotiorum*, crescimento micelial, formação de escleródios e extratos de plantas.

## **Eficiência de *Azadirachta indica* associada à *Pongamia glabra* no crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*.**

**Riccelly Á. Garcia<sup>1</sup>; Fernando C. Juliatti<sup>1</sup>, Kássia A. G. Barbosa<sup>2</sup>.**

<sup>1</sup>UFU, Av. Amazonas s/nº, 38400-902, Uberlândia/MG. E-mail: [riccellyavila@yahoo.com.br](mailto:riccellyavila@yahoo.com.br);

<sup>2</sup>ULBRA, Itumbiara-GO.

Em busca de produtos alternativos no controle de fitopatógenos, estudou-se o óleo de *A. indica* associado ao óleo de *P. glabra* na inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial de 4 x 5 + 2 com 3 repetições, sendo 4 doses de azadiractina (25, 50, 75 e 100 ppm), 5 doses de *P. glabra* (0, 1/3, 1/6, 1/8 e 1/10 do volume do óleo de azadiractina) e testemunha como controle negativo e fungicida procimidone na dosagem de 100 ppm do produto comercial como controle positivo. Os óleos das plantas foram obtidos da Embrapa Arroz e Feijão. As dosagens de *A. indica* e *P. glabra* foram adicionadas ao meio fundente. Disco de micélio de 6 mm de diâmetro originado a partir de escleródio foram depositados no centro de cada placa. As placas foram incubadas a temperatura de 22-25°C durante 2 dias. As medições foram iniciadas 24 horas após a incubação e perdurando até 48 horas após, quando a colônia do tratamento testemunha tomou todo o diâmetro da placa. A partir dos resultados obtidos determinou-se a porcentagem de inibição do crescimento micelial (PICM). À medida que aumenta as dosagens de azadiractina aumenta a PICM. A interação entre doses de *A. indica* e *P. glabra* foi significativa, sendo a dosagem de 1/3 de *P. glabra* a mais eficiente. Apesar de *A. indica* e *P. glabra* reduzirem o crescimento de *S. sclerotiorum*, o fungicida procimidone foi superior a todas as dosagens com 100% de inibição. Em comparação a testemunha as dosagens de *A. indica* e *P. glabra* foram eficientes reduzindo o crescimento entre 31% (25 ppm do óleo de azadiractina na ausência de *P. glabra*) a 64% (100 ppm do óleo de azadiractina com 1/3 de *P. glabra*).

**Palavras-chave:** *S. sclerotiorum*, *A. indica*, *P. glabra* e crescimento micelial.

## **Inibição do vírus do mosaico do fumo (TMV) por frações do extrato micelial de *Lentinula edodes***

**Marizete F.P. Godoy<sup>1</sup>, Juliana F. S. Daniel<sup>2</sup>, Edson Rodrigues Filho<sup>2</sup> e Sérgio F. Pascholati<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ESALQ/USP.E-mail: [sfpascho@esalq.usp.br](mailto:sfpascho@esalq.usp.br). <sup>2</sup>UFSCar.

Cogumelos comestíveis contêm compostos biologicamente ativos, e alguns deles, tais como proteínas e glucanas, possuem atividade antiviral. O objetivo deste trabalho foi identificar extratos do micélio de *Lentinula edodes* com propriedade antiviral contra o TMV. Duas linhagens de *L. edodes*, LE 96/17 e LE 96/22, foram cultivadas em dois diferentes meios de cultura e após 60 dias, o micélio foi extraído com etanol, etanol 70% e água acidificada. O filtrado foi extraído por partição líquido-líquido com acetato de etila. Os extratos foram adicionados à suspensão viral e inoculados mecanicamente em *Nicotiana tabacum* TNN (hospedeira de lesão local), através do método da meia-folha. Os bioensaios foram conduzidos duas vezes. Somente o extrato aquoso do micélio da linhagem LE 96/17 inibiu a expressão dos sintomas de lesão local pelo TMV e a taxa de inibição foi 82% na concentração de 0,5 mg/mL. Os demais extratos não inibiram significativamente a infectividade do TMV e alguns estimularam a mesma, aumentando o número de lesões em relação ao controle. O extrato ativo foi purificado em coluna de Sephadex, rendendo 16 frações. As frações 6.7, 8.9 e 10.11 foram ativas inibindo, respectivamente, 95, 79 e 34% a infectividade do TMV. Espectros em RMN<sup>1</sup>H destas frações indicaram sinais característicos de aminoácidos, provavelmente peptídeos, em intensidade proporcional ao potencial antiviral. Pode-se relacionar, dessa forma, que a fração 6.7 apresentou maior percentual de redução da infectividade do TMV devido a presença de maior quantidade de peptídeos em relação às frações 8.9 e 10.11. As frações foram reunidas e purificadas em coluna de ODS, rendendo 17 frações, as quais estão sendo analisadas para a caracterização do composto ativo.

**Palavras-chave:** *Lentinula edodes*, atividade antiviral, controle biológico.

## Inibição do vírus do mosaico do fumo (TMV) por frações do extrato micelial de *Lentinula edodes*

**Marizete F.P. Godoy<sup>1</sup>, Juliana F. de S. Daniel<sup>2</sup>, Edson Rodrigues Filho<sup>2</sup> e Sergio F. Pascholati<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Fitopatológica, Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, ESALQ/USP. E-mail: [sfpascho@esalq.usp.br](mailto:sfpascho@esalq.usp.br)

<sup>2</sup> Laboratório de Produtos Naturais, Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar).

### 1. Introdução

Extratos do corpo de frutificação do cogumelo comestível *L. edodes* (Shiitake) contêm potentes inibidores de vírus de plantas (Kobayashi et al, 1987) e animais, inclusive o vírus da imunodeficiência humana (HIV) (Suzuki et al., 1989; Yoshida et al., 1988). O extrato aquoso de *L. edodes* também foi potente em reduzir a infectividade do vírus do endurecimento dos frutos (PWV) em *Chenopodium quinoa* (Di Piero, 2003). Dessa forma, *L. edodes* pode se tornar uma fonte alternativa para o controle de doenças de plantas.

### 2. Objetivos

O objetivo deste trabalho foi encontrar um inibidor da infectividade do TMV a partir de extratos de cultivo *in vitro* de *L. edodes*.

### 3. Material e Métodos

#### 3.1. Basidiomicetos:

Os isolados LE 96/22 e LE 96/17 de *L. edodes* foram mantidos em placas contendo meio batata-dextrose-ágar (BDA) e incubados à 21°C na ausência de luz.

#### 3.2. Meios e metodologia para cultivo

Dois meios foram selecionados para o cultivo de *L. edodes*:

M2 - GPL (g/L) : glicose, 20; peptona, 10; extrato de levedura, 2.

M3 - SML (g/L): sacarose, 10; extrato de malte, 30; extrato de levedura, 5.

Os meios foram distribuídos em frascos de 250 mL (100 mL de meio por frasco). Três discos de 10 mm (provenientes de placas com 20 dias de cultivo do fungo) foram distribuídos nos frascos e mantidos por 60 dias à 21 °C, sob agitação constante em ausência de luz.

#### 3.3. Procedimentos para extração

Após o cultivo, o micélio foi separado por filtração em papel de filtro Whatman n.1 e posteriormente homogenizado em triturador Omni-Mixer Sorvall, sendo macerado com etanol por 24 horas. O etanol foi então separado por filtração e evaporado em evaporador rotativo, originando o extrato **ET**. O micélio foi percolado com etanol 70% por 48 horas, evaporado em evaporador rotativo, resultando no extrato **ET70**. O micélio foi novamente percolado, com tampão pH 4,0 da marca Synth por 24 horas, visando a obtenção de macromoléculas. O extrato aquoso resultante (**AqM**) foi liofilizado. O filtrado foi extraído através de partição líquido-líquido com acetato de etila (**Fac**) e o extrato aquoso restante (**AqF**) foi liofilizado.

#### 3.4. Bioensaio para atividade inibitória de infecção de vírus de planta

Foram plantadas sementes de fumo (*Nicotiana tabacum*) cv. TNN em bandejas de isopor, contendo substrato “plantmax” (Eucatex). Quando as plantas apresentaram cerca de 60 dias de idade, as mesmas foram transferidas para vasos (duas plantas por vaso). Quando as plantas apresentaram aproximadamente 35-40 cm de altura, foram feitos os tratamentos colocando-se as partículas virais em contato com os respectivos extratos obtidos (1 mL da suspensão viral à 0,02 mg/mL, para 9,0 mL das amostras ou controle, ficando assim a concentração final de

inóculo de 2 µg/mL e a concentração dos extratos em 500 µg/mL), para se verificar a inibição do TMV através do método da meia-folha.

As preparações descritas acima foram misturadas com carborundum e inoculadas mecanicamente. Cada tratamento foi repetido pelo menos 5 vezes em cada diferente posição na folha, totalizando 20 repetições por tratamento. As plantas foram mantidas em casa de vegetação e a avaliação foi realizada pela contagem do número de lesões locais, dois dias após a inoculação. A taxa de inibição foi determinada de acordo com Sun et al. (2003):

$$\text{Taxa de inibição (\%)} = 1 - \left( \frac{\text{n}^\circ \text{ de lesões do tratamento}}{\text{n}^\circ \text{ de lesões do controle}} \right) \times 100\%$$

### 3.5. Purificação e caracterização dos extratos e frações com potencial antiviral

O extrato que apresentou atividade contra o TMV foi purificado em coluna de Sephadex LH-20 (φ 75 mm e 50 cm de altura) e eluído com água, metanol e acetona 1:1:1 (v/v), obtendo-se 16 frações. As respectivas frações foram comparadas por cromatografia em camada delgada analítica (TLC). Desta forma, as frações 1 à 5 foram descartadas, enquanto que as demais frações, que continham substâncias com os mesmos fatores de retenção (RF) nas placas de TLC, foram reunidas em uma única fração para novos bioensaios com o TMV. Assim, as frações 6/7, 8/9, 10/11, 12, 13, 14 e 15/16 do extrato aquoso (AqMM2), foram testadas de acordo com o item 3.4, na concentração de 250 µg/mL, para biomonitorar o composto com atividade antiviral.

Após os bioensaios, as frações que foram ativas (6/7, 8/9 e 10/11), foram novamente reunidas e purificadas em coluna de ODS ((φ 25 mm e 30 cm de altura) e eluídas com metanol:água 1:1, Metanol, metanol:acetona 1:1 e acetona, obtendo-se 17 subfrações. Destas subfrações, foram separados alguns compostos que estão sendo identificados por RMN<sup>1</sup>H.

### 3.6. Ressonância Magnética Nuclear (RMN<sup>1</sup>H)

Aproximadamente 10 mg de cada extrato bruto ou fração foi solubilizada com pequena quantidade de água deuterada e colocada em tubos de até aproximadamente 2 cm de altura. Os tubos foram colocados no aparelho da marca Bruker modelo ARX 200 - 4,7 Tesla, 200 MHz ou 400 MHz para frequência de hidrogênio e o espectro foi analisado.

## 4. Resultados e Discussões

No bioensaio com TMV, o único extrato não utilizado foi o Et70M2, pois a quantidade obtida não foi suficiente para os testes. Todos os demais extratos foram testados duas vezes para a atividade inibitória.

O extrato que reduziu significativamente o número de lesões foi o extrato AqMM2, inibindo 82% a infectividade do TMV em relação ao controle com água (Figura 1) e 80,6% em relação ao CM2aq (em destaque na Figura 1). Todos os demais tratamentos não inibiram significativamente a infectividade do TMV.

Na Figura 2, observa-se que o extrato AqMM2 foi novamente avaliado quanto à redução da infectividade do TMV, juntamente com as suas frações. O resultado obtido deste bioensaio confirmou o potencial antiviral do extrato AqMM2 e revelou que as frações ativas foram 6/7, 8/9 e 10/11, inibindo respectivamente 99,5, 96,3 e 34,4% .

Na Figura 3A, observa-se o espectro em RMN<sup>1</sup>H da fração com maior atividade antiviral. Podemos inferir que o espectro apresenta sinais característicos de aminoácidos, provavelmente peptídeos. Os mesmos sinais também estão presentes no espectro da fração 8/9

(Figura 3B), contudo, são menos intensos para a região que indica a presença dos peptídeos. Podemos relacionar, dessa forma, que a fração 6/7 apresentou maior percentual de redução da infectividade do TMV devido a presença de maior quantidade de peptídeos em relação à fração 8/9. O mesmo se aplica para a fração 10/11 (Figura 3C).

### 5. Conclusões

Com este trabalho conclui-se que:

- Extratos obtidos do cultivo *in vitro* de *L. edodes* possuem potencial antiviral contra TMV;
- É provável que a atividade antiviral esteja relacionada à presença de peptídeos nas frações 6/7, 8/9 e 10/11.

### 6. Referências

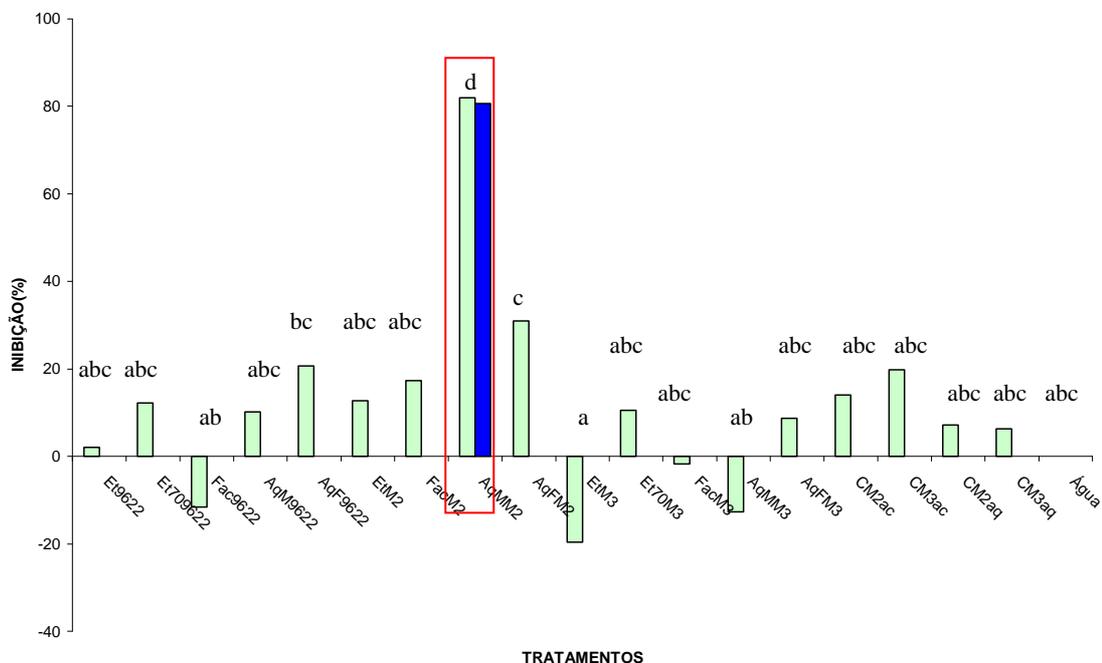
DI PIERO, R. M. Tese de doutorado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2003, 157 p.

KOBAYASHI, N.; HIRAMATSU, A.; AKATSUKA, T. **Agricultural and Biological Chemistry**, V. 51(3), p. 883-890, 1987

SUN, H.; ZHAO, C.G.; TONG, X.; QI, Y.P. **Journal of Biochemistry and Molecular Biology**, v.36(2), p. 214-222, 2003.

SUZUKI, H.; OKUBO, A. YAMAZAKI, S. et al., **Biochemistry and Biophysical Research Communication**, v. 160, p. 367-373, 1989.

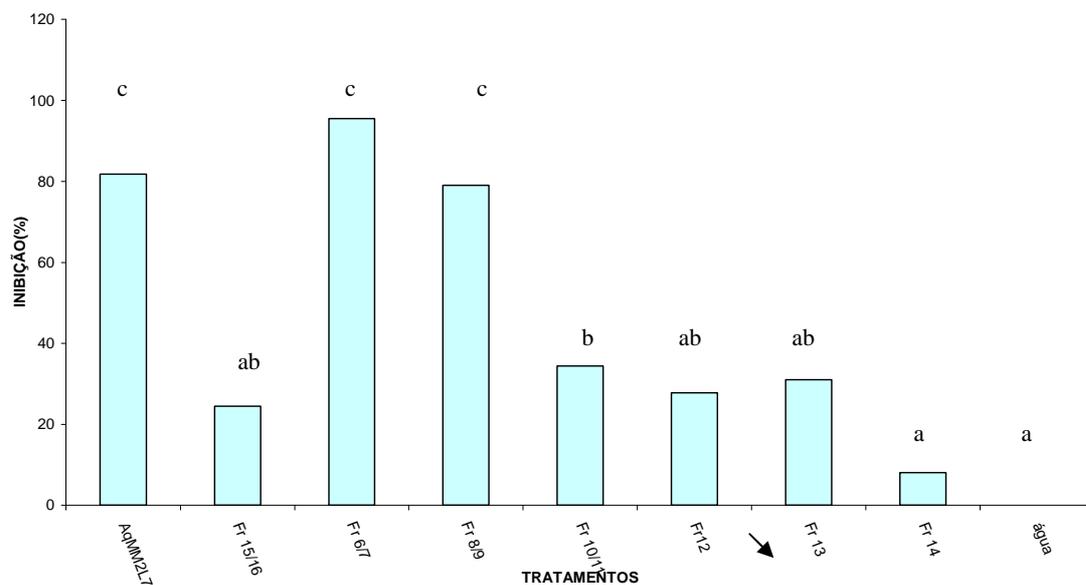
YOSHIDA, O.; NAKASHIMA, H.; YOSHIDA, T. et al. **Biochemical Pharmacology**, v. 37, p.2887-2891, 1988.



**Figura 1.** Inibição da infectividade do TMV por diferentes extratos de *L. edodes*

Resultados representam a média de dois bioensaios. Letras diferentes na coluna indicam diferença significativa pelo teste de Tukey 5%

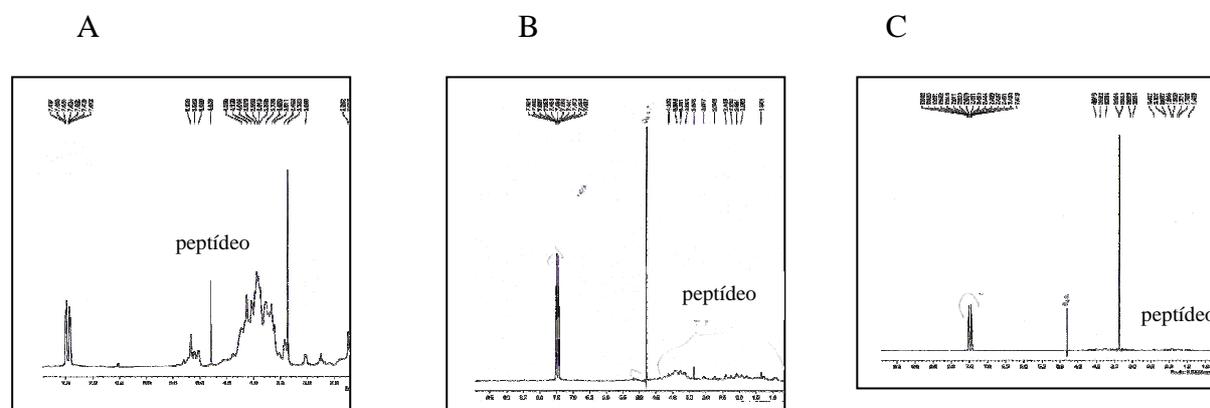
\*As siglas dos extratos estão descritas no item 3.3. CM2ac, CM3 ac, CM2aq e CM2aq = Controles (acetato e aquoso) dos meios 2 e 3, respectivamente.



**Figura 2.** Inibição da infectividade do TMV pelo extrato aquoso do micélio de *L.edodes* e suas frações

Resultados representam a média de dois bioensaios

Letras diferentes na coluna indicam diferença significativa pelo teste de Tukey 5%



**Figura 3.** Espectro em RMN<sup>1</sup>H das frações 6/7 (A), 8/9 (B) e 10/11 (C) do extrato aquoso do micélio de *L. edodes* (400 Hz)

## Atividade antifúngica *in vitro* de extratos de *Lentinula edodes*

**Marizete F.P. Godoy<sup>1</sup>, Juliana F.de S. Daniel<sup>2</sup>, Edson Rodrigues Filho<sup>2</sup> e Sérgio F. Pascholati.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Fitopatológica, Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, ESALQ/USP. E-mail: [sfpascho@esalq.usp.br](mailto:sfpascho@esalq.usp.br)

<sup>2</sup>Laboratório de Produtos Naturais, Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar).

### 1. INTRODUÇÃO

Os cogumelos comestíveis são conhecidos por suas propriedades medicinais e nutritivas e são capazes de produzir inúmeras substâncias biologicamente ativas, tais como  $\beta$ -glucanas (MANZI & PIZZOFERRATO, 2000), lentinana, lecitina e proteínas inativadoras de ribossomo (RIPs) (WANG & NG, 2001). Dentre os cogumelos com potencial biológico, *L. edodes* (Shiitake), além de propriedades medicinais, produz substâncias que podem beneficiar também a área agrícola (PACUMBABA et al., 1999). Esta nova fonte de biomoléculas possibilita associação com outras práticas culturais na tentativa de controle de fitopatógenos que causam grandes danos ao comércio agrícola, como no caso do fungo causador da mancha preta dos frutos cítricos, *Guignardia citricarpa* Kiely (KOTZÉ, 1981) e *Colletotrichum sublineolum* (Henn Kabat et Bub.), agente causal da antracnose do sorgo.

### 2. OBJETIVOS:

Verificar a atividade antifúngica de extratos de *L. edodes* contra *G. citricarpa* e *C. sublineolum*.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Cultivo dos fungos

Os isolados LE 96/22 e LE 96/17 de *L. edodes* foram mantidos em placas contendo meio batata-dextrose-ágar (BDA) e incubados à 21°C na ausência de luz. Após uma seleção prévia das condições de cultivo que favoreceram a produção de compostos bioativos, foram selecionados para cultivo em grande escala, os meios **M2** (HATVANI, 2001) e **M3** (HIROTANI et al., 2002). O isolado LE 96/17 foi cultivado nos meios M2 e M3 em erlenmeyer de 250 mL (100 mL de meio). Três discos de 10 mm (provenientes de placas com 20 dias de cultivo do fungo) foram distribuídos nos frascos e mantidos por 60 dias à 21 °C, sob agitação constante em ausência de luz. A linhagem LE 96/22 foi cultivada no meio M2, segundo o procedimento acima, porém, sendo mantido por 40 dias.

#### 3.2. Procedimentos para extração

Após o cultivo, o micélio foi separado por filtração em papel de filtro Whatman n.1 e posteriormente homogenizado em triturador Omni-Mixer Sorvall, sendo macerado com etanol por 24 horas. O etanol foi então separado por filtração e evaporado em evaporador rotativo, originando o extrato **ET**. O micélio foi percolado com etanol 70% por 48 horas, evaporado em evaporador rotativo, resultando no extrato **ET70**. O micélio foi novamente percolado, desta vez com tampão pH 4,0 da marca Synth por 24 horas, visando a obtenção de macromoléculas. O extrato aquoso resultante (**AqM**) foi liofilizado. O filtrado foi extraído através de partição líquido-líquido com acetato de etila (**Fac**) e o extrato aquoso restante (**AqF**) foi liofilizado.

### 3.3. Influência dos extratos de *L. edodes* no crescimento micelial *in vitro* do fungo *G. citricarpa*

Alíquotas de 50 µL dos extratos foram adicionadas “pour plate” em placas de Petri de 5,0 x 5,0 cm contendo 7,0 mL de meio BDA. Em seguida, discos de micélio de 0,5 cm de diâmetro do patógeno (cultivado em BDA) foram transferidos para o centro destas placas. Placas controles foram feitas contendo 7,0 mL de meio BDA. Placas controle do solvente (DMSO) e placas com um antifúngico (cicloheximida 70 µg/mL), também foram feitas de acordo com o procedimento já descrito. As placas foram incubadas a 25 °C, sob luz fluorescente, com alternância de luz (12 h claro e 12 h escuro), sendo determinado o diâmetro das colônias utilizando-se um paquímetro. Foram utilizadas 5 placas por repetição e a análise estatística foi realizada tomando-se como base os valores obtidos no último dia de avaliação, ou seja, após 18 dias de cultivo. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado e a taxa de inibição foi calculada pela fórmula:

$$\text{Taxa inibição (\%)} = 1 - \frac{\text{Diâmetro da unidade experimental}}{\text{Diâmetro médio da testemunha}} \times 100$$

### 3.4. Influência dos extratos de *L. edodes* no crescimento micelial *in vitro* do fungo *C. sublineolum*

Os experimentos foram realizados conforme descrito para *G. citricarpa*, no item 3.3, com exceção das alíquotas das amostras, as quais foram 100 µL, adicionadas em placas de Petri de 9,0 x 9,0 cm contendo 15 mL de meio. As placas foram incubadas a 25 °C, sob luz constante. A análise estatística foi realizada tomando-se como base os valores de crescimento micelial após 7 dias de cultivo.

### 3.5. Ressonância Magnética Nuclear (RMN<sup>1</sup>H)

Aproximadamente 10 mg de cada extrato bruto foi solubilizada com pequena quantidade de DMSO deuterado e introduzidos no tubo de ressonância até preencher aproximadamente 2 cm de altura. Os tubos foram colocados no aparelho da marca Bruker modelo ARX 200 - 4,7 Tesla, 200 MHz ou 400 MHz para frequência de hidrogênio e o espectro foi analisado.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Resultados de inibição do crescimento micelial de *G. citricarpa* e *C. sublineolum*.

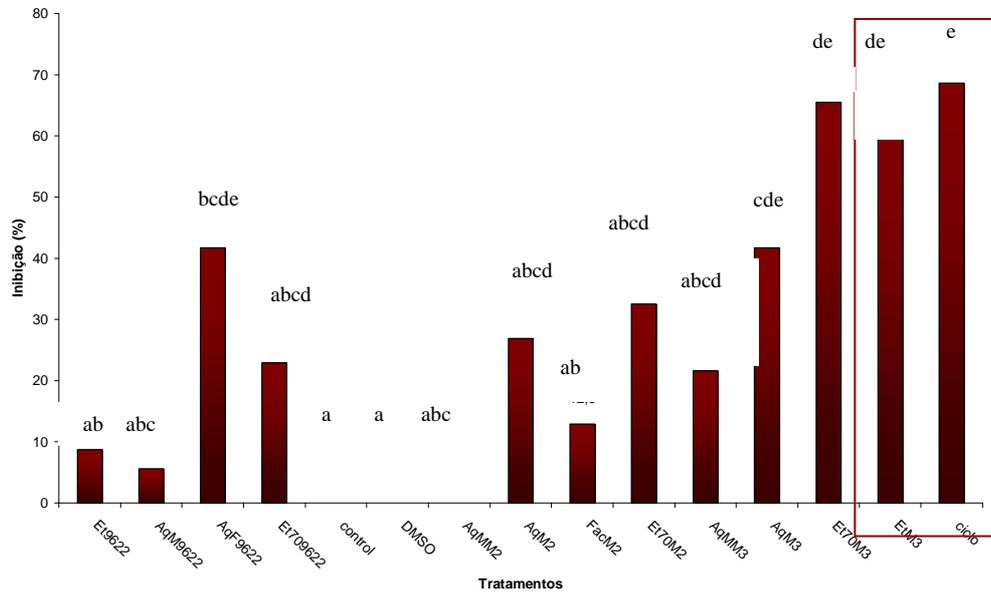
Os resultados de inibição do crescimento micelial de *G. citricarpa* estão expressos na Figura 1. Observa-se que os extratos obtidos do filtrado não apresentaram atividade antifúngica e os extratos ETM3 e ET70M3 foram os que apresentaram maior potencial antifúngico.

A atividade antifúngica contra *C. sublineolum* foi observada com o extrato EtM3, e diferentemente de *G. citricarpa*, o extrato Et70M3 não inibiu significativamente esta espécie de fungo. Os extratos aquosos e os do filtrado também não apresentaram atividade (Figura 2).

### 4.2 Resultados da análise em RMN<sup>1</sup>H

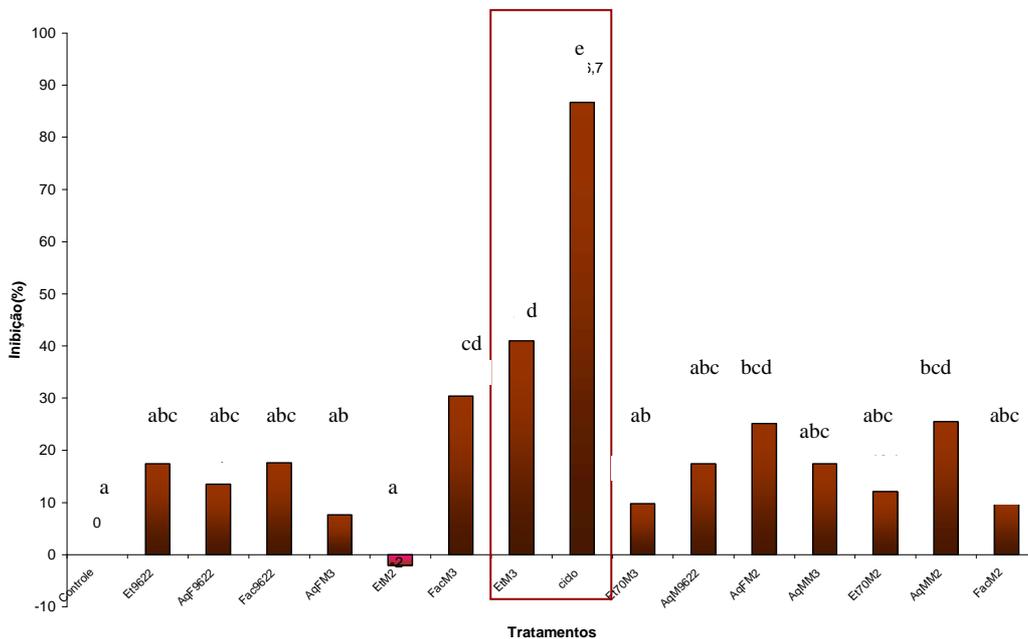
Na Figura 3, estão os espectros obtidos da RMN <sup>1</sup>H dos extratos ET70M3 e controle do M3. Embora os espectros não definam qual o composto ativo, na Figura 3A, observamos sinais na região de 3.0 à 5.0 ppm, que são característicos da presença de açúcares. Estes sinais não estão presentes no espectro do controle do meio M3 (Figura 3B), indicando que tais açúcares não fazem parte da composição do meio de cultivo. Dessa forma, acredita-se que

foram produzidos pelo fungo durante o cultivo *in vitro* e possivelmente estão relacionados à atividade antifúngica.



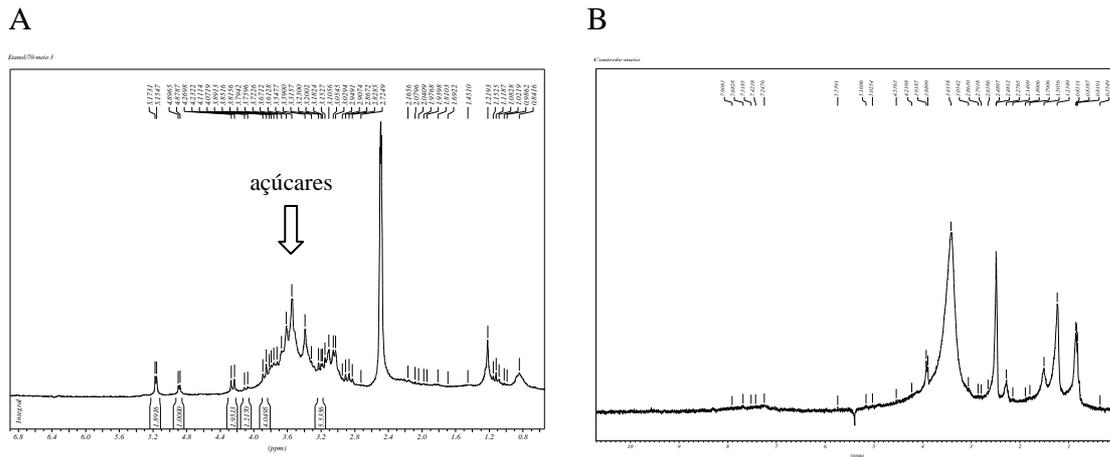
**Figura 1.** Inibição do crescimento micelial *in vitro* de *G. citricarpa* por diferentes extratos de *L. edodes*. Letras diferentes nas barras indicam diferença significativa pelo teste de Tukey 5%

\*As siglas dos extratos estão descritas no item 3.2. DMSO = Dimetilsulfóxido  
concentração dos extratos = 500 µg/mL e ciclo = cicloheximida 70 µg/mL



**Figura 2.** Inibição do crescimento micelial *in vitro* de *C. sublineolum* por diferentes extratos de *L. edodes* cultivados em grande escala. Letras diferentes nas barras indicam diferença significativa pelo teste de Tukey 5%

\*As siglas dos extratos estão descritas no item 3.2.  
concentração dos extratos = 500 µg/mL e ciclo = cicloheximida 70 µg/mL



**Figura 3.** Espectro em RMN<sup>1</sup>H do extrato etanólico 70% do M3 (A) e controle do M3 (B) (200 Hz)

Os resultados obtidos por estes autores assim como os resultados obtidos neste trabalho, sugerem que *L. edodes* apresenta potencial fungicida.

## 5. CONCLUSÕES

Com este trabalho concluímos que:

- Extratos obtidos do cultivo *in vitro* de *L. edodes* LE 96/17 possuem potencial antifúngico para *C. sublineolum* e *G. citricarpa*
- O extrato com atividade antifúngica contém açúcares que não estão presentes no meio de cultivo.

## 6. REFERÊNCIAS

- HATVANI, N. **International Journal of Antimicrobial Agents**, V. 17, p. 71-74, 2001.
- HIROTANI, M.; SAI, K.; NAGAI, R.. **Phytochemistry**, V.61, p. 589-595, 2002.
- KOTZÉ, J. M. **Plant Disease**, v. 65, p. 945-950, 1981
- MANZI, P.; PIZZOFERRATO, L.. **Food Chemistry**, v. 68, p. 315-318, 2000.
- NGAI, P.H.K.; NG, T.B. **Life Sciences**, v.73, p. 3363-3374, 2003.
- PACUMBABA, R.P.; BEYL, C. A. et al. **Plant Disease**, v.83 (1), p. 20-23, 1999.
- WANG, H.X.; NG, T.B. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 288, p. 718-721 (2001).

## **Costa Rican experience in crop disease biological control**

**Miguel Obregón Gómez**

***Biological Control Consultant. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Agronomía  
[m.obregon@costarricense.cr](mailto:m.obregon@costarricense.cr)***

Since 1998, scientific research has been stimulated in order to find non-chemical alternatives for the control of crop diseases and pests in Costa Rica. This task has been performed by plenty of Research Institutes, Universities, Self-employed farmers and Agricultural Companies. As a result of these research efforts, isolation, identification and growth have been achieved for the following microorganisms: *Trichoderma* spp, *Clonostachys*, *Bacillus subtilis* and *Streptomyces griseoviridis*. The most important crops in which those microorganisms have been applied are: organic vegetables, pineapple, cantaloupe, watermelon and ornamental plants. Nowadays, costarican farmer's interest in application of biological alternatives for crops protection has increased. The use of those alternatives in crops such as banana and orchids is also being considered at this moment.

# Proteção de morangueiro contra antracnose por *Saccharomyces cerevisiae*

**Alfredo de Gouvea<sup>1</sup>; Sérgio M. Mazaro<sup>1</sup>; Vânia C. Fonseca<sup>1</sup>; Luiz A. Biasi<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>UTFPR–Campus Dois Vizinhos, Estrada para Boa Esperança, Km 04, 85660-000, Dois Vizinhos/PR, E-mail: [alfredo@utfpr.edu.br](mailto:alfredo@utfpr.edu.br) <sup>2</sup>UFPR, Rua dos Funcionárias 1540 - Juvevê, 80035-050, Curitiba/PR, E-mail: [biasi@ufpr.br](mailto:biasi@ufpr.br)

A antracnose (*Colletotrichum acutatum*) é uma das doenças mais destrutivas da cultura do morango, seu controle é feito predominantemente pelo uso de fungicidas. No entanto, os problemas advindos desta prática têm motivado a busca de alternativas e entre elas destaca-se o controle biológico e nesta modalidade a levedura *Saccharomyces cerevisiae* é apontada como tendo potencial de utilização. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes preparações de *S. cerevisiae*, sobre a incidência de antracnose em flores e frutos de morangueiro. O trabalho foi realizado na UTFPR–Campus Dois Vizinhos, em 2004, num experimento com delineamento em blocos ao acaso, com quatro repetições, utilizando-se 16 plantas da cultivar Camarosa por parcela, cultivada em sistema de túnel baixo e irrigação localizada. Os tratamentos consistiram na pulverização semanal de cinco diferentes preparados de *S. cerevisiae*: suspensão com fermento biológico fresco comercial, suspensão de células de levedura, suspensão de células autoclavada, filtrado de cultura em meio líquido; e Agro-MOS<sup>®</sup>, um produto comercial formulado a partir da levedura, além da testemunha com água e do tratamento controle com aplicação de combinações de fungicidas. Na fase média do período produtivo procedeu-se a avaliação da incidência de antracnose através da contagem das flores e frutos em quatro plantas centrais de cada parcela e dos frutos colhidos, considerando-se doentes aqueles com sintomas típicos da doença. Os tratamentos com levedura comercial e filtrado de cultura de *S. cerevisiae* proporcionaram os melhores resultados na avaliação da incidência de antracnose em flores e em frutos. Considerando-se que o tratamento com filtrado não induziu o aumento da atividade das proteínas relacionadas com a patogenicidade, provavelmente, seu efeito foi devido à competição. Este resultado indica o potencial da levedura no biocontrole da doença.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Fragaria x ananassa*, antibiose, antagonismo.

## **Seleção de fungos antagonistas para o controle do oídio em mudas de *Eucalyptus benthamii***

**Rafaela M. Bizi, Albino Grigoletti Junior, Celso G. Auer.**

*Embrapa Florestas, CP 319, 83411-000, Colombo/PR, e-mail: [auer@cnpf.embrapa.br](mailto:auer@cnpf.embrapa.br).*

Uma das principais doenças fúngicas em viveiro de *Eucalyptus benthamii* é o oídio do eucalipto (*Oidium* sp). O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial do controle biológico do oídio com *Lecanicillium* sp., *Bacillus subtilis*, *Trichoderma viride*, *Clonostachys rosea* e *Saccharomyces cerevisiae*. A multiplicação dos quatro primeiros fungos foi em meio BDA para a obtenção de conídios, em condições ambientes de luz e temperatura. Para *S. cerevisiae* não houve multiplicação e somente preparo da suspensão a partir de concentrado comercial fresco. Durante a aplicação, foi adicionado um espalhante adesivo à base de polisorbato a 1%. Após 24 horas da primeira aplicação, as mudas foram mantidas em casa-de-vegetação com alto potencial de inóculo, intercaladas com mudas infectadas para serem naturalmente inoculadas. Os fungos foram pulverizados na concentração de  $10^7$  ufc/mL aos 1, 4, 8, 15, 21 e 28 dias após a transferência das plantas para a casa-de-vegetação. As avaliações foram semanais, durante cinco semanas. A avaliação consistiu da quantificação da severidade da doença utilizando-se uma escala de severidade: 0 = sem sintomas; 1 = infecção leve (presença de micélio nas folhas, sem esporulação); 2 = infecção média (esporulação sobre menos de 50 % da muda); 3 = infecção severa (esporulação sobre mais de 50 % da muda); e 4 = infecção muito severa (cobertura total da muda, deformação da folha, necrose, enrolamento do primeiro par de folhas e queda de folhas). Os tratamentos com aplicação de *B. subtilis*, *T. viride*, *C. rosea* e *S. cerevisiae* não diferiram estatisticamente da testemunha. *Lecanicillium* sp. apresentou a menor severidade (2,15) em relação à testemunha (3,8), controlando 43 % da doença e diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. O comportamento da doença ao longo das avaliações foi similar para todos os tratamentos à exceção do *Lecanicillium*. Concluiu-se que esse microrganismo tem potencial para estudos de controle biológico do oídio do eucalipto.

**Palavras-chave:** *controle biológico, eucalipto, Oidium sp.*

## **Biological Control of aflatoxin-producing *Aspergillus flavus* by *Pichia anomala*: Efficacy and Practical Application**

**Sui Sheng T. Hua**

*USDA-ARS, Western Regional Research Center, Albany, CA 94710, USA*

The fungus, *Aspergillus flavus*, produces aflatoxin B<sub>1</sub> which is the most potent carcinogen known. This mycotoxin is very hazardous to the health of both human and animal. There is no conventional fungicide to control *A. flavus*. Aflatoxin contamination is well documented to be associated with wounding in corn, peanuts, cotton and tree-nuts before harvest. Economic losses are in the billions of dollars per year due to aflatoxin contamination of agricultural commodities. Growers and processors are looking for effective means to control *Aspergillus* infestations and subsequent contamination of food crops. Two experiments were conducted in a commercial pistachio orchard in the summer of 2005 in collaboration with D. E. Parfitt and B.Holtz, University of California Davis. Nut-fruits of pistachio were individually wounded with a dissecting needle. Four treatments were applied. Branches of nut clusters were sprayed with water; sprayed with an aqueous suspension of yeasts at  $5 \times 10^7$  cells/ml; sprayed with an aqueous suspension of yeasts at  $5 \times 10^7$  cells/ml and two hours later sprayed with spore suspension of *A. flavus* at  $1 \times 10^3$  cells/ml; or sprayed with a spore suspension of *A. flavus* at  $1 \times 10^3$  cells/ml. Four trees were randomly selected for each treatment. Nut-fruits were harvested 3-5 weeks after spraying. The data show that *P. anomala* WRL-076 reduced the frequency of *A. flavus* colonization by 4 to 10 times and decreased the total propagules of *A. flavus* by 80 to 99% in comparison to water control. Field experiments conducted by T. Isakeit of Texas A&M University indicated that the application of *P. anomala* significantly reduced the level of pre-harvest aflatoxin in corn as much as 70% at one location. Overall, there was a trend of reduction with yeast treatment. The species, *P. anomala* has been demonstrated to control a variety of fungi such as *Aspergillus flavus*, *A. parasitica*, *A. ochraceus*, *Penicillium roqueforti*, *Penicillium spp*, *Botrytis spp*, etc.. Researchers in California are testing this biopesticide to control Alternaria disease in almond and pistachio. Result from 2006 indicates that the yeast can effectively control a waterborne bacterial contaminant that was found in the spray water midseason, so it has the potential as a control measure against human pathogenic bacterial contaminants in the field. *P. anomala* WRL-076 does not produce allergenic spores and killer toxin. The biocontrol mechanisms are being investigated. Once field efficacy of the yeast has been demonstrated, commercialization of this biopesticide should benefit growers and commodity industries.

## Controle biológico de doenças de flores e frutos jovens de citros

**Katia C. Kupper<sup>1</sup>, Nelson G.-Fernandes<sup>2</sup>, Wagner Bettiol,<sup>3</sup> , Antonio de Goes<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Instituto Biológico, Av. Conselheiro Rodrigues Alves, 1252, 04014-002, São Paulo/SP, E-mail: [kupper@biologico.sp.gov.br](mailto:kupper@biologico.sp.gov.br); <sup>2</sup>FCAV/UNESP, 14884-900, Jaboticabal/SP; <sup>3</sup>Embrapa Meio Ambiente, CP 69, 13820-000, Jaguariúna/SP.

O setor citrícola enfrenta sérios problemas representados por doenças de flores e frutos jovens que, além de diminuir a produtividade, depreciam os frutos pelo aspecto que conferem aos mesmos. Tais doenças são representadas, principalmente, pela mancha preta dos frutos cítricos (MPC), causada pelo fungo *Guignardia citricarpa* (forma anamorfa *Phyllosticta citricarpa*) e pela queda prematura dos frutos cítricos (QPFC), causada por *Colletotrichum acutatum*. A medida predominante de controle destas doenças é a pulverização com fungicidas. Entretanto, os custos financeiros e ambientais de aplicações com tais produtos, aliado às crescentes restrições à presença de resíduos, estão a exigir o estudo de novas alternativas. Assim, o controle biológico surge como uma estratégia importante de controle. Este trabalho teve por objetivo estudar 4 isolados de *B. subtilis* e 15 isolados de *Trichoderma* spp. quanto à capacidade de inibir o crescimento de *P. citricarpa*, em cultura pareada em placa de Petri contendo BDA. Os isolados de *Bacillus* e a mistura deles foram testados em condições naturais para controle da doença e, comparados com o fungicida padrão, durante a safra 2001/2002. Durante a safra de 2002/2003, foram testados, além dos isolados de *B. subtilis*, um isolado de *Trichoderma* sp. (ACB-40) e um isolado de *T. viride* (ACB-14). Com relação à QPFC, foram estudados 64 isolados de *B. subtilis* e 15 isolados de *Trichoderma* spp. quanto à capacidade de inibir o desenvolvimento do patógeno em cultura pareada e quanto à produção de metabólitos com atividade antimicrobiana e, alguns dos isolados mais promissores foram testados em condições de campo para controle da doença. Os resultados obtidos, sob condições de laboratório, mostraram que todos os isolados de *B. subtilis* e *Trichoderma* spp. inibiram o crescimento de *P. citricarpa* em cultura pareada, porém os isolados ACB-14 e ACB-40 foram os que apresentaram maior capacidade inibitória do desenvolvimento do fitopatógeno. Com relação a *C. acutatum*, todos os isolados de *Bacillus* spp. provocaram forte inibição de seu crescimento. Os isolados de *Bacillus* e de *Trichoderma* produziram, *in vitro*, metabólitos capazes de inibir o crescimento micelial do fitopatógeno. Nos experimentos sob condições de campo verificou-se que, os agentes de controle biológico, em especial ACB-69 (*B. subtilis*) e ACB-40 (*Trichoderma* spp.), têm potencial para o controle da MPC, enquanto que, dentre os sete isolados de *B. subtilis* testados para o controle da QPFC, em condições naturais de ocorrência da doença, o ACB-69 diferiu da testemunha, equiparando-se estatisticamente ao fungicida padrão utilizado, proporcionando menor porcentagem de flores com sintomas e maior número médio de frutos efetivos.

## Efeito do aumento da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico sobre a comunidade microbiana do filoplano da soja em estufa de topo aberto

**Ricardo Contreira Lessin<sup>1</sup>, Raquel Ghini<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>UNESP/FCA, Fazenda Experimental Lageado, CP 237, 18610-307 Botucatu, SP. <sup>2</sup>Embrapa Meio Ambiente, CP 69, 13820-000, Jaguariúna (SP), E-mail: [raquel@cnpma.embrapa.br](mailto:raquel@cnpma.embrapa.br)

### RESUMO

A concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico está se elevando nas últimas décadas como consequência das ações antrópicas. Essa alteração, além de intensificar o fenômeno do efeito estufa, pode afetar diretamente o manejo de algumas plantas e microrganismos de interesse agrícola. O objetivo desse estudo foi avaliar a comunidade microbiana de *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Trichoderma* spp. e leveduras presentes no filoplano da soja cultivada em estufa de topo aberto com elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico. O delineamento experimental adotado foi o de blocos ao acaso, constituído por três tratamentos: testemunha sem estufa; estufa com atmosfera ambiente sem injeção de CO<sub>2</sub>; estufa com injeção de CO<sub>2</sub> até atingir a concentração de 550 µL.L<sup>-1</sup>, com três repetições. Dois ensaios foram realizados, sendo o primeiro em março (Ensaio 1) e o segundo, em agosto de 2007 (Ensaio 2). O isolamento dos microrganismos do filoplano foi realizado a partir de plantas de soja (cultivar FT-Estrela) no estágio de desenvolvimento V4 (quarto nó e terceiro trifólio aberto), 30 dias após a emergência das plântulas. Fez-se a coleta do segundo trifólio de três plantas, escolhidas aleatoriamente dentro de cada parcela. Em seguida, as folhas foram colocadas em frascos contendo solução tampão fosfato esterilizado e submetidas a tratamento em ultra-som por 10 minutos. Para cada suspensão, foram feitas três diluições (10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup> e 10<sup>-3</sup>), com três repetições. Alíquotas das suspensões obtidas foram transferidas para placas de Petri contendo meios de cultura específicos: King B para seleção de *Pseudomonas* spp.; extrato de malte, para leveduras; e meio de Martin para *Trichoderma* spp. Para o isolamento seletivo de *Bacillus* spp., a primeira diluição (10<sup>-1</sup>) foi submetida a 80°C por 10 minutos, em banho-maria, antes da transferência para meio de BDA. A avaliação dos microrganismos foi realizada pela contagem das unidades formadoras de colônia por área foliar (ufc/cm<sup>2</sup>). No Ensaio 1, não houve efeito do aumento da concentração de CO<sub>2</sub> sobre a comunidade de *Bacillus* spp., porém houve redução de *Pseudomonas* spp.. No Ensaio 2, o tratamento aumentou as comunidades de *Bacillus* spp. e *Pseudomonas* spp. O enriquecimento da atmosfera com CO<sub>2</sub> não mostrou efeito sobre *Trichoderma* spp. e leveduras. Os resultados demonstram que o aumento da concentração do gás pode ter efeito sobre a microbiota do filoplano, especialmente na comunidade de bactérias.

## 1. INTRODUÇÃO

O aumento da concentração de dióxido de carbono na atmosfera vem sendo observado desde os primórdios da Revolução Industrial. Esse aumento é devido principalmente à queima de combustíveis fósseis e ao desmatamento. Os níveis de concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico aumentaram de 277 ppm para 371 ppm, sendo que mais da metade desse aumento ocorreu nos últimos 50 anos (MARENGO, 2006). O aumento da concentração desse gás na atmosfera, além de colaborar para a intensificação do efeito estufa no planeta, pode vir a causar também, de forma direta, modificações no comportamento de plantas e microrganismos de interesse agrícola.

Segundo Sherm *et al.* (2000), os microrganismos são um dos primeiros organismos a demonstrar os efeitos das mudanças do ambiente. Isso ocorre devido às numerosas populações, facilidade de multiplicação e dispersão e curto tempo entre gerações. Em relação às doenças de plantas, a alta concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico pode causar alterações na ocorrência e na severidade, podendo afetar tanto o patógeno como o hospedeiro, assim como a interação patógeno-hospedeiro (GHINI, 2005). Os microrganismos não patogênicos, que colonizam o filoplano das plantas, também podem ser afetados pela elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico, visto que qualquer tipo de alteração na superfície da folha e no seu ambiente é capaz de alterar o equilíbrio da comunidade microbiana do filoplano, como a poluição e a aplicação de produtos químicos (MANNING & TIEDMANN, 1995; GHINI, 1991; GHINI, 2005). Quando se trata de controle biológico de doenças de plantas, esse fenômeno adquire maior importância, pois muitos desses microrganismos do filoplano são antagonistas a fitopatógenos, indispensáveis ao controle natural de doenças. Essas alterações interferem na ocorrência de doenças, pois além do significado ecológico, apresentam um significado prático na interação patógeno-hospedeiro-comunidade microbiana do filoplano (BETTIOL, 1997).

A colonização do filoplano pelos microrganismos ocorre desde o início do desenvolvimento das plantas. A seqüência de sucessão microbiana, considerando a população dominante nos diferentes estádios, geralmente, é iniciada pelas bactérias, a seguir desenvolvem-se as leveduras, e por fim a comunidade de fungos filamentosos (BETTIOL, 1997). Assim sendo, o presente estudo teve por objetivo avaliar a comunidade microbiana de *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Trichoderma* spp. e leveduras presentes no filoplano da soja cultivada em ambiente com elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no laboratório e na área experimental da Embrapa Meio Ambiente, localizada na cidade de Jaguariúna, SP. O delineamento experimental adotado foi o de blocos ao acaso, constituído por três tratamentos: testemunha sem estufa (T); estufa com atmosfera ambiente sem injeção de CO<sub>2</sub> (E); estufa com injeção de CO<sub>2</sub> até atingir a concentração de 550 µL.L<sup>-1</sup> (E+CO<sub>2</sub>), com três repetições.

Dois experimentos foram realizados, sendo o primeiro em março e o segundo em agosto de 2007. Nas parcelas experimentais foi semeada a cultivar FT-Estrela, com espaçamento de 15 cm entre linhas e de 5 cm entre plantas.

O isolamento dos microrganismos do filoplano foi realizado a partir de plantas de soja no estágio de desenvolvimento V4 (quarto nó e terceiro trifólio aberto), 30 dias após a emergência

## IX Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas

das plântulas. Fez-se a coleta do segundo trifólio de três plantas, escolhidas aleatoriamente dentro de cada parcela. As folhas foram destacadas e, em seguida, colocadas em frascos de 200 mL contendo 100 mL de solução tampão fosfato esterilizado, e em seguida submetidas a tratamento em ultra-som por 10 minutos (GHINI & VITTI, 1993). Para cada suspensão, foram feitas três diluições ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ ), com três repetições. Alíquotas das suspensões obtidas foram transferidas para placas de Petri contendo meios de cultura específicos: King B para seleção de *Pseudomonas* spp.; extrato de malte, para leveduras; e meio de Martin para *Trichoderma* spp. (MELO & SANHUEZA, 1990). Para o isolamento seletivo de *Bacillus* spp., a primeira diluição ( $10^{-1}$ ) foi submetida a 80°C por 10 minutos, em banho-maria, antes da transferência para meio de BDA (BETTIOL, 1990).

Medidas de comprimento e largura das folhas foram utilizadas para a determinação da área foliar aproximada. A avaliação dos microrganismos foi realizada pela contagem das unidades formadoras de colônia por centímetro quadrado de folha (ufc/cm<sup>2</sup>).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos resultados obtidos no Ensaio 1, a comunidade de *Bacillus* spp. foi maior para o tratamento (T), diferindo significativamente somente do tratamento (E+CO<sub>2</sub>). No entanto, não houve diferença significativa entre os tratamentos (E) e (E+CO<sub>2</sub>), mostrando que a elevação do CO<sub>2</sub> atmosférico não teve efeito nesse grupo de microrganismos (Tabela 1).

A comunidade de *Pseudomonas* spp, no Ensaio 1, também foi maior na testemunha sem estufa (T), diferindo significativamente somente do tratamento (E+CO<sub>2</sub>). Por outro lado, houve diferença significativa entre os tratamentos (E) e (E+CO<sub>2</sub>), assim sendo a elevação de CO<sub>2</sub> atmosférico pode ter inibido a comunidade de *Pseudomonas* spp. no filoplano da soja.

No Ensaio 2, as comunidades de *Bacillus* spp. e *Pseudomonas* spp. foram maiores no tratamento (E+CO<sub>2</sub>), portanto houve efeito significativo da elevação do CO<sub>2</sub> atmosférico no aumento desses microrganismos no filoplano. Nas comunidades de *Trichoderma* spp. e leveduras, tanto no Ensaio 1 como no Ensaio 2, o aumento da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico não mostrou nenhum efeito significativo.

Os resultados demonstram, de modo geral, que o aumento da concentração do gás pode ter efeito sobre a microbiota do filoplano, especialmente na comunidade de bactérias. No entanto, é necessária a realização de novos trabalhos para a obtenção de conhecimentos sobre os efeitos que o CO<sub>2</sub> pode causar sobre os microrganismos do filoplano e, conseqüentemente, sobre o controle de doenças de plantas.

## IX Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas

Tabela 1. Comunidade microbiana do filoplano da soja.

Tratamentos <sup>1</sup>	Microrganismos (ufc/cm <sup>2</sup> )							
	<i>Bacillus</i> spp.		<i>Pseudomonas</i> spp.		<i>Trichoderma</i> spp.		Leveduras	
	Ensaio1	Ensaio 2	Ensaio1	Ensaio 2	Ensaio1	Ensaio 2	Ensaio1	Ensaio2
T	136,0 a <sup>2</sup>	111,6 b	27640,5 a	317,7 ab	908,2 a	283,1 a	5503,1 a	27,6 a
E	75,7 ab	85,9 b	16782,9 a	208,6 b	547,1 b	244,0 a	2508,1 a	14,9 a
E+CO <sub>2</sub>	48,3 b	315,2 a	4098,0 b	739,8 a	467,5 b	76,7 a	2508,1 a	13,9 a

<sup>1</sup> Tratamentos: testemunha sem estufa (T); estufa com atmosfera ambiente sem injeção de CO<sub>2</sub> (E); estufa com injeção de CO<sub>2</sub> até atingir a concentração de 550 µL.L<sup>-1</sup> (E+CO<sub>2</sub>).

<sup>2</sup> Dados seguidos da mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey (5% de probabilidade).

## REFERÊNCIAS

BETTIOL, W. Biocontrole na filosfera: problemas e perspectivas. In: LUZ, W.C., ed. **Revisão anual de patologia de plantas (RAPP)** Passo Fundo, v.5, p.59-97, 1997.

GHINI, R. 1991. Efeito de fungicidas sobre microrganismos não alvo. **Summa Phytopathologica**, v.19, p.62-63, 1991.

GHINI, R. **Mudanças climáticas globais e doença de plantas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 104p, 2005.

GHINI, R.; VITTI, A. J. Controle integrado de *Botrytis cinerea* na cultura do morango. **Summa Phytopathologica**, v.19, n. 1, p.10-13, 1993.

MELO, I. S.; SANHUEZA, R. M. **Métodos de seleção de microrganismos antagônicos a fitopatógenos: manual técnico**. Jaguariúna: Embrapa/CNPMA, 72p, 1995.

SHERM, H.; SUTHERST, R. W.; GTON, R.; INGRAM, J. S. I. Global networking for assessment of impacts of global change on plants pests. **Environmental Pollution**, v. 108, p. 333-341, 2000.

MARENGO, J. A. **Mudanças climáticas e seus efeitos sobre a biodiversidade: caracterização do clima atual e definição das alterações climáticas para o território brasileiro ao longo do século XXI**. Série Biodiversidade, v. 26, 212p, 2006.

MANNING, W. J.; TIEDEMANN, A. V. Climate change: potential effects of increased atmospheric carbon dioxide (CO<sub>2</sub>), ozone (O<sub>3</sub>), and Ultraviolet-B (UV-B) radiation on plant diseases. **Environmental Pollution**, v. 88, n.2, p. 219-245, 1995.

# Efeito do aumento da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico sobre a comunidade microbiana do filoplano da soja em estufa de topo aberto

Ricardo C. Lessin<sup>1</sup>, Raquel Ghini<sup>2</sup>

<sup>1</sup>UNESP; CP 237, 18610-307 Botucatu/SP. <sup>2</sup>Embrapa Meio Ambiente, CP 69, 13820-000, Jaguariúna/SP, E-mail: [raquel@cnpma.embrapa.br](mailto:raquel@cnpma.embrapa.br)

A concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico está se elevando nas últimas décadas como consequência das ações antrópicas. Essa alteração, além de intensificar o fenômeno do efeito estufa, pode afetar diretamente o manejo de algumas plantas e microrganismos de interesse agrícola. O objetivo desse estudo foi avaliar a comunidade microbiana de *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Trichoderma* spp. e leveduras presentes no filoplano da soja cultivada em estufa de topo aberto com elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico. O delineamento experimental adotado foi o de blocos ao acaso, constituído por três tratamentos: testemunha sem estufa; estufa com atmosfera ambiente sem injeção de CO<sub>2</sub>; estufa com injeção de CO<sub>2</sub> até atingir a concentração de 550 µL.L<sup>-1</sup> de CO<sub>2</sub>, com três repetições. Dois ensaios foram realizados, sendo o primeiro em março (Ensaio 1) e o segundo, em agosto de 2007 (Ensaio 2). O isolamento dos microrganismos do filoplano foi realizado a partir de plantas de soja (cultivar FT-Estrela) no estágio de desenvolvimento V4 (quarto nó e terceiro trifólio aberto), 30 dias após a emergência das plântulas. Fez-se a coleta do segundo trifólio de três plantas, escolhidas aleatoriamente dentro de cada parcela. Em seguida, as folhas foram colocadas em frascos contendo solução tampão fosfato esterilizado e submetidas a tratamento em ultra-som por 10 minutos. Para cada suspensão, foram feitas três diluições (10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup> e 10<sup>-3</sup>), com três repetições. Alíquotas das suspensões obtidas foram transferidas para placas de Petri contendo meios de cultura específicos: King B para seleção de *Pseudomonas* spp.; extrato de malte, para leveduras; e meio de Martin para *Trichoderma* spp. Para o isolamento seletivo de *Bacillus* spp., a primeira diluição (10<sup>-1</sup>) foi submetida a 80°C por 10 minutos, em banho-maria, antes da transferência para meio de BDA. A avaliação dos microrganismos foi realizada pela contagem das unidades formadoras de colônia por área foliar (ufc/cm<sup>2</sup>). No Ensaio 1, não houve efeito do aumento da concentração de CO<sub>2</sub> sobre a comunidade de *Bacillus* spp., porém houve redução de *Pseudomonas* spp.. No Ensaio 2, o tratamento aumentou as comunidades de *Bacillus* spp. e *Pseudomonas* spp. O enriquecimento da atmosfera com CO<sub>2</sub> não mostrou efeito sobre *Trichoderma* spp. e leveduras. Os resultados demonstram que o aumento da concentração do gás pode ter efeito sobre a microbiota do filoplano, especialmente na comunidade de bactérias.

## Uso do óleo de citronela no controle da ramulose do algodoeiro

Waléria G. Lima<sup>1</sup>, Péricles A. Melo Filho<sup>1</sup>, Marcos P. S. Câmara<sup>1</sup>, Roseane C. Santos<sup>2</sup>, Cláudio A. G. Câmara<sup>1</sup>, Adriano M. Silva<sup>1</sup>, Alessandra L. Garcia<sup>1</sup>

<sup>1</sup>UFRPE, 52171-900, Recife/PE. Brasil.E-mail: [wagueli@hotmail.com](mailto:wagueli@hotmail.com); <sup>2</sup>Embrapa Algodão, CP 174, 58107-720, Campina Grande/PB. E-mail: [caval@cnpa.embrapa.br](mailto:caval@cnpa.embrapa.br)

A ramulose, causada pelo fungo *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, é considerada a principal doença do algodoeiro. O uso de sementes sadias, cultivares resistentes e controle químico são as principais formas de controle do patógeno. O uso de agrotóxicos quando empregado indevidamente tem gerado prejuízos ecológicos. A exploração da atividade biológica de compostos secundários presentes no extrato bruto ou óleos essenciais de plantas pode constituir, uma forma efetiva de controle de doenças em plantas cultivadas. Baseando-se neste princípio, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito curativo e preventivo do óleo de citronela para controle da ramulose do algodoeiro com base em componentes epidemiológicos. Avaliando o efeito do parâmetro AACPD sob o tratamento curativo do óleo de citronela, verificou-se que houve diferença significativa do mesmo quando comparada ao tratamento da testemunha. Entretanto, ao avaliar os parâmetros IDF e TPD sob o efeito do tratamento curativo observa-se que o mesmo não diferiu significativamente da testemunha. Ao analisar as variáveis AACPD, IDF, PI e TPD observou-se que os tratamentos preventivo do óleo de citronela e fungicida diferiram significativamente da testemunha, verificando assim, que o óleo de citronela apresentou um ótimo efeito preventivo da ramulose do algodoeiro sob condições de casa-de-vegetação.

**Palavras Chaves:** Ramulose, *Colletotrichum gossypii* South. var. *cephalosporioides*, Controle alternativo.

## **Efeito de óleos vegetais no controle de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides***

**Waléria G. Lima<sup>1</sup>, Péricles A. Melo Filho<sup>1</sup>, Marcos P. S. Câmara<sup>1</sup>, Roseane C. Santos<sup>2</sup>, Cláudio A. G. Câmara<sup>1</sup>, Adriano M. Silva<sup>1</sup>, Alessandra L. Garcia<sup>1</sup>, Cíntia S. Bezerra<sup>1</sup>**

UFRPE; 52171-900, Recife/PE. Brasil. E-mail: [wagueli@hotmail.com](mailto:wagueli@hotmail.com);<sup>2</sup>Embrapa Algodão, CP 174, 58107-720 – Campina Grande/PB. E-mail: [caval@cnpa.embrapa.br](mailto:caval@cnpa.embrapa.br)

*Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* é o agente causal da ramulose do algodoeiro. O controle desse patógeno é feito via uso de sementes saudáveis, cultivares resistentes e fungicidas. Este último tem provocado malefícios ao meio ambiente. A exploração da atividade biológica de compostos secundários presentes no extrato bruto ou óleos essenciais de plantas, pode constituir uma forma alternativa de controle de doenças em plantas cultivadas. Óleos essenciais extraídos de folhas de kenaf (*Hibiscus cannabinus*), citronela (*Cymbopogon nardus*), eucalipto (*Eucalyptus citriodora*), *Piper marginatum*, acerola (*Malpighia glabra*) e lípia (*Lippia gracilis*) foram avaliados quanto à inibição do crescimento micelial, germinação dos conídios e formação do apressório de *C. gossypii* var. *cephalosporioides*. As dosagens testadas foram: 0, 500, 1000, 1500, 2000 e 2500 ppm. Os óleos de piper e lípia apresentaram maior efeito sobre a inibição do crescimento do fungo. Em relação à inibição da germinação dos conídios e formação de apressório, os óleos de citronela, lípia e eucalipto possibilitaram o controle do fungo na faixa de 60, 40 e 100%, respectivamente, a partir de 1500 ppm. Nesse estudo, a maioria dos óleos testados atuou controlando o crescimento do patógeno com ação fungicida e/ou fungistática. O óleo de citronela foi o que mais se destacou apresentando um efeito significativo protegendo a planta de forma preventiva e tão eficiente quanto o fungicida testado. Inclusive permitindo um índice inicial da doença menor que nas plantas tratadas com fungicida.

**Palavras chaves:** *Colletotrichum gossypii* South. var. *cephalosporioides*, óleos essenciais, controle alternativo.

## Promoção do crescimento de tomateiro para processamento industrial tratado com *Trichoderma harzianum*

**Murillo Lobo Jr.<sup>1</sup>; Glênio Pimenta<sup>2</sup>; Gustavo H. A. Gontijo<sup>3</sup>; Neide Botrel<sup>4</sup>.**

<sup>1</sup>Embrapa Arroz e Feijão, E-mail: murillo@cnpaf.embrapa.br; <sup>2</sup>Itaforte Bioprodutos, Itapetininga/SP, E-mail: gleniopimenta@yahoo.com.br; <sup>3</sup>UFGO, Goiânia/GO. E-mail: g\_gontijo@hotmail.com; <sup>4</sup>Embrapa Hortaliças, Brasília/DF. E-mail: nbotrel@cnph.embrapa.br.

O tomateiro para processamento industrial (*Lycopersicon esculentum*) é uma cultura de alto valor agregado, com cerca de 80% de sua área cultivada localizada na Região Centro-Oeste, em cultivos irrigados por pivô central. Neste sistema, aparentemente não há estudos sistematizados do efeito de *Trichoderma* spp. sobre o controle de doenças como o mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) ou a promoção do crescimento de plantas. Com o objetivo de verificar a eficiência de uma formulação de *Trichoderma harzianum* em campo, foi instalado um experimento em 06/2006, em área de plantio comercial, em Morrinhos (GO). Foram conduzidos três tratamentos: testemunha; uma aplicação via barra de pulverização com 1,0 L/ha de *Trichoderma harzianum* '1306' em suspensão oleosa contendo  $2 \times 10^9$  conídios / mL logo após o transplântio das mudas; o mesmo tratamento seguido de outra aplicação 30 dias após o transplântio. No dia da colheita, foram avaliadas a ocorrência de doenças causadas por patógenos que habitam o solo, a produtividade e o rendimento industrial dos frutos, em sete repetições de 1m<sup>2</sup>, espaçadas entre si por 50 metros. Os frutos foram pesados em campo, retirando posteriormente, ao acaso, sub-amostras para avaliação das dimensões dos frutos, rendimento industrial (graus brix) e firmeza de frutos. A produtividade na testemunha e nos tratamentos com uma e duas aplicações de *T. harzianum* foi, respectivamente, de 124,5; 130,9 e 154 toneladas/ha, correspondendo a um aumento de até 19,16% de produtividade. A incidência de doenças foi de no máximo de 3% de plantas com mofo branco na testemunha. No tratamento de maior produtividade, os frutos apresentaram maior diâmetro e maior espessura de polpa. Não houve diferença entre o teor de sólidos solúveis, que variou entre 4,25 (duas aplicações) e 4,45 (testemunha), e a firmeza de frutos. Frutos da testemunha resistiram, em média, a 2,90 kgf, enquanto que com uma aplicação a resistência foi, em média, de até 2,46 kgf.

Palavras-chave: rendimento industrial, controle biológico, agricultura irrigada.

# Controle de *Fusarium solani* e *Rhizoctonia solani* em lavoura de feijoeiro comum com aplicação de *Trichoderma harzianum* em jato dirigido

**Murillo Lobo Jr.<sup>1</sup>; Glênio Pimenta<sup>2</sup>; Gustavo H. A. Gontijo<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Embrapa Arroz e Feijão, Rodovia GO-462 km 12, S. Antônio de Goiás/GO, E-mail: murillo@cnpaf.embrapa.br; <sup>2</sup>Itaforte Bioprodutos, Itapetininga/SP, E-mail: gleniopimenta@yahoo.com.br; <sup>3</sup>UFG, Goiânia/GO. E-mail: g\_gontijo@hotmail.com

O controle biológico pode ser uma alternativa viável para o controle de podridões radiculares do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*), causadas por *Fusarium solani* e *Rhizoctonia solani*, sendo que a metodologia de aplicação pode ser ajustada para uma maior redução do inóculo inicial dos patógenos, junto aos sítios de infecção. Com o objetivo de controlar podridões radiculares com *Trichoderma harzianum*, foi conduzido um experimento em lavoura comercial sob alta pressão de inóculo de *F. solani* e *R. solani*, em Cristalina (GO). A suspensão oleosa de *T. harzianum* '1306' com  $2 \times 10^9$  esporos / mL foi aplicada em jatos dirigidos, durante o plantio da cv. Pérola, sobre as sementes tratadas com Fludioxonil (200 mL/100 kg sementes) e o sulco de semeadura. Foram utilizadas as dosagens de 0, 600, 800, 1000, 1500 e 2000 mL/ha. O experimento foi instalado em 10/2006, em cultivo de sequeiro, com DBC e quatro repetições. A densidade de inóculo dos patógenos foi avaliada em amostras de solo da camada 0-10 cm, obtidas logo antes do plantio e 30 dias após, em laboratório, utilizando meios de cultura ágar-água para *R. solani* e Nash & Snyder para *F. solani*. A avaliação de doenças em raiz foi feita no estágio V3 da cultura com uma escala de notas: 1 = ausência de doença; 3 = até 25% de raízes com sintomas; 5 = até 50% de raízes apodrecidas; 7 = podridões em até 75% das raízes; e 9 = sistema radicular morto. Em cada parcela foram colhidas manualmente duas sub-amostras de 2m<sup>2</sup>. Os tratamentos foram submetidos à análise de variância e análise de regressão. Os tratamentos de 800, 1000 e 1500 mL/ha foram os mais eficientes em reduzir o inóculo inicial dos patógenos, apesar de não ter havido diferença entre a severidade de doenças em raiz no estágio V3. A produtividade variou de 3216 kg/ha na testemunha a 3720 kg/ha no tratamento com 1500 mL/ha sobre o sulco de plantio. A produtividade da cv. Pérola, em função da dosagem de *T. harzianum*, foi ajustada pela equação  $y = -0,0003x^2 + 0,7599x + 3171,4$  ( $R_2 = 0,82$ ).

Palavras-chave: podridões radiculares, *Phaseolus vulgaris*, tecnologia de aplicação.

## Efeito do tratamento de sementes de soja com *Trichoderma harzianum* sobre a produtividade da soja

**Murillo Lobo Jr.<sup>1</sup>; Glênio Pimenta<sup>2</sup>; Gustavo H. A. Gontijo<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Embrapa Arroz e Feijão, Rodovia GO-462 km 12, S. Antônio de Goiás/GO, E-mail: murillo@cnpaf.embrapa.br; <sup>2</sup>Itaforte Bioprodutos, Itapetininga/SP, E-mail: gleniopimenta@yahoo.com.br; <sup>3</sup>UFG, Goiânia/GO. E-mail: g\_gontijo@hotmail.com

O tratamento de sementes com fungicidas químicos pode ser complementado com a adição de agentes de controle biológico, como o fungo *Trichoderma harzianum*. Após o final do efeito residual dos fungicidas químicos, as raízes ficam expostas a patógenos causadores de podridões radiculares, causando danos que podem reduzir a produtividade das culturas em 50%. Com o objetivo de verificar os efeitos de *Trichoderma harzianum* sobre a produtividade da soja, foram instalados experimentos nas safras de 2005/2006 e 2006/2007, em área comercial no município de Luziânia (GO). Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com tratamentos aplicados em faixas de 20 × 100 m. Sementes de soja foram tratadas com uma formulação pó molhável de *T. harzianum* '1306' com  $5 \times 10^8$  conídios viáveis/g, nas seguintes dosagens: 5, 10 e 20g da formulação por kg de sementes, para uma maior proteção das raízes. Todos os tratamentos foram tratados com Fludioxonil (200 mL/100 kg sementes) em 2005/2006, e Carbendazim + Thiram (250 mL/100 kg sementes) em 2006/2007, conforme o padrão utilizado pelo produtor. Em cada faixa foram colhidas oito repetições de 2 m<sup>2</sup>, para estimativa da produtividade. A produtividade foi avaliada na Embrapa Arroz e Feijão, com resultados submetidos à ANOVA e à análise de regressão. Em 2005/2006, Testemunha e tratamentos com 5, 10 e 20g da formulação por kg de sementes produziram, respectivamente, 2029, 2662, 2376 e 2161 kg/ha, com aumento de 23,77% da produtividade comparando-se o tratamento de 5g/kg sementes com a testemunha. Estes tratamentos produziram 2618, 3456, 3294 e 2996 kg/ha, em 2006/2007. Os resultados permitiram elaborar curvas de resposta ao tratamento com *T. harzianum* ajustadas como  $y = -3,537x^2 + 17,869x + 20,31$  ( $R_2 = 0,78$ ) no primeiro ano e  $y = -84x^2 + 1517x + 1428,8$  ( $R_2 = 0,91$ ) no segundo. Desta forma, foi demonstrado o aumento de produtividade proporcionado por *T. harzianum* '1306' e que dosagens intermediárias proporcionaram as maiores produtividades.

Palavras-chave: podridões radiculares, promoção do crescimento de plantas, controle biológico.

## **Survival and spread of *Trichoderma atroviride* SC1 in vineyard soil**

**Claudia M. O. Longa, Ilaria Pertot**

*SafeCrop Centre, IASMA, Via Mach 1, 38010 San Michele all'Adige, Trento, Italy. E.mail: claudia.longa@iasma.it, ilaria.pertot@iasma.it*

Ecological adaptability of biocontrol agents to the environmental conditions where they have to be active is relevant to reach an effective and consistent disease control. Spread and survival of BCAs is also important in environmental risk assessment. *Trichoderma atroviride* SC1, a promising fungal agent for biological control against soil plant pathogens, survives in static soil microcosms under controlled conditions. Natural conditions may differ from laboratory, therefore field trials have been carried out to evaluate the ability of *T. atroviride* SC1 to survive and spread in vineyard soil. Fungal survival and migration in soil depth were evaluated in soil sample areas measuring 0.36 m<sup>2</sup> (60 x 60 cm). *T. atroviride* SC1 grown on rice was inoculated (500g/area) on the first centimetre of soil surface with a final concentration of 10<sup>9</sup> colony forming unit (CFU)/g dry soil. Soil was sampled at inoculation time and after 1, 5, 9, 10, 18 weeks at a depth of 0, 10, 20, 30 and 40 cm. Its rhizosphere competence was assayed on young grapevine roots planted in holes of 0.27 m<sup>3</sup> (30 x 30 x 30 cm) filled with a mixture of soil and *T. atroviride* conidia grown on rice (400 g/hole). Initial fungal inoculum in the mixture was estimated in 10<sup>6</sup> CFU/g of dry soil. Migration of *T. atroviride* SC1 from soil to grapevine leaves was evaluated after 10 weeks from soil inoculation. Dispersion of *T. atroviride* SC1 in the surrounding area was analysed at 0.5, 2 and 4 m from the inoculated area, at different soil depths (on surface and at depth of 10 and 30 cm). *T. atroviride* presence was assessed in all soil samples by CFU counting on a semi-selective medium. *T. atroviride* SC1 was not recovered from the untreated soil. The unequivocal detection of *T. atroviride* SC1 in the soil was confirmed with a specific molecular marker in at least one colony/sample. *T. atroviride* SC1 survived until the end of the

experiments (18<sup>th</sup> week). On soil surface, CFU reached the highest value ( $10^{10}$  CFU/g dry soil) 10 weeks after inoculation and then it decreased reaching similar values to initial inoculum after 18 weeks. The fungal vertical migration was visible already in the first week when the number of CFU at 10, 20, 30 and 40 cm of soil depth presented a gradient of  $10^5$ ,  $10^3$ ,  $10^2$  and 10 CFU/g dry soil, respectively. Fungal spread occurred at 0.5 m of distance from the inoculated area in the soil surface and at 10 cm of soil depth, but it did not occur at any assayed distance at 30 cm of soil depth. At a distance of 2 m from the inoculum point, the fungus dispersal was limited to the soil surface. *T. atroviride* SC1 was never recovered at 4 m distance from the inoculum point. *T. atroviride* SC1 was able to colonize rhizosphere and to move from the soil to grapevine leaves. *T. atroviride* SC1 presented high ability to establish in the vineyard soil, thus representing a good candidate for biocontrol. After one year from the soil inoculation, an addition check the fungus was still recovered at concentration of 10 to  $10^3$  CFU/g of soil in the treated areas.

**Key Words:** grapevine, environmental fate, microorganism

## **Actividad sinérgica entre fungicidas dicarboximidas y timol para el control de *Sclerotium cepivorum* en condiciones de laboratorio.**

**Enrique I. Lucini, M.. Conles, R. Olmedo, M. P. Zunino, M. Piacenza, C. Colorito, V. Yossen, J.A. Zygodlo**

FCA. UNC. [eilucini@agro.uncor.edu](mailto:eilucini@agro.uncor.edu).

Los fungicidas utilizados para controlar la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (*S. cepivorum*) presentan problemas de resistencia cruzada entre distintos grupos químicos, desarrollo de resistencia por parte del patógeno, pérdida de eficacia en el tiempo, elevadas dosis necesarias y prolongado período de protección del cultivo, cuando es destinado a la cosecha de bulbos. Los terpenos de aceites esenciales mostraron una acción inhibitoria sobre el crecimiento del micelio de hongos de suelo, mostrándose como fungicidas y/o fungistáticos. El timol al tener un grupo funcional fenólico muestra una elevada actividad fungicida y/o fungistática, el orden de mayor a menor actividad antifúngica de los terpenos es fenoles, alcoholes, cetonas/aldehidos e hidrocarburos. El objetivo del presente trabajo fue determinar la actividad sinérgica entre fungicidas dicarboximidas y timol para el control de *S. cepivorum*. Se trabajó con micelio del patógeno, timol (terpeno fenólico) y procimidone e iprodione (fungicidas dicarboximidas). El micelio se sembró en cápsulas de Petri con medio de cultivo líquido (papa-glucosa), y se agregaron 37,5; 75 y 150 ppm del timol y 0,2; 0,4 y 0,6 ppm del fungicida. A los 8 días se midió % de inhibición del crecimiento. El diseño fue con estructura bifactorial y un arreglo de ensayos múltiples con 3 repeticiones por tratamiento. Los resultados fueron analizados mediante un modelo de Análisis de Varianza. Las comparaciones entre las medias de los tratamientos se realizaron por el Método de la Mínima Diferencia Significativa (LSD) de Fisher a un nivel de significación de 0,05. El porcentaje de inhibición del micelio para timol 75 ppm fue de 65,37; 58,92 y 88,31 para concentraciones de iprodione de 0,2; 0,4 y 0,6 ppm respectivamente, mientras que el valor para timol 75 ppm fue 33,46 y para iprodione de 7,89; 36,53 y 50,83, respectivamente. Procimidone mostró menor inhibición. Debido al efecto sinérgico, timol más iprodione muestran mayor inhibición del crecimiento del micelio del patógeno que el fungicida y el terpeno por separado.

# **Potencial de isolados de *Trichoderma* no controle de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*, *in vitro***

**Cleusa M. M. Lucon; Josiane T. Ferrari; Érica A. S. Pedro; Kelly R. Antunes.**

*Instituto Biológico, Av. Cons. Rodrigues Alves, 1252, 04014-002, São Paulo, SP, Brasil. E-mail: [takassaki@biologico.sp.gov.br](mailto:takassaki@biologico.sp.gov.br)*

A banana é uma das frutas mais populares e comercializadas no mundo. Um dos principais problemas fitossanitários da cultura é o mal-do Panamá, causado pelo fungo *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (*Foc*). A principal forma de controle da doença é a utilização de cultivares resistentes, indicando a necessidade do desenvolvimento de outros métodos alternativos, como o controle biológico. Dentre os antagonistas mais estudados, fungos do gênero *Trichoderma* são considerados como promissores por serem capazes de controlar grande número de fitopatógenos de solo. O objetivo do presente trabalho foi verificar o potencial de isolados de *Trichoderma* spp. no controle de *Foc*, em diferentes substratos de crescimento. Foram realizados dois ensaios de pareamento de culturas, utilizando-se no primeiro, meio BDA como substrato e 70 isolados de antagonistas. No segundo ensaio foi utilizado como substrato amostra de solo coletada em área cultivada com bananeira, adicionando-se a ela folhas de bananeira prata picadas, na proporção de 0,5%. Neste ensaio foram testados os cinco isolados que causaram os maiores halos de inibição do patógeno, em meio BDA. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições. A avaliação foi realizada pela medida do halo de inibição e do diâmetro de crescimento da colônia do patógeno, em cm, na presença do antagonista testado. Os resultados demonstraram que dezesseis dos 70 isolados testados apresentaram halos de inibição que variaram de 0,1 a 0,68 cm. Nenhum dos isolados foi capaz de crescer sobre o micélio do patógeno, indicando que o provável mecanismo de ação tenha sido a produção de metabólitos inibidores e não parasitismo. No ensaio realizado em solo, não houve inibição do crescimento do patógeno por nenhum dos cinco isolados de *Trichoderma* spp. testados, quando comparados ao tratamento controle, embora o isolado IB04/09 não foi capaz de colonizar o solo. Os diâmetros médios de crescimento dos antagonistas e do patógeno variaram de 4,6 a 4,9 cm e 1,2 a 1,6 cm, respectivamente.

# Potencial de isolados bacterianos no biocontrole de doenças da cultura do arroz irrigado.

**Juliane Ludwig, Andréa B. Moura, André S. Santos, Bianca O. Corrêa**

UFPEL; Pelotas/RS. E-mail: [abmoura@ufpel.tche.br](mailto:abmoura@ufpel.tche.br) [juludwig@yahoo.com.br](mailto:juludwig@yahoo.com.br)

O Laboratório de Bacteriologia Vegetal e Controle Biológico da Universidade Federal de Pelotas desenvolve desde 1997 um programa visando ao biocontrole da queima das bainhas (*Rhizoctonia solani*), da mancha parda (*Bipolaris oryzae*) e da escaldadura (*Gerlachia oryzae*) em arroz irrigado. Dentre os 185 isolados avaliados inicialmente por bioensaio, 8 foram selecionados: DFs185 (*Pseudomonas synxatha*), DFs223 (*P. fluorescens*), DFs306 (ainda não identificado), DFs416, DFs418 e DFs419 (*Bacillus* sp.), DFs422 (*Bacillus subtilis*), DFs471 (*Stenotrophomonas malthophilia*). Para tanto, utilizou-se suspensões de cada um dos isolados, com solução salina (NaCl 0,85%), na concentração de OD<sub>540</sub>=0,5, e microbiolizaram-se, sob agitação, sementes da cultivar El Passo L144. A inoculação de *B. oryzae* e de *G. oryzae* deu-se por aspersão de esporos e de *R. solani*, por infestação do solo. Em um primeiro momento foram selecionados os isolados mais eficientes em reduzir a doença em plantas até o estágio de perfilhamento, destacando-se os isolados DFs185, DFs223 e DFs306 que alcançaram o máximo de 92, 86 e 49% de controle da queima das bainhas, da mancha parda e da escaldadura respectivamente. Esses isolados foram utilizados em ensaios posteriores, conduzidos até a produção, proporcionando, ao longo dos anos, reduções significativas na severidade de ambas doenças, chegando no último plantio, à 80, 73 e 50% de controle da queima das bainhas, da mancha parda e da escaldadura, respectivamente. Estes mesmos isolados também possibilitaram o incremento da produção em até 50% em alguns plantios. Desta forma, pode-se considerar viável o uso destes biocontroladores, uma vez que os mesmos possibilitam o controle de um amplo espectro de doenças, além de incrementarem a produção, aliado ao fato de se tratar de uma tecnologia de baixo custo econômico.

Palavras chaves: controle biológico, *Rhizoctonia solani*, *Bipolaris oryzae*, *Gerlachia oryzae*

## **Espectro de ação de diferentes isolados biocontroladores frente a diferentes estirpes de *Bipolaris oryzae* e cultivares de arroz irrigado**

**Juliane Ludwig, Andréa B. Moura, Cley D. M. Nunes, Bianca O. Corrêa, Maria G. B. Valério**

UFPEL. Pelotas/RS. E-MAIL: [juludwig@yahoo.com.br](mailto:juludwig@yahoo.com.br), [abmoura@ufpel.tche.br](mailto:abmoura@ufpel.tche.br), 3Embrapa Clima Temperado

A mancha parda, causada por *Bipolaris oryzae*, é considerada uma das doenças mais importantes na cultura do arroz irrigado, uma vez que o patógeno pode ser responsável por danos às plântulas além de redução na produtividade e depreciação dos grãos. Com o objetivo de verificar o potencial de controle sobre diferentes estirpes do patógeno e em diferentes cultivares de arroz, foram microbiolizadas sementes de arroz com as suspensões dos seguintes isolados: DFs185 (*Pseudomonas synxatha*), DFs223 (*P. fluorescens*), DFs306 (ainda não identificado), DFs416 e DFs418 (*Bacillus* sp.), na concentração de OD<sub>540</sub>=0,5. Como testemunhas foram utilizadas sementes imersas somente em solução salina (T) ou em salina mais o fungicida carboxin+thiran (T+F). Para avaliação do espectro de ação contra diferentes estirpes de *B. oryzae*, utilizaram-se sementes da cultivar El Passo L144. Ao atingirem o estágio V4 as plantas foram inoculadas, por aspersão (10<sup>5</sup> esporos/ml) de cada uma das estirpes provenientes de diferentes regiões orizícolas do Rio Grande do Sul. Para avaliação do espectro em diferentes cultivares, utilizaram-se sementes de cultivares amplamente cultivadas no estado, sendo as plantas inoculadas no mesmo estágio e conforme metodologia descritos anteriormente, utilizando, neste caso, um isolado patogênico de *B. oryzae*. A severidade, em ambos os ensaios, foi avaliada aos 7, 14 e 21 dias após a inoculação, sendo calculada a área abaixo da curva de progresso da doença. Todos os isolados reduziram a severidade da doença, indiferente da estirpe do patógeno, sendo eficientes, também, em mais de uma cultivar, apresentando amplo espectro de ação. O impacto do biocontrole variou entre as estirpes e cultivares avaliadas. Os isolados DFs185, DFs223 e DFs306 foram superiores às testemunhas para as seis estirpes, sendo que o tratamento DFs223 resultou em 65% de controle, em média. Houve comportamento diferenciado entre as estirpes do patógeno, sendo a oriunda da região de Pelotas, a menos agressiva. O isolado bacteriano mais eficiente em controlar *B. oryzae*, quando associado às cultivares testadas, foi DFs306 sendo possível observar, em média, 58% de controle. O maior impacto do biocontrole foi observado nas cultivares BR IRGA 410 e BR IRGA 417. Deste modo, pode-se considerar viável o uso dos biocontroladores selecionados, uma vez que os mesmos apresentam elevado potencial e amplo espectro.

Palavras chaves: controle biológico, mancha parda, microbiolização de sementes

## **Introdução de agentes de *Trichoderma* em substratos para a produção de mudas de hortaliças.**

**Flávia R. A. Patrício<sup>1</sup>, Amaury S. Santos<sup>2</sup>, Cleusa M.M. Lucon<sup>1</sup>, Zayame V. Pinto<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>*Instituto Biológico, CP 70, 13001-970, Campinas/SP, Email: [flavia@biologico.sp.gov.br](mailto:flavia@biologico.sp.gov.br); <sup>2</sup>Embrapa Tabuleiros Costeiros, CP 44, 49001-970 – Aracaju/SE; <sup>3</sup>UNESP/FCA Botucatu.*

A aplicação de formulados com *Trichoderma* nos substratos para a produção de mudas de hortaliças pode ser efetuada visando protegê-las antes de serem levadas a campos infestados com fitopatógenos veiculados pelo solo. Os substratos também podem ser utilizados em experimentos de seleção de isolados de *Trichoderma* e outros antagonistas porque apresentam uniformidade, proporcionam um bom crescimento das plântulas e, de maneira geral, têm boa qualidade sanitária. No Instituto Biológico foram conduzidos experimentos em substratos visando à seleção *in vivo* de isolados de *Trichoderma*, para o controle de *Rhizoctonia solani*, *Pythium aphanidermatum*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *S. minor*. Verificou-se que os isolados selecionados como antagonistas a *R. solani* e *P. aphanidermatum* apresentaram comportamento semelhante quando aplicados em substratos de diferentes fornecedores, mas de composição semelhante (casca-de-pinus, turfa e vermiculita). Também se observou que isolados de *Trichoderma* selecionados para o controle de *R. solani* e *P. aphanidermatum* em plântulas de rabanete e pepino, respectivamente, também proporcionaram o controle desse patógenos em mudas de alface, repolho, tomate e pepino, indicando que um mesmo isolado pode ter comportamento semelhante em mudas de diferentes espécies de plantas. Verificou-se ainda em mudas de alface que alguns isolados de *Trichoderma* com boa capacidade de antagonismo a *R. solani* também proporcionaram o controle de *S. sclerotiorum* e *S. minor*. Os presentes estudos permitiram verificar que as mudas produzidas em bandejas sob substrato podem ser utilizadas como um meio para a seleção de isolados de *Trichoderma* e para a introdução de antagonistas em áreas infestadas com fitopatógenos. Todavia estudos complementares ainda são necessários, especialmente visando determinar as metodologias mais adequadas para a aplicação dos antagonistas, se no substrato, no momento do plantio, ou nas mudas após ou durante a sua formação.

Palavras-chave: fitopatógenos veiculados pelo solo, alface, pepino, repolho, tomate.

## **Produção de ácido indol acético por *Trichoderma* no biocontrole de fitopatógenos**

**Aida T. S. Matsumura; Isabel C. P. Paz; Marcus A. K. Almança; Alexandre M. Guimarães; Priscila P. Ribas; Marcia E. da Silva; Rita C. M. Santin**

*UFRGS. Av. Bento Gonçalves, 7712, 91540-000, Porto Alegre/RS. E-mail: aida@ufrgs.br*

Evidências apontam que algumas espécies de *Trichoderma* estão relacionadas ao aumento da biomassa de plantas. As auxinas produzidas por agentes de biocontrole atuam diretamente na formação do sistema radicular e, conseqüentemente, levam ao aumento da biomassa vegetal. Deste modo, poderá haver uma maior resistência contra fitopatógenos devido, principalmente, a melhor nutrição da planta. Além disto, o ácido indol acético possui ação como elicitora de resistência vegetal potencializando, portanto, o controle biológico de fitopatógenos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a produção de AIA por isolados de *Trichoderma* sp. obtidos de diferentes habitats. Estes são oriundos de solos de lavouras de feijão (2T, 4T, 5T e 6T), de arroz (TAR1, TAR2, TAR4 e TAR10) e de fumo (TF11), de mata nativa (S11), epífito de citros (TC 01) e endófito de fumo (1B). A repicagem foi feita em meio BD com três discos de BDA de 8 mm contendo micélio e esporos dos fungos, e a incubação foi realizada sob agitação de 150 rpm em agitador orbital a  $26\pm 2$  °C, com fotoperíodo de 12h. A avaliação da concentração de AIA no filtrado de cultura foi obtida pelo método colorimétrico baseado na reação do AIA com o reagente de Salkowski. A concentração de AIA das amostras foi determinada pela curva de calibração preparada com AIA nas concentrações de 0, 2, 4, 6, 10 e 16 µg/mL. Três repetições foram avaliadas para cada isolado. A maioria dos isolados de *Trichoderma* sp. produziu AIA, valendo destacar a produção de 48,79 e 19,499 µg/mL de AIA pelos isolados 1B e TAR4, respectivamente. Estudos devem ser realizados visando elucidar os mecanismos que determinam a não produção de AIA, como no caso dos isolados TC 01, TAR1 e TAR2 de solo e do isolado epifítico TC 01. Com base nestes resultados, especula-se que a produção de metabólitos secundários por *Trichoderma* sp., como o AIA, pode estar relacionada tanto com o habitat como com as características biológicas dos isolados. Assim, pode-se pensar que os isolados de *Trichoderma* sp. que produzem AIA tem potencial para promoção do crescimento das plantas e/ou para indução de resistência a fitopatógenos, atuando indiretamente no biocontrole.

**Palavras-chave:** controle biológico, AIA

## **Efeito do hidrolisado de peixe na severidade da murcha causada por *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* raça 3 em tomateiro**

**Liliana P.V. Mattos<sup>1</sup>, Wagner Bettiol<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>UNESP, CP 237, 18610-307 Botucatu/SP. <sup>2</sup>Embrapa Meio Ambiente, CP 69, 13820-000, Jaguariúna/SP, E-mail: [bettiol@cnpma.embrapa.br](mailto:bettiol@cnpma.embrapa.br)

A raça 3 de *Fol* foi recentemente descrita no Brasil e não existem materiais comerciais resistentes. O controle biológico e o uso de matéria orgânica podem representar uma alternativa de controle. O objetivo deste trabalho foi estudar o potencial de um hidrolisado de peixe (fertilizante orgânico obtido pela fermentação de resíduos de pescados marinhos frescos, comercializado com o nome de Fishfertil®), em controlar *Fol* raça 3 em tomateiro. No experimento foram utilizados três isolados da raça 3 de *Fol* (145, 146 e 149). O substrato (40% de substrato à base de casca de pinus compostada e 60% de latossolo), esterilizado e não esterilizado, foi infestado com clamidósporos dos isolados de *Fol* para obter a concentração de  $10^5$  UFC/g de substrato. Após 15 dias de incubação foi incorporado ao substrato o hidrolisado de peixe nas concentrações de 0%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40% e 50% do volume de água necessário para atingir a capacidade de campo. Transcorridos 10 dias, uma muda de tomate cultivar Santa Clara, com 30 dias de idade foi transferida para cada vaso contendo 3 litros de substrato. Além desses tratamentos foi mantida uma testemunha sem infestação do patógeno. As plantas foram cultivadas em casa de vegetação e, após 40 dias, avaliada a severidade da doença, por meio de escala de notas, para escurecimento vascular e sintomas externos, e o desenvolvimento das plantas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com dez repetições. Após o primeiro cultivo foi realizado um novo transplantio para avaliar o efeito residual. De modo geral, para os dois cultivos, não houve diferença na severidade entre os isolados de *Fol*. Todas as concentrações do hidrolisado de peixe reduziram significativamente a severidade da doença nos dois cultivos, sendo que para o substrato esterilizado a severidade da doença foi sempre superior ao não esterilizado. O desenvolvimento das plantas foi significativamente superior à testemunha infestada com *Fol* para todos os tratamentos que receberam o hidrolisado de peixe, independente dos isolados.

**Palavras-chave:** controle biológico, matéria orgânica.

## ***Bacillus* para o tratamento de sementes de algodão contaminadas com *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides***

**Flavio H. V. Medeiros<sup>1</sup>, Ricardo M. Souza, Alan W. V. Pomela<sup>2</sup>, José C. Machado<sup>1</sup>, Roberto P. Zanetta<sup>1</sup>, Danilo A. Soares<sup>1</sup>, Henrique M. Ferro<sup>1</sup>, Marcos A. C. Costa<sup>1</sup>, Helon S. Neto<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>UFLA, CP 3037, 37200-000, Lavras/MG, E-mail: [flaviohvmedeiros@gmail.com](mailto:flaviohvmedeiros@gmail.com); <sup>2</sup>Laboratório de Biocontrole Farroupilha. Av. Cica, 555, :38706-420, Patos de Minas/MG

O tombamento, causado por *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, destaca-se como uma das principais doenças do algodoeiro e o controle biológico apresenta-se como uma alternativa na redução no uso de fungicidas para o seu controle. Dessa forma, foram selecionados isolados de *Bacillus* spp. obtidos de solo rizosférico e de raízes endofiticamente a partir de plantas de algodão em áreas com longo histórico de cultivo de algodão e também de Centros de Pesquisa onde a eficiência no controle de doenças já tinha sido relatada. As bactérias foram multiplicadas em meio agar nutriente, a concentração ajustada para 10<sup>8</sup> células/mL e usada para tratar por 30min sementes artificialmente contaminadas com o patógeno pela técnica de restrição hídrica (-1MPa). As sementes foram semeadas em substrato comercial (5 sementes por vaso) e avaliadas quanto ao estande aos 15 dias após o plantio e à severidade do tombamento a cada três dias até 15 dias após o plantio. Os dados de severidade foram usados para cálculo do índice de McKinney e analisados pela área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). De um total de 341 isolados testados foram observados diferentes grupos de significância e 44 deles pertenceram aos melhores grupos para ambas as variáveis. Para o estande final foram observados valores de 1,66 a 2 plantas enquanto que para AACPD foram observadas reduções de 17,14 a 49,2% em relação à testemunha inoculada e apenas tratada com solução salina 0,85% NaCl. Os melhores grupos não diferiram estatisticamente do tratamento com o fungicida triadimenol (200mL pc /100kg de semente).

**Palavras-chave:** *Gossypium hirsutum* L., erradicação, ramulose

## **Alterações provocadas pela suspensão de *Bacillus subtilis* sobre os urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi*.**

**Regiane Medice, Eduardo Alves, Fabiano J. Perina, Eloísa A. G. L. Lopes**

UFLA; CP.3037; 37200-000–Lavras/MG, E-mail: [regiane76br@yahoo.com.br](mailto:regiane76br@yahoo.com.br); [ealves@ufla.br](mailto:ealves@ufla.br).

Vários trabalhos têm sido realizados visando potencializar o uso de agentes de biocontrole no controle de fitopatógenos. Entretanto, há certa deficiência em estudos com microscopia eletrônica de varredura e transmissão na investigação de como estes agentes interferem no desenvolvimento do patógeno. Neste trabalho, a microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi utilizada para acompanhar os efeitos da suspensão de *Bacillus subtilis* sobre urediniósporos da *Phakopsora pachyrhizi*. Folíolos de plantas de soja da cultivar MGBR46 (Conquista) infectados com o patógeno foram coletados e acondicionados em bandejas plásticas forradas com papel de filtro umedecido com água destilada. Após esse procedimento com pulverizadores manuais, foram aplicados os tratamentos: suspensão de *Bacillus subtilis* isolado AP3 na concentração de  $10^8$  ufc/ml, Acibenzolar-S-methyl (ASM) 0,04 g/L, fungicida (piraclostrobina e epoxiconazole) como controle positivo e água como testemunha. Em seguida, as bandejas foram envolvidas por saco plástico transparente e acomodadas em câmara de crescimento à temperatura de 25°C, por 24 horas. Após esse tempo retiraram-se amostras dos folíolos, as quais foram transferidas para solução fixativa (Karnovsky modificado). Após 24 horas, realizou-se o preparo das amostras para MEV de acordo com a metodologia de rotina do laboratório. Nas observações, pôde-se constatar que a suspensão de *B. subtilis* interferiu no desenvolvimento do patógeno. Com ASM os esporos se apresentaram normais, enquanto que no tratamento com a suspensão bacteriana, quando comparado à testemunha, observou-se que os urediniósporos encontravam-se totalmente murchos. Com base nas imagens, pôde-se concluir que a suspensão de *B. subtilis* apresentou potencial para o controle da *P. pachyrhizi*.

**Palavras chaves:** *Bacillus subtilis*, *Phakopsora pachyrhizi*, microscopia eletrônica de varredura.

## **Produtos alternativos para o controle da ferrugem asiática da soja em casa de vegetação.**

**Regiane Medice<sup>1</sup>, Eduardo Alves<sup>1</sup>, Fabiano J. Perina<sup>1</sup>, Luis A. A. Gomes<sup>1</sup>, Ednaldo A. Andrade<sup>2</sup>.**

<sup>1</sup>UFPA- CP. 3037, 37.200-000 – Lavras/MG, E-mail: [regiane76br@yahoo.com.br](mailto:regiane76br@yahoo.com.br); [ealves@ufpa.br](mailto:ealves@ufpa.br). <sup>2</sup>UFMT – CP.761, .78500-000, Sinop/M, E-mail: [ednaldo@cpd.ufmt.br](mailto:ednaldo@cpd.ufmt.br)

No manejo de doenças de plantas é fundamental integrar medidas de controle para viabilizar a produção, principalmente em cultivos orgânicos. Objetivou-se avaliar o potencial de vários produtos alternativos com potencial no controle do fungo *Phakopsora pachyrhizi*, agente da ferrugem asiática em soja. O bioensaio foi conduzido em casa de vegetação. Utilizou-se a cultivar MGBR-46 (Conquista). Os ensaios constaram de 10 tratamentos (cinco óleos essenciais, extrato de bulbos de alho, suspensão de *Bacillus subtilis*, fungicida (piraclostrobina e epoxiconazole), acibenzolar-S-methyl (ASM) e água). Realizaram-se três aplicações com óleos essenciais de eucalipto citriodora (0,1%), citronela (0,05%), melaleuca (0,06%), nim (0,1%) e tomilho (0,03%), extrato de bulbos de alho (20%) e suspensão de *Bacillus subtilis* ( $10^8$  ufc/mL). Os parâmetros avaliados foram presença e número de lesões por cm<sup>2</sup> de área foliar. A partir da segunda avaliação, coletaram-se folhas para a preparação de amostras para microscopia eletrônica de varredura, objetivando acompanhar os efeitos dos produtos sobre as estruturas do fungo na planta. Os dados obtidos para controle da severidade foram submetidos ao teste de Scott-Knott, com grau de confiança de 95%. Constatou-se que, quando aplicados *in vivo*, os tratamentos empregados retardaram a evolução da doença, quando comparados ao controle. Entretanto, verificou-se que ASM não induziu resistência contra a doença. Nas observações em MEV, constatou-se murchamento dos urediniósporos tratados com os óleos essenciais, extrato de bulbo de alho e suspensão de *B. subtilis*. Pode-se inferir que os produtos utilizados neste trabalho apresentam potencial para reduzir o ataque do patógeno.

**Palavras chave:** *Phakopsora pachyrhizi*, Óleos essenciais, *Bacillus subtilis*

## **Controle biológico de *Fusarium oxysporum* f. sp. *chrysanthemi* com biopreparados de *Trichoderma***

**Josiane P. Menezes; Elena Blume, Clarice G. Manzoni, Emanuele Junges, Josiane L. da Cruz, Maria Nevis Weber.**

UFSM. Av. Roraima, 1000, 97105-900, Santa Maria/RS. E-mail: [josiflor@yahoo.com.br](mailto:josiflor@yahoo.com.br);

O crisântemo é uma das flores mais comercializadas em todo o Brasil. Seu cultivo em ambiente protegido tem crescido no Rio Grande do Sul. Porém, um dos principais problemas que têm limitado sua produção são os danos causados por *Fusarium oxysporum* f. sp. *chrysanthemi*, agente causal de murcha vascular. O controle dessa doença é bastante difícil, pois esses patógenos desenvolvem-se no solo e penetram no hospedeiro via sistema radicular, tornando o controle químico ineficiente. Assim, o controle biológico é uma alternativa viável, uma vez que vários microrganismos, inclusive *Trichoderma*, destacam-se como excelentes antagonistas, pois inibem vários fitopatógenos através de competição, parasitismo direto e produção de metabólitos secundários, como enzimas líticas e antibióticos. Nesse contexto, este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito da incorporação, em substrato comercial, de biopreparados de *Trichoderma* spp, visando o controle de *F. oxysporum* f. sp. *chrysanthemi*, bem como, seus efeitos no crescimento vegetal da cultivar de crisântemo Calábria. Três isolados de *Trichoderma* sp. foram selecionados *in vitro*, pelo teste de Confronto Direto, para produção de biopreparados. Após a inoculação do patógeno, os bioprodutos (UFSMT15.1, UFSMT16 e UFSMT17 e um produto comercial) foram, individualmente, incorporados ao substrato. As avaliações foram realizadas após 100 dias, quando se observou a incidência e severidade da murcha, bem como, altura de muda, número de folhas e inflorescências e massa seca de raiz. O biopreparado do isolado UFSMT15.1 de *Trichoderma* sp. foi eficiente no biocontrole da murcha vascular, perfazendo 100% de controle, também apresentando as maiores médias de altura de muda. Nos tratamentos com o produto comercial, UFSMT16 e UFSMT17, a severidade da doença foi alta, com notas variando de 7 a 8,5. Conclui-se que a eficácia do controle da murcha em crisântemo depende do isolado utilizado.

**Palavras-chaves:** Biocontrole, murcha vascular, crisântemo.

## **Seleção de isolados de *Trichoderma* para o controle do complexo *Fusarium solani* em genótipos de soja sob plantio direto**

**Paola M. Milanesi; Miria R. D.; Simone C. Brand; Clarice G. Manzoni; Emanuele Junges; Josiane P. Menezes; Elena Blume**

UFSM; E-mail: [paola.milanesi@gmail.com](mailto:paola.milanesi@gmail.com); [eblume@smail.ufsm.br](mailto:eblume@smail.ufsm.br);

A soja (*Glycine max*) é a oleaginosa mais cultivada no mundo e entre os fatores limitantes à obtenção de altos rendimentos na cultura estão as doenças, podendo provocar perdas de 15% a 20% da produção. Uma dessas doenças é a Podridão Vermelha da Raiz (PVR), causada pelo complexo *Fusarium solani*. A PVR é de difícil controle por ser causada por um patógeno de solo, mas a pesquisa vem envidando esforços para corroborar com métodos de controle capazes de manter a doença sob controle. Uma das medidas para o controle de patógenos de solo é o controle biológico e, nesse sentido, fungos do gênero *Trichoderma* têm mostrado eficiência, controlando doenças em várias culturas de interesse econômico. No entanto, para a cultura da soja existe uma escassez de dados mostrando o uso de *Trichoderma* spp. no controle de patógenos de solo. O presente trabalho objetivou selecionar isolados de *Trichoderma* nativos da rizosfera de genótipos de soja com sintomas (FUNDACEP 53RR) e sem sintomas de PVR (FUNDACEP 55RR e CEPS RR 06010) perante um isolado de *Fusarium* spp. obtido a partir de lesões no sistema radicular de uma planta com sintomas de PVR (FUNDACEP 53RR). Através do teste de Confrontação Direta, um disco de meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA) de 12mm de diâmetro contendo micélio de *Fusarium* spp. foi colocado a 0,5cm da borda da placa de Petri. Em seguida, as placas foram incubadas por 48 horas a 23°C ( $\pm$  2°C) e fotoperíodo de 12 horas. Após esse período, um disco de BDA, de 12mm de diâmetro, contendo estruturas dos isolados de *Trichoderma* spp. foi transferido para as placas em posição oposta ao disco contendo micélio do patógeno. As placas foram mantidas a 23°C ( $\pm$  2°C) e fotoperíodo de 12 horas. O desenho experimental utilizado foi inteiramente casualizado com cinco repetições. Aos oito dias, realizou-se a avaliação das placas utilizando-se a escala de Bell et al. (1982), a qual atribui notas variando de 1 a 5. Todos os isolados de *Trichoderma* spp. obtiveram nota 2, na qual o antagonista cresce sobre uma parte do patógeno (2/3 da placa) e, entre os isolados obtidos de plantas com e sem sintomas de PVR, não se observaram diferenças no controle de *Fusarium* spp. Esse resultado permite inferir que isolados de *Trichoderma* spp. nativos da rizosfera de soja podem controlar *Fusarium* spp.

**Palavras-chave:** *Glycine max* L. Merrill, Podridão Vermelha da Raiz, Confrontação Direta, *Fusarium* spp., *Trichoderma* spp.

## **Progenies de *Coffea arabica* resistentes à ferrugem visando o sistema orgânico de cultivo**

**Júlio C. Mistro, Luiz C. Fazuoli, Gérson S. Giomo, Antonio C. B. Oliveira, Marcos R. Petek, Masako T. Braghini**

*IAC/APTA, Campinas-SP. E-mail: mistrojc@iac.sp.gov.br;*

A agricultura orgânica cresce a passos largos motivada pela preocupação dos consumidores e produtores com as questões da qualidade dos alimentos, saúde humana e sistemas de produção sustentáveis. Neste sistema não se utiliza o termo “produtividade máxima econômica”, sendo mais adequado pensar na “produtividade biológica”. A ferrugem-do-cafeeiro (*Hemileia vastatrix*) é a principal doença da cultura, causando danos na produção entre 35 e 50%. Temperaturas entre 20 e 25°C e umidade relativa alta favorecem o seu desenvolvimento. O emprego de cultivares resistentes/tolerantes à ferrugem é a tecnologia mais eficiente para o seu controle. Nos programas de melhoramento de plantas deve-se procurar desenvolver cultivares com resistência multigênica, pois esta é condicionada por vários genes, sendo, portanto, mais efetiva contra diversas raças do patógeno. Isto pode ser um fator de relevada contribuição para o controle biológico dentro de um sistema de cultivo orgânico. O presente trabalho teve por objetivo avaliar, em condições de campo, progênies obtidas no Programa de Melhoramento do IAC, visando resistência/tolerância à ferrugem a fim que integrem, no futuro, o sistema orgânico de produção. O experimento, instalado no Instituto Agrônomo em 1993, foi composto por dezoito tratamentos, seguindo o delineamento de blocos ao acaso, com três repetições e cinco plantas por parcela. As progênies foram avaliadas quanto a produção, altura de plantas, diâmetro de copa e ferrugem-da-folha. Houve, no experimento, condições favoráveis para o desenvolvimento da ferrugem-do-cafeeiro nas plantas, pois o controle Catuaí Vermelho - IAC 99, que suscetível, manifestou a doença e a testemunha Obatã IAC 1669-20, que é resistente, se portou como imune à ferrugem. As progênies 6 (IAC 4344), 7 (IAC 4306), 8 (IAC 4316), 9 (IAC 4314), 11 (IAC 4311), 14 (H 13440-1), 15 (IAC 4308), 16 (IAC 4307) e 18 (IAC 4315) foram imunes à ferrugem, sem qualquer sinal de infecção. A progênie 12 (IAC 4309) apresentou a maior produção e teve 93% das plantas resistentes à ferrugem. Estas progênies apresentaram potencial genético para o desenvolvimento de novas cultivares, produtivas, de porte baixo e resistentes/tolerantes à ferrugem e que poderão integrar, no futuro, o sistema orgânico de produção de café.

Palavras-chave: café, ferrugem-do-cafeeiro, café orgânico.

## **Integração de métodos físicos e biológicos no controle de doenças em viveiros de plantas medicinais: estudo de caso com *Cordia verbenacea***

**Marcelo A. B. Morandi**

*Embrapa Meio Ambiente, CP 69, 13820-000, Jaguariúna/SP, E-mail: [mmorandi@cnpma.embrapa.br](mailto:mmorandi@cnpma.embrapa.br)*

O óleo essencial extraído de *Cordia verbenacea* (erva-baleeira) tem efeito antiinflamatório e tem sido usado comercialmente na fabricação de pomadas e sprays. O cultivo em larga escala da cultura depende do transplante de mudas produzidas em viveiros a partir de sementes. No ano de 2004 foi identificado no viveiro do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA), da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp) uma doença causada por *Phoma* sp. Os sintomas da doença são necrose das nervuras e estrangulamento das hastes, com formação de inúmeros picinídios. As perdas chegaram a mais de 60% das mudas no viveiro. Um primeiro teste verificou que o patógeno não estava sendo transmitido pelas sementes. Porém, os novos lotes de mudas eram rapidamente infectados ao serem colocados no viveiro. Para se resolver o problema, foi proposto um esquema de manejo integrado que incluiu, em seqüência: 1) Limpeza e desinfestação das instalações do viveiro. Para tal foram removidas todas as plantas e restos culturais e realizada a lavagem das bancadas e piso, seguida da desinfestação das instalações com hipoclorito de sódio. 2) Desinfestação prévia do substrato com coletor solar. Estas duas primeiras medidas visaram a redução do inóculo inicial do patógeno na área. 3) Recolonização do substrato com aplicação de biofertilizante à base de esterco bovino, visando o incremento da diversidade e atividade microbianas no substrato. 4) Manejo da irrigação, com a redução da frequência e ajuste da hora, para reduzir o período de molhamento foliar e assim limitar a ocorrência de ambiente favorável à infecção. 5) Proteção do filoplano, por meio da pulverização quinzenal de biofertilizante a 10%, visando a formação de uma “barreira biológica” sobre as mudas. 6) Manutenção da limpeza, por meio da eliminação freqüente de plantas e partes de plantas doentes, visando a redução da disseminação do inóculo secundário do patógeno no interior do viveiro. Com a implementação destas medidas, verificou-se a redução drástica das perdas causadas pela doença para menos de 10% das mudas. Conclui-se que a integração de medidas simples, baseadas no conhecimento epidemiológico, podem ser ferramentas valiosas no manejo de doenças em viveiros.

**Palavras-chave:** Plantas medicinais, manejo integrado, epidemiologia, biofertilizante.

## Controle alternativo de *Geotrichum candidum* através de extratos aquosos de plantas medicinais

Aldenir Oliveira<sup>1</sup>; Rosana L. M. Sampaio<sup>1</sup>; André S. Xavier<sup>1</sup>; Érika C. T. Anjos<sup>2</sup>; Jean H. A. Monteiro<sup>1</sup>; Elineide B. Silveira<sup>1</sup>; Rosa L. R. Mariano<sup>1</sup>

<sup>1</sup>UFRPE, R. Dom Manoel de Medeiros, s/n, 52171-900, Recife/PE, E-mail: [aldeoli@oi.com.br](mailto:aldeoli@oi.com.br). <sup>2</sup>UFPE, Rua Prof. Nelson Chaves s/n, Cidade Universitária, 50670-901 Recife/PE.

Os prejuízos na pós-colheita de hortaliças podem ser totais quando decorrentes de danos provocados pelo armazenamento inadequado ou de infecções muito severas de patógenos como *Geotrichum candidum*. Este fungo é um habitante comum do solo, principalmente em regiões tropicais e pode causar a podridão-azeda ainda no campo em tomate, batata e cenoura. Penetra por ferimentos, tornando a área afetada aquosa, promovendo o rompimento da epiderme e o escorrimento de água do interior do fruto. Um dos enfoques da agricultura alternativa é o controle de doenças de plantas, onde a exploração da atividade biológica de compostos secundários presentes no extrato bruto de algumas plantas medicinais pode se constituir numa potencial forma de controle. Tendo em vista as diversas propriedades químicas da alfavaca (*Ocimum gratissimum*), aroeira (*Schinus molle*), capim-santo (*Cymbopogon citratus*) e picão-preto (*Bidens pilosa*) e visando reduzir as perdas pós-colheita causadas por este fitopatógeno, foi avaliado o efeito desses extratos aquosos *in vitro* contra *G. candidum*. Para obtenção do extrato aquoso (EA), as folhas das plantas medicinais foram lavadas com sabão em água corrente, desinfestadas com hipoclorito de sódio (1:3) e passadas por duas vezes em água destilada. Em seguida, as folhas foram trituradas em liquidificador, sendo o homogeneizado resultante filtrado em peneira, gaze e papel de filtro. Os EA's foram incorporados em dois meios de cultura fundente: BDA e o TDA (tomate-dextrose-ágar), nas concentrações de 5%, 10%, 25% e 50%. Um disco de 5mm de diâmetro contendo o micélio do fungo foi transferido para o centro de cada placa de Petri, as quais foram mantidas em condições de laboratório a  $\pm 25^{\circ}\text{C}$ . O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com sete repetições, sendo o controle constituído pelo fungo nos meios sem extratos. As avaliações foram realizadas através de medições do diâmetro das colônias até que um dos tratamentos atingisse a borda da placa. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. Não houve diferença significativa quanto à colonização do patógeno nos dois meios de cultura utilizados. O extrato de alfavaca a 25% apresentou uma redução do crescimento micelial de *G. candidum* de 90,68%. Tanto o EA de alfavaca quanto o de aroeira na concentração de 50%, reduziram em até 100% o crescimento do patógeno. Esses extratos revelaram uma ação fungitóxica direta, indicando a presença de compostos inibitórios para o crescimento fúngico.

**Palavras-chave:** Controle alternativo, *Geotrichum candidum*, plantas medicinais.

## Controle de *Sclerotinia sclerotiorum* por *Trichoderma* em cártamo

Geovana G. Oliveira, Elena Blume, Graziela Piveta, Marlove F. B. Muniz, Rogério Bellé

UFSM,, Av. Roraima 1000, 97105-900, Santa Maria/RS, e-mails:  
geovanagomez@hotmail.com, eblume@smail.ufsm.br, marlove@smail.ufsm.br  
belle@smail.ufsm.br

O cártamo (*Carthamus tinctorius*) é uma cultura recente no país e pouco se conhece sobre doenças associadas a ela, como o mofo branco causado por *Sclerotinia sclerotiorum*. *Trichoderma* spp. são fungos não patogênicos usados no antagonismo a patógenos. Objetivou-se verificar a eficácia *in vivo* de *Trichoderma* spp. no controle de *S. sclerotiorum* em cártamo, utilizando-se um isolado do patógeno e três formulados à base de *Trichoderma* spp. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado em um esquema bifatorial 3x2 (isolado ETSR 20, isolado TC 1.15, produto comercial Agrotich e presença e ausência do patógeno) com quatro repetições por tratamento. Incorporaram-se, ao substrato, discos de BDA com micélio do patógeno e dois gramas por quilo de substrato do antagonista. Avaliaram-se parâmetros de crescimento nas plantas (altura de parte aérea, comprimento de raízes, peso fresco e peso seco de parte aérea e raízes). A doença não pode ser avaliada, pois não houve sintomas visuais nas plantas. Também não houve interação entre os dois fatores principais. Mesmo sem apresentarem sintomas da doença, na presença do patógeno as plantas tiveram um crescimento inferior àquelas que cresceram na ausência do patógeno. Todos os formulados de *Trichoderma* spp. aumentaram o peso fresco de raízes e os demais parâmetros variaram de acordo com o formulado. Assim, conclui-se que a presença de *S. sclerotiorum* no substrato reduz o crescimento de plantas de cártamo e que *Trichoderma* spp. pode amenizar esse dano.

**Palavras-chave:** *Carthamus tinctorius* L., mofo-branco, controle biológico

---

\* Parte da Dissertação de Mestrado do segundo autor, Universidade Federal de Santa Maria, 2007.

Apoio: Capes e CNPq

## ***Pseudomonas fluorescens* e *Pseudomonas putida* isoladas de um sistema orgânico de produção de hortaliças apresentando antagonismo *in vitro* contra *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii***

**Rafael S. Pacheco<sup>1</sup>, Anelise Dias<sup>1</sup>, Marcius V. B. Silva<sup>1</sup>, Jacqueline F. Carvalho<sup>1</sup>, Gustavo R. Xavier<sup>1</sup>, Norma G. Rumjanek<sup>1</sup>, Raul L. D. Ribeiro<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Embrapa Agrobiologia, Rod. BR 465, Km 7 CEP 23890-000, Seropédica RJ, E-mail:rafaelrural2003@gmail.com. <sup>2</sup>UFRRJ

Uma coleção formada por 94 isolados fluorescentes de *Pseudomonas fluorescens* e *P. putida* foi obtida da rizosfera de hortaliças: couve (*Brassica oleracea* var. *acephala*), alface (*Lactuca sativa*), salsa (*Petroselinum sativum*) e rúcula (*Eruca sativa*), todas cultivadas em um sistema orgânico de produção em Seropédica/RJ. Os isolados foram identificados por meio do kit API 20NE BioMerieux®. Essa coleção foi analisada quanto à capacidade antagonística contra os fungos fitopatogênicos *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii in vitro*. Isolados virulentos de *R. solani* e *S. rolfsii* foram obtidos de Bertalha (*Basella alba*) e do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*) respectivamente e foram crescidos em meio BDA por 4 dias a  $28 \pm 2^\circ$  C. Após a incubação, retirou-se um disco da colônia com 0,5 cm de diâmetro transferido-o para o centro de uma placa de Petri contendo meio King B. A 2 cm da borda dessa placa foi inoculada cada estirpe bacteriana a ser testada quanto à capacidade antagonística. As placas foram incubadas a  $28 \pm 2^\circ$  C e após 4, 6 e 9 dias foram determinados os tipos de interação entre patógeno e bactéria. Foram verificados três tipos de resposta: (I) ausência de antagonismo, (II) indicativo de competição definido pela paralisação do crescimento do fungo ao contactar a colônia bacteriana e, (III) inibição com formação de halo característico. A análise pelo kit API 20NE caracterizou como *P. putida* a maior parte dos isolados obtidos de couve e salsa, enquanto de alface foram obtidos 50% de isolados caracterizados como *P. fluorescens*. As respostas provenientes da aplicação do kit API 20NE foram ainda utilizadas para criação de um dendrograma onde separou-se três grupos, um formado por estirpes caracterizadas como *P. fluorescens* e dois grupos formados por estirpes de *P. putida*. De acordo com as características analisadas, as estirpes de *P. putida* são mais similares entre si do que as de *P. fluorescens*. Cerca de 15% das estirpes de *P. fluorescens* e 50% das de *P. putida* não foram antagonísticas aos dois fitopatógenos. Das estirpes de *P. fluorescens* com capacidade antagonística, cerca de 80% apresentam resposta contra ambos os fungos, enquanto apenas 24% das estirpes de *P. putida* apresentam esse tipo de resposta. As estirpes de alface foram as que apresentaram a mais alta percentagem de resposta antagonística contra os fungos estudados. Os dados obtidos indicam que *in vitro* as estirpes de *P. fluorescens* apresentam maior capacidade antagonística contra os dois fitopatógenos.

**Palavras-chave:** antagonismo, fitopatógeno, Promotoras de crescimento, controle biológico.

## **Desenvolvimento de substrato supressivo para o controle de *Fusarium* em crisântemo**

Zayame V. Pinto<sup>1</sup>; Wagner Bettiol<sup>2</sup>. <sup>1</sup>UNESP/FCA CP102, 18618.000, Botucatu-SP; <sup>2</sup>Embrapa Meio Ambiente, CP69, 13820.000, Jaguariúna-SP; e-mail: bettiol@cnpma.embrapa.br

Uma das principais plantas ornamentais produzidas no Brasil é o crisântemo (*Crysanthemum morifolium*), tanto como flor de vaso quanto de corte. Seu cultivo pode ser limitado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *chrysanthemi*, agente causal de murcha. Uma provável alternativa para o seu controle é o uso de substrato supressivo, o qual pode ser obtido por meio de mistura de matéria orgânica. O presente trabalho teve por objetivo desenvolver um substrato supressivo ao patógeno por meio da incorporação de cama de frango, lodo de esgoto e esterco de suíno em um substrato comercial à base de casca de pinus (Multiplant<sup>®</sup>). Os materiais orgânicos foram incorporados ao substrato básico nas concentrações de 0%, 10%, 20% e 30%, além da combinação nas concentrações de 15% ou 10%. Após a mistura os substratos foram incubados por 10 dias em vasos com capacidade de 3,3 litros, sendo em seguida realizado o transplântio das mudas de crisântemo. O experimento foi instalado em propriedade com histórico da doença no município de Holambra/SP, cuja transmissão do patógeno ocorre pela água de irrigação. Transcorridas 8, 12, 15 e 20 semanas do transplântio foi avaliada a severidade da doença por meio de escala de notas (0=planta sadia, 1=haste central levemente escurecida, 2=vasos da haste central totalmente escurecidos, 3=vasos da haste central totalmente escurecidos e pelo menos uma das hastes secundárias com vasos escurecidos, 4=todos os vasos escurecidos e/ou sintoma de murcha, 5=planta morta). Além disso, foi determinada a hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA) como indicador de atividade microbiana e análises químicas dos substratos. O lodo de esgoto e a cama de frango, em combinação ou separadamente, reduziram a severidade da doença em relação à testemunha. A incorporação de matéria orgânica aumentou a atividade microbiana dos substratos. O pH variou na faixa de 5 a 5,9 nos substratos com lodo, diferenciando dos demais que foi entre 6,5 a 7,1. Todas as concentrações de macro e micronutrientes foram superiores à testemunha com a incorporação das matérias orgânicas no substrato.

Palavras chaves: matéria orgânica, supressividade, controle biológico.

## Método para identificação de isolados de *Trichoderma stromaticum* eficientes para o biocontrole da vassoura-de-bruxa do cacauieiro.

**Alan W. V. Pomella<sup>1</sup>, Givaldo R. Niella<sup>2</sup>, Luiz R. M. Pinto<sup>3</sup>, Jorge T. Souza<sup>4</sup>, Leandro L. Loguercio<sup>3</sup>.**

<sup>1</sup>Sementes Farroupilha, CP 90, 38702-054, Patos de Minas/MG, E-mail: [alan@sementesfarroupilha.com.br](mailto:alan@sementesfarroupilha.com.br); <sup>2</sup>CEPLAC, Rod. BR 415, Km 22, Ilhéus (BA); <sup>3</sup>UESC, Rod. BR 415, Km 16, 45662-000, Ilhéus/BA; <sup>4</sup>UFRB, Cruz das Almas/BA.

*Trichoderma stromaticum* (*Ts*) é antagonista do fungo causador da vassoura-de-bruxa, *Moniliophthora perniciosa* (ex *Crinipellis* – *Cp*), por meio do micoparasitismo. Sua utilização em escala agrônômica tem sido fomentada na região sul da Bahia na última década, com base no produto comercial Tricovab, produzido e distribuído pela CEPLAC, a partir de isolado introduzido do Pará. Estudos recentes mostraram que *Ts* tem ampla ocorrência e distribuição nessa região, com seus isolados pertencentes aos grupos genéticos I e II. Neste trabalho, buscou-se estudar a ação a campo de 63 isolados de *Ts*, dos 2 grupos acima (Tricovab inclusive), em condições típicas de lavoura cacauieira. Para cada isolado de *Ts*, borrifou-se 21 em vassouras secas (3 repetições de 7 vassouras cada) com suspensão de  $10^7$  esporos.mL<sup>-1</sup>, pendurando-as a campo, a 1,5 m de altura, em 2 experimentos consecutivos de 3 meses cada. Foram observadas a taxa de esporulação de *Ts* nas vassouras, durante a incubação a campo, e a incidência e severidade residual de *Cp* em câmara úmida (7-10 dias a temperatura ambiente), após o período no campo. Os resultados mostraram uma grande variabilidade fenotípica dos isolados quanto a essas variáveis. A dispersão no 1º experimento foi muito maior do que no 2º, pois a incidência de *Cp* entre os tratamentos de *Ts* variou de 0 a 83%. A precipitação e temperaturas maiores no 1º experimento, isto é, condições mais favoráveis à interação antagonista entre os fungos, ajudam a explicar essa grande variação de fenótipos de biocontrole, bem como o fato de que, no 2º experimento, a dispersão foi menor, mas com altas incidências de *Cp* para os isolados (entre 41,5 e 100%). Análises de correlação e regressão indicaram que esporulação de *Ts* e presença residual de *Cp* associam-se de forma inversamente proporcional. Uma classificação de isolados com base nessas informações agrupou-os em 3 fenótipos de biocontrole de *Cp* – superiores, médios e inferiores. Apesar da alta variação entre experimentos, alguns isolados foram consistentemente superiores. Uma análise comparada indicou que o isolado do grupo II utilizado no Tricovab apresentou eficiência mediana e menor consistência de comportamento em distintas condições ambientais em relação a outros mais eficientes e consistentes no micoparasitismo de *Cp* (grupo I). Isso indica a necessidade de se aprofundar os estudos para a produção em larga-escala dos isolados mais eficientes. Experimentos posteriores de validação para alguns isolados selecionados confirmaram a eficiência do método de escrutínio e a possibilidade de melhorar uso do biocontrole da vassoura-de-bruxa na cacauicultura.

**Palavras-chave:** *Trichoderma* – *Moniliophthora* – *Theobroma* – controle biológico

# Obtenção e seleção *in vitro* de isolados procariotes residentes de filoplano de macieira visando o biocontrole da Mancha das Folhas da Macieira.

**Christtianno L. Rollemberg<sup>1</sup>; Louise L. May-De Mio<sup>1</sup>; Reginaldo S. Romeiro<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>UFPR, Rua dos Funcionários, 1540, 80035-050, Curitiba/PR, E-mail: [christthroll@yahoo.com](mailto:christthroll@yahoo.com). <sup>2</sup>UFV, 36570-000 Viçosa/MG, E-mail: [rromeiro@ufv.br](mailto:rromeiro@ufv.br)

A Mancha das Folhas da Macieira (MFM) causada por *Glomerella cingulata* (GC), *Colletotrichum gloeosporioides* (CG) e *C. acutatum* (CA) tem grande importância no Paraná, já que a maioria dos pomares implantados são da cultivar Gala, que é muito susceptível a doença e, também, ao clima que favorece o desenvolvimento e a disseminação do patógeno. Objetivou-se formar uma coleção de procariotas isolados de filoplano de macieira e avaliá-los em bioensaios *in vitro* indicando os mais promissores para o biocontrole da mancha das folhas da macieira *in vivo*. Foram coletadas amostras de órgãos de macieiras sadias nos municípios de Campo Largo, Lapa e Porto Amazonas/PR. De cada planta, sempre que possível, foram coletadas amostras de lançamentos vegetativos, folhagem completamente expandida, botões florais e frutos jovens. Das amostras foram extraídos os residentes seguindo metodologia adaptada de Romeiro *et al.* (2000). Também foram coletadas folhas e frutos de macieira que apresentavam sintomas da doença para isolamento dos patógenos. Após os isolamentos foram realizados ensaios para avaliar a inibição de germinação de conídios e do crescimento micelial dos patógenos. Os isolados pré-selecionados foram testados quanto à produção de composto extracelulares voláteis e de compostos extracelulares termoestáveis, e inibição de formação de mancha em folhas destacadas de macieira. Como resultado dos isolamentos foram obtidos 142 isolados bacterianos residentes de filoplano (BRF). Observou-se inibição da germinação dos conídios de 80 a 100% para CA e 37 isolados BRF para CG. Para o GC não houve avaliação devido à ausência de ascósporo para efetuar o ensaio. Na inibição de crescimento micelial, foram selecionados 39 isolados de BRF para CA, 22 para CG e 23 para GC. Combinando-se os resultados foram pré-selecionados 45 isolados. Na atividade de compostos voláteis, foram selecionadas 43 isolados BRF para CA, 40 para CG e 45 para GC. Na atividade de compostos termoestáveis foram selecionados 35 isolados BRF para CA, 44 para CG e 41 para GG. E na inibição de formação de manchas, 37 isolados de BRF inibiram as formações de manchas causadas pelo CA e 41 para CG. Com isso, foram apontados 31 isolados bacterianos para prosseguirem em testes futuros da infecção na planta. Conclui-se que dos 142 isolados BRF 31 isolados são os melhores para controlar *in vitro* os patógenos da mancha foliar da macieira, sendo das folhas o maior número de isolados bacterianos finalistas.

**Palavras-chave:** bactérias, *Malus domestica*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum acutatum*, *Glomerella cingulata*

# **Análise do potencial inibitório de *Streptomyces* frente ao fitopatógeno *Rhizoctonia solani*, visando seu biocontrole**

**Juliana P. Rosa; Rodrigo F. Souza; Adriana M. Fróes; Rosalie R.R.Coelho**

*UFRJ. Av. Brigadeiro Trompowski S/N 21941-590 Rio de Janeiro/RJ. E-mail: [ju.micro@gmail.com.br](mailto:ju.micro@gmail.com.br)*

*Rhizoctonia solani* causa doenças em diversas culturas tais como tomate, batata, arroz, alface, brócolis, espinafre, pimentão, feijão e café com perdas econômicas significativas. O controle de *R. solani* é de extrema importância para o desenvolvimento da agricultura. Os actinomicetos são amplamente distribuídos em ambientes naturais como rios, mares e na atmosfera, porém o solo é o seu reservatório mais comum. No presente trabalho, a estirpe 218, de *Streptomyces*, foi testada quanto à capacidade de inibir o crescimento do fungo *R. solani* em meio sólido em placa. Foi avaliada também quanto à produção de quitinases em meio líquido contendo apenas micélio do mesmo fungo e sais minerais. A dosagem da atividade quitinolítica foi realizada utilizando substratos sintéticos fluorogênicos específicos para detectar a atividade de exo e endoquitinases. A cinética de produção de quitinases apresentou um pico após o terceiro dia de incubação, a partir do qual os níveis da referida enzima não sofreram alterações significativas. Além disso, a estirpe 218 também se mostrou capaz de inibir o crescimento de *R. solani* em placa. Sendo assim, esta estirpe foi considerada promissora, podendo ser de grande interesse para o controle de doenças em vegetais causadas por *R. solani*.

**Palavras-chave:** *Rhizoctonia solani*, *Streptomyces sp*, controle biológico, quitinase, antibiose.

## **Interação de fungos micorrízicos arbusculares, *Trichoderma harzianum* e *Bacillus subtilis* no controle de *Phytophthora parasitica* em limoeiro ‘cravo’**

**Valéria M. R. Sala<sup>1</sup>, Deise R. G. Agnani<sup>1</sup>, Adriana P. D. Silveira<sup>1</sup>, Carlos I. Aguilar-Vildoso<sup>2</sup>, Itamar S. Melo<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>IAC; C.P. 28, 13001-970, Campinas/SP, E-mail: [valeriamarino@uol.com.br](mailto:valeriamarino@uol.com.br); [deiseagnani@ig.com.br](mailto:deiseagnani@ig.com.br); [apdsil@iac.sp.gov.br](mailto:apdsil@iac.sp.gov.br); <sup>2</sup>Phytonema, Limeira/SP, E-mail: [phytonema@phytonema.com.br](mailto:phytonema@phytonema.com.br); <sup>3</sup> Embrapa Meio Ambiente, CP 69, 13820-000, Jaguariúna/SP, E-mail: [itamar@cnpma.embrapa.br](mailto:itamar@cnpma.embrapa.br);

Estudos das interações de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) e outros microrganismos da rizosfera têm mostrado o efeito do FMA nas populações destes microrganismos e vice-versa. Assim, o objetivo foi estudar o efeito das interações de FMAs e agentes de controle biológico no crescimento da planta e no controle de *Phytophthora parasitica* no limoeiro ‘Cravo’ (*Citrus limonia*). Um experimento avaliou a interação na planta em substrato inerte, sendo os tratamentos: com e sem FMA (*Glomus intraradices* inoculado na sementeira - pré-colonização ou inoculado no transplântio), com e sem os agentes de controle biológico (*Trichoderma harzianum* e *Bacillus subtilis*) e com e sem o patógeno (*P. parasitica*). Um segundo experimento, utilizando-se uma mistura de solo e areia (3:1), realizado em esquema fatorial 3 x 3 x 2, constou de dois agentes de controle biológico (*T. harzianum* e *B. subtilis*) e um controle (sem agente) X dois FMAs (*G. intraradices* e *Glomus etunicatum*) e uma testemunha (sem FMA) X com e sem *P. parasitica* com inoculação anterior, posterior e concomitante do FMA e dos agentes de controle biológico. No experimento empregando substrato inerte (areia) houve controle da *Phytophthora* por todos os agentes de controle empregados. A colonização micorrízica nas plantas sem patógeno foi significativamente maior quando o FMA foi inoculado na sementeira. A pré inoculação do FMA aumentou a massa de raiz das plantas. No experimento realizado com o substrato solo:areia, houve menor severidade da podridão radicular quando *G. intraradices* foi inoculado anteriormente a ambos os agentes de controle biológico ou concomitantemente ao *Trichoderma* quando este saprófita foi inoculado antes do *G. etunicatum*. Os antagonistas não influenciaram a colonização radicular. O crescimento da planta foi favorecido pela inoculação do FMA e pelos agentes de controle, sendo que a interação *G. intraradices* e *Bacillus* e *G. etunicatum* e *Trichoderma* foram benéficas para o desenvolvimento radicular. A produção de matéria seca da parte aérea foi favorecida pela inoculação do FMA e pelos agentes de controle biológico inoculados anterior ou concomitante ao FMA.

**Palavras-chave:** micorriza arbuscular, agentes de controle biológico; podridão radicular.

## **Efeito da temperatura e hospedeiro sobre o crescimento e eficiência de isolados de *Clonostachys rosea* no controle de *Botrytis cinerea***

**Elen R. Santos; Marcelo A. B. Morandi; Mariana Fernandes**

*Embrapa Meio Ambiente, CP 69, 13820-000, Jaguariúna/SP, E-mail: [mmorandi@cnpma.embrapa.br](mailto:mmorandi@cnpma.embrapa.br)*

Roseiras e morangueiros são culturas de grande importância econômica no Brasil, tanto para a exportação quanto para o consumo interno. O mofo cinzento (*Botrytis cinerea*) causa grandes perdas na produção destas culturas. O controle biológico de *B. cinerea* com o uso do antagonista *Clonostachys rosea* é eficiente, economicamente viável, e sem impactos ao ambiente. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da temperatura no crescimento de isolados de *C. rosea*, obtidos de diferentes regiões brasileiras e sua eficiência no controle de *B. cinerea* em roseira (*Rosa* sp.) e morangueiro (*Fragaria X ananassa*). Foram testados 12 isolados de *C. rosea*. Avaliaram-se o crescimento micelial em BDA e em discos de folhas de roseira e morangueiro em diferentes temperaturas (15, 20, 25, 30 e 35°C) e a eficiência de controle do patógeno nas folhas destas mesmas hospedeiras. A maioria dos isolados de *C. rosea* tiveram crescimento máximo a 25°C, porém alguns isolados se destacaram, crescendo melhor em outras temperaturas, como Cr61 e Cr111 que tiveram melhor crescimento a 20°C, temperatura ideal para o crescimento do patógeno. Nenhum isolado cresceu a 35°C, demonstrando que *C. rosea* não se desenvolve na temperatura do corpo humano. As temperaturas de 20 e 25°C também foram as melhores para a colonização foliar dos isolados de *C. rosea*. Todos os isolados foram recuperados satisfatoriamente até após 168h da inoculação. No teste de supressão de *B. cinerea* em roseira, os isolados Cr59, Cr60 e Cr73 suprimiram totalmente o crescimento e esporulação de *B. cinerea*. Já em morangueiro, além destes, os isolados Cr61, Cr62, Cr87, Cr111, Cr113 e Cr115 se destacaram suprimindo significativamente (Tukey, 5%) o crescimento e esporulação de *B. cinerea*. Tanto para roseira quanto para morangueiro somente o isolado Cr114 não foi eficiente para o controle de *B. cinerea*. Verificou-se que existem diferenças entre os isolados de *C. rosea* quanto à capacidade de se estabelecer e controlar *B. cinerea* em diferentes hospedeiros e faixas de temperatura, e sendo assim torna-se necessário à seleção de isolados adequados às condições ambientais do patógeno.

**Palavras-chave:** roseira, morangueiro, mofo cinzento, controle biológico, *Clonostachys rosea*, *Botrytis cinerea*.

## **Avaliação de substratos para multiplicação de isolado de *Trichoderma harzianum* e *T. viride***

**Gilvan J. C. Santos; Amanda S. Costa**

UFMG, CP 64, 58700-950, Patos/PB, E-mail: [gilcampeloapae@ig.com.br](mailto:gilcampeloapae@ig.com.br); [amandaobr@hotmai.com](mailto:amandaobr@hotmai.com)

O gênero *Trichoderma* é reconhecidamente antagonico a diferentes fitopatógenos. Objetivou-se testar substratos para multiplicação de isolados de *Trichoderma*. Os substratos utilizados foram arroz, quirera de milho e vagens da algarobeira trituradas, todos autoclavados em sacos de polipropileno por duas vezes para depois receberem suspensões de  $10^6$  esporos/ml dos isolados de *T. harzianum* (T25) *T. viride* (TR2), sendo estes substratos incubados e acondicionados em câmara de incubação por 15 dias em regime de luz alternadas (12h luz/12h escuro). Após esse período os substratos colonizados foram incorporados ao solo e misturados para se obter uma mistura homogênea (solo + substratos) em caixas plásticas (42x28x10cm). Depois de 48 horas de repouso as caixas receberam 50 sementes de aroeira do sertão (*Myracrodruon urundeuva*) por caixa num total de 400 sementes/tratamento e colocadas em câmara de crescimento vegetativo. Avaliaram-se o Stand Final de plântulas de aroeira nos substratos testados por 14 dias pela incorporação dos substratos ao solo. Concluiu-se que os isolados de *T. harzianum* (T25) e *T. viride* (TR2) tiveram desempenho melhor no substrato de vagem de algarobeira em relação aos substratos arroz e quirera milho e que substratos colonizados com os isolados (T25) e (TR2) propiciaram o stand final de plântulas de aroeira.

**Palavras-chaves:** algarobeira, substrato, *Trichoderma*.

## Influência de metabólitos produzidos por *Trichoderma* sobre esporulação de *Fusarium*

Hugo A. Santos<sup>1</sup>; Sueli C. M. Mello<sup>1</sup>; José R. Peixoto<sup>2</sup>; Giselle A. Marques<sup>1</sup>; Mônica A. Macedo<sup>1</sup>; Irene Martins<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Parque Estação Biológica, W5 Norte, 70770-900, Brasília/DF, E-mail: [hugoosan@cenargen.embrapa.br](mailto:hugoosan@cenargen.embrapa.br). <sup>2</sup>UnB, Asa Norte, Brasília/DF

A Fusariose tem como agente causador o fungo *Fusarium* spp., sendo responsável pela redução da produtividade e constantes migrações em diversas culturas. O controle desta doença é preventivo, já que não existe ainda um tratamento eficaz, uma vez estabelecida. Espécies do gênero *Trichoderma* são micoparasitas que agem inibindo o desenvolvimento de fungos fitopatogênicos seja por parasitismo, competição ou produção de metabólitos. Este trabalho objetivou avaliar o potencial antagonico de isolados de *Trichoderma* spp. (CEN 201, CEN 129, CEN 240, CEN 280 e CEN 523), pertencentes à coleção da Embrapa-Cenargen, por meio de produção de metabólitos termoestáveis (MT), não termoestáveis (MNT) e voláteis (MV) na inibição da esporulação de *Fusarium* sp. Nos ensaios MT e MNT os isolados foram cultivados em meio líquido (batata-dextrose) sob agitação a 150 rpm à 25°C, no escuro. Após 10 dias, a parte líquida foi filtrada. Para o experimento MT, o filtrado foi adicionado ao meio BDA na proporção de 25% (v/v), antes da autoclavagem. Para o MNT, o filtrado foi esterilizado em membrana milipore 0,45µm e adicionado ao meio BDA na proporção de 25% (v/v). Em ambos os casos, o meio foi distribuído em placa de Petri e inoculado com disco (5mm de diâmetro) do patógeno. No ensaio MV discos de micélio (5 mm) do patógeno e do antagonista foram inoculados em meio BDA e incubados por 12 horas, sendo então vertidas, as de *Fusarium* sp. sobre as de *Trichoderma* spp. Avaliou-se o crescimento e produção de esporos do *Fusarium* sp. após nove dias. O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente ao acaso com quatro repetições. Todos os testes feitos com metabólitos influenciaram negativamente a esporulação de *Fusarium* sp., sendo que nos testes com MNT, os isolados não apresentaram diferença estatística entre si. Já nos testes com MT, o isolado CEN 201 foi o que apresentou melhor resultado. No ensaio MV o isolado que mais se destacou foi o CEN 129. Concluiu-se que os isolados selecionados são candidatos potenciais para o controle da Fusariose.

**Palavras- chave:** *Trichoderma*, *Fusarium*, metabólitos.

## **Utilização de *Trichoderma harzianum* no controle da pinta-preta (*Alternaria solani*) em batata.**

**Ricardo L. Santos, Tiyoiko N. H. Rebouças, Marinês P. Bomfim, Wedisson O. Santos**

*UESB/Biofábrica. E-mail: [rycardolim@gmail.com](mailto:rycardolim@gmail.com)*

A batata (*Solanum tuberosum*) é considerada uma das principais hortaliças do Brasil. Dentre as principais doenças da cultura, destaca-se a pinta-preta ou mancha-de-alternária, causada pelo fungo *Alternaria solani*. Inicialmente as folhas mais velhas são atacadas pelo fungo, levando as lesões concêntricas, podendo provocar desfolha total das plantas, reduzindo o ciclo da cultura e produzindo tubérculos pequenos. O uso regular de fungicidas é a principal medida de controle da doença, logo a busca de métodos alternativos de controle se faz necessária. *Trichoderma harzianum* vem demonstrando grande potencial de biocontrole, além de agir como promotor de crescimento, colonizando as raízes de diversas culturas. O presente trabalho teve por objetivo avaliar o potencial antagonístico de *T. harzianum* na inibição do crescimento micelial de *A. solani* por meio de pareamento de culturas, metabólitos voláteis, não-voláteis, e líquido metabólico. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) com doze repetições. As placas foram incubadas em câmara BOD a uma temperatura constante de 25°C e após quinze dias o crescimento micelial foi medido com um paquímetro digital. Os resultados obtidos foram submetidos ao teste Tukey a 5% de probabilidade. Em todas as metodologias avaliadas, *T. harzianum* foi eficiente no controle do crescimento micelial de *A. solani*. As médias de crescimento (cm) para antagonista e patógeno respectivamente foram: pareamento de culturas (9:1,5cm), metabólitos voláteis (9:2.4cm), metabólitos não-voláteis (9:1.35 cm), método do líquido metabólico (9:0.0cm). Conclui-se que *T. harzianum* controlou eficientemente o crescimento micelial de *A. solani* por meio da produção de metabólitos.

**Palavras-chave:** Biocontrole, fungos fitogatógenos, *Solanum tuberosum* L.

## **Produção de metabólitos por *Trichoderma viride* no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 2 em tomateiro**

**Ricardo L. Santos , Marinês P. Bomfim, Wedisson O. Santos, Tiyoko N. H. Rebouças**

UESB/Biofábrica: [rycardolim@gmail.com](mailto:rycardolim@gmail.com)

A murcha-de-fusarium, causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* é uma importante doença do tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) no mundo. O fungo ataca a planta a partir do solo, penetrando nas raízes, invadindo o sistema vascular, levando a murcha da planta, amadurecimento precoce dos frutos e redução da produtividade. As medidas de controle são ineficazes ou pouco efetivas, sendo utilizadas cultivares tolerantes no cultivo do tomateiro. A busca de métodos eficazes para o controle da doença se faz necessária, sendo o controle biológico uma promissora alternativa. *Trichoderma viride* vem demonstrando grande potencial de biocontrole por meio de metabólitos. Alguns desses compostos têm a vantagem de difundir no solo, resistindo às mudanças de temperatura tornando o controle do patógeno eficiente. O presente trabalho teve por objetivo verificar a eficiência de metabólitos voláteis, não-voláteis e líquido metabólico produzidos por *T. viride* no controle de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Todos os metabólitos controlaram o crescimento micelial do patógeno eficientemente. Os tratamentos submetidos ao teste de metabólitos voláteis e termoestáveis não diferiram entre si, e ambos diferiram do tratamento metabólitos não voláteis, apresentando melhor controle do crescimento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Conclui-se que *T. viride* foi eficiente no controle do crescimento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, e que esse controle é dado pela produção de metabólitos voláteis, não voláteis e líquido metabólico.

**Palavras-chave:** biocontrole, murcha-de-fusário, *Lycopersicon esculentum* Mill.

## **Utilização de *Trichoderma harzianum* no controle *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides* do maracujazeiro**

Ricardo L. Santos, Wedisson O. Santos, Marinês P. Bomfim, Tiyoko N. H. Rebouças, Abel R. S. José

UESB/Biofábrica. E-mail: rycardolim@gmail.com

O fungo *Colletotrichum gloeosporioides* é o causador de uma das principais doenças do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*), a antracnose. A doença afeta todos os órgãos da parte aérea, sendo maior sua incidência nas folhas, ramos e gavinhas jovens. Nos frutos, as manchas aparecem quando estão bem desenvolvidos, especialmente quando maduros, tornando-os inadequados para a comercialização, pelo aspecto da casca e ação do patógeno na polpa, que fermenta e apodrece. O controle preventivo é uma das melhores formas de supressão da doença, sendo o controle biológico uma técnica viável. Diversos fungos têm seu sucesso comprovado como agente de biocontrole e outros estão sendo apontados como potenciais, dentre eles espécies de *Trichoderma*. O presente trabalho teve por objetivo avaliar o potencial antagonístico de *Trichoderma harzianum* a *Colletotrichum gloeosporioides* através das técnicas de pareamento de culturas, metabólitos voláteis e não-voláteis e líquido metabólico. O delineamento adotado foi o inteiramente casualizado (DIC) com doze repetições por tratamento. As placas foram incubadas em câmara BOD a uma temperatura de 25°C e após quinze dias o crescimento micelial do patógeno foi medido com um paquímetro digital e as médias submetidas ao teste Tukey a 5%. Para o pareamento de culturas, o antagonista inibiu o crescimento do patógeno em 97,75%, sendo as médias de crescimento 1,9cm e 8.45cm para antagonista e patógeno, respectivamente. Os metabólitos voláteis inibiram o crescimento micelial de *C. gloeosporioides* em 96.8%. Para metabólitos não voláteis e líquido metabólico a inibição do crescimento foi de 100%. *Trichoderma harzianum* foi eficiente no controle do crescimento micelial de *C. gloeosporioides* e que essa inibição foi devido à produção de compostos não voláteis, voláteis e termoestáveis.

**Palavras-chave:** antracnose, controle biológico, *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*

Avaliação da sobrevivência de *Trichoderma asperellum* sobre folhas de feijoeiro em função do horário da aplicação e da utilização de adjuvantes.

**Rodrigo G. Santos<sup>1,2</sup>; Bianca A. Ramualdo<sup>1</sup>; Julio B. Queiroz<sup>1</sup>; Agnaldo. Guimarães<sup>2</sup>, Alan W. V. Pomella<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>UNIPAM <sup>2</sup>Laboratório de Biocontrole Farrroupilha. Av Cica 555, 387006-000, E-mail: alan@sementesfarrroupilha.com.br

A utilização de produtos biológicos baseados em fungos e bactérias para o manejo de pragas, vem a cada dia ganhando mais espaço na agricultura brasileira. A tecnologia de aplicação constitui-se em gargalo para o sucesso desta prática. A utilização de adjuvantes na formulação dos produtos pode auxiliar no aumento de sua eficiência, pois protegem os propágulos contra efeitos adversos da temperatura e de raios ultravioleta. *Trichoderma asperellum* é um fungo de solo que vem sendo utilizado em diversas culturas, para o manejo de patógenos como *Fusarium*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Rhizoctonia*. Este estudo teve como objetivo avaliar a sobrevivência de *T. asperellum* em função do horário de aplicação e utilização de adjuvantes adicionados na calda. O experimento foi conduzido em campo em uma lavoura de feijão (*Phaseolus vulgaris*) com delineamento montado em blocos casualizados com três repetições em cultivo sob pivô central, Patos de Minas-MG. Foram realizados os seguintes tratamentos: *T. asperellum* (concentração  $1 \times 10^7$  conídios/mL), *T. asperellum* + adjuvante siliconado (0,15% v:v) e *T. asperellum* + adjuvante a base de óleo mineral (0,4% v:v). As pulverizações foram nos seguintes horários: 10:00, 12:00, 15:00 e 17:00 horas. Após 48h da aplicação foram coletadas sete folhas de cada planta por tratamento em cada bloco. As amostras foram levadas para o laboratório para quantificação dos propágulos viáveis na superfície das folhas. Para tanto foi utilizado o método de diluição seriada. Para cada repetição foi retirada 1g das folhas e adicionado 10mL de água destilada esterilizada. As suspensões sofreram até cinco diluições e foram plaqueadas em meio de cultura BDA1/5 acidificado para restringir o crescimento bacteriano. As placas foram incubadas a 25°C por 72h. A recuperação do antagonista foi significativamente maior na superfície das folhas quando o mesmo fora aplicado sem qualquer adjuvante. Os resultados indicaram também que os horários de 10 e 12 h promoveram uma maior sobrevivência do isolado quando comparado com os horários de 15 e 17 h.

## **Antagonismo *in vitro* de rizobactérias contra *Ralstonia solanacearum* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense***

**Vilma M. Santos<sup>1</sup>, Érika C.T. Anjos<sup>1</sup>, Rosa L. R. Mariano<sup>2</sup>, Uided M. T. Cavalcante<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>UFPE; 50670-420, Recife/PE, E-mail: vilma@itep.br, erikaanjos@yahoo.com.br, umaaze@yahoo.com.br. <sup>2</sup>UFRPE; 52171-900, Recife/PE, E-mail: rmariano@truenet.com.br

O cultivo da bananeira encontra-se ameaçado pela ocorrência de doenças causadas por microrganismos patogênicos que causam consideráveis perdas, como o fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, agente do Mal-do-Panamá e a bactéria *Ralstonia solanacearum* raça 2 (biovar 1), agente do Moko da bananeira. Microrganismos antagônicos têm sido avaliados na inibição de diferentes fitopatógenos, constituindo uma alternativa promissora para o biocontrole de doenças. Foram realizados dois experimentos *in vitro* para avaliar o potencial antagônico de rizobactérias do grupo *Pseudomonas* fluorescentes (BAN76, BAN90, BAN117, BAN118, BAN119 e BAN120) para o controle de *R. solanacearum* (B52, B66, B74) e *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (CFMM802, URM267 e URM2201) obtidos de bananeiras. No experimento com *R. solanacearum*, suspensões foram preparadas em água destilada esterilizada e ajustadas para  $8 \times 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>, sendo adicionados 3mL das suspensões de cada isolado a 120 mL de meio NYDA liquefeito. Após a distribuição do meio em placas de Petri e solidificação, o inóculo das bactérias antagonistas foi transferido para quatro pontos da placa, distantes da borda cerca de 2 cm. A atividade antagônica foi avaliada pela medida do halo de inibição (mm) após 48h de incubação e a intensidade de inibição foi classificada. Para verificar o antagonismo das rizobactérias contra *F. oxysporum* f.sp. *cubense*, um disco de ágar de 0,5 cm, contendo micélio do fungo foi transferido para placa de Petri contendo BDA, distanciado da borda 2,5 cm e na outra extremidade fez-se uma estria da bactéria testada. Dez dias após a incubação foram avaliados: crescimento micelial (cm); percentual de inibição e tamanho do halo de inibição (mm). De modo geral, os seis isolados de *Pseudomonas* fluorescentes inibiram o crescimento de *R. solanacearum* e *F. oxysporum* f. sp. *cubense* variando de acordo com o isolado rizobacteriano e o do patógeno. *Pseudomonas* BAN76 não induziu a formação de halo frente a *R. solanacearum* B66 e também não promoveu redução do crescimento micelial do isolado URM267. Ficou comprovado que isolados de rizobactérias podem inibir o crescimento *in vitro* de *R. solanacearum* e *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, mas estudos posteriores são necessários para esclarecer o mecanismo de ação dessas bactérias.

## Prospecção por isolados bacterianos capazes de hidrolisar quitina

Jaqueline T. Schäfer<sup>1</sup>, Andréa B. Moura<sup>1</sup>, Flávio A. O. Garcia<sup>2</sup>, Reginaldo S. Romeiro<sup>2</sup>

<sup>1</sup>UFPEL, C.P. 354, 96010-900, Pelotas/RS. E-mail: [jaquelinets@gmail.com](mailto:jaquelinets@gmail.com) <sup>2</sup>UFV 36571-000; Viçosa/MG

A produção de enzimas hidrolíticas pode ser um fator extremamente importante no processo de parasitismo. Quitinases formam um grupo de enzimas que hidrolisam quitina, importante componente da parede celular de fungos e nematóides. Geralmente quitinases estão fortemente associadas ao parasitismo de fungos e de nematóides fitopatogênicos, portanto apresentam importância no biocontrole de doenças. O objetivo deste trabalho foi realizar prospecção dos isolados bacterianos da coleção do Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Fitossanidade (UFPEL) quanto à capacidade de hidrolisar quitina *in vitro*. Para verificar a degradação da quitina, isolados bacterianos foram repicados para meio de cultura sólido, contendo quitina como única fonte de carbono. As bactérias foram repicadas em “spot”, em número de 14 por placa de Petri (90 mm), dispostas de forma equidistante. As placas foram mantidas em B.O.D a 28°C por até 14 dias. A avaliação foi realizada por observação, ou não, de halo claro de degradação em torno da bactéria indicativo de hidrólise da quitina, isto é, de atividade quitinolítica. Foram avaliados 276 isolados obtidos de folhas, túnica e bulbilhos de alho (90) e de cebola (57), de sementes de arroz (39), de solo (84) e contaminantes indicadores de antibiose (6). Muitas bactérias sequer foram capazes de apresentar algum tipo de crescimento no meio utilizado. Apenas 21 bactérias (7,6% dos isolados) apresentaram atividade quitinolítica, embora em intensidade variada. Das 21 bactérias que apresentaram atividade quitinolítica, 6 isolados foram obtidos do alho, 13 do solo, 1 da cebola e 1 contaminante indicador de antibiose. O único isolado que gerou halo de degradação da quitina e que foi identificado até o momento foi o DFs419C pertencente ao gênero *Bacillus*. Este isolado atua como biocontrolador, em diferentes níveis, das principais doenças que ocorrem na cultura do arroz: mancha parda (*Bipolaris oryzae*), escaldadura (*Gerlachia oryzae*), queima das bainhas (*Rhizoctonia solani*) e nematóide das galhas (*Meloidogyne graminicola*). Outros dois isolados bacterianos DFs150 e DFs467C, embora não tenham sido identificados, foram selecionados para o controle de *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis* em cebola e alho respectivamente.

**Palavras-Chave:** quitinase, enzimas hidrolíticas, *Bacillus*

## Prospecção por isolados bacterianos produtores de antibióticos ativos contra fungos fitopatogênicos II—dados adicionais

**Jaqueline T. Schäfer, Vanessa P. Gonçalves, Andréa B. Moura, Vanessa N. Soares**

UFPEL, C.P. 354, 96010-900; Pelotas/RS E-mail: [jaquelinets@gmail.com](mailto:jaquelinets@gmail.com)

Um grande potencial biotecnológico existe na natureza e merece ser explorado rotineiramente. Neste sentido, o laboratório de Bacteriologia Vegetal da FAEM/UFPEL dispõe de uma coleção de isolados bacterianos com fins de biocontrole de patógenos. Algumas destas bactérias podem sintetizar compostos com funções antibacterianas, antifúngicas, antitumorais e imunossupressoras, podendo também atuar como herbicidas. Também há a possibilidade de produção de enzimas que inibam processos vitais de algumas espécies de microrganismos. Assim, o objetivo deste trabalho foi averificar existência de bactérias produtoras de compostos antimicrobianos ativos contra patógenos que atacam caules e sistema radicular de plantas. Para avaliar esta atividade, obteve-se líquido metabólito de cada bactéria avaliada, repicando-se estas em meio líquido e incubando-as a 28°C/72h. Após o crescimento, estas foram centrifugadas por 15 minutos a 33320 g. O líquido sobrenadante foi submetido a um banho ultrassônico por 20 minutos. Para verificação da antibiose, foram vertidos 10mL do meio BDA em placas de Petri. Após a solidificação do meio, foram feitas 4 cavidades distribuídas nos bordos das placas de forma equidistantes, colocando-se 10µL do líquido metabólito nestas cavidades. No centro da placa, foi colocado um disco de micélio de um dos fungos: *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii* e *Verticillium albo-atrum*. As testemunhas constituíram-se de placas com BDA contendo somente o fungo. As placas foram incubadas a 22 ± 2°C e a antibiose foi avaliada somente quando as testemunhas atingiram os bordos das placas, onde o zero (0) significou ausência de inibição e um (1), presença do halo de inibição do crescimento micelial. Dos isolados avaliados, 60,7% não foram capazes de inibir nenhum fungo em estudo e, apenas 1,8% dos isolados foi capaz de inibir crescimento de todos os fungos. *V. albo-atrum* se mostrou mais sensível aos compostos e foi inibido por 19,4% dos isolados, enquanto que *S. rolfsii* foi inibido por apenas 4,4% dos isolados. Apenas 9 isolados foram capazes de inibir o crescimento dos 5 fungos em estudo. Estas bactérias produtoras de compostos bioativos apresentam um potencial a ser explorado, porém serão avaliados mais 500 isolados bacterianos com estes mesmos fungos. Os isolados mais promissores serão identificados, seus compostos purificados e avaliados, observando a ação destes também sobre outros organismos de interesse.

**Palavras-Chave:** antibiose, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii* e *Verticillium albo-atrum*

## **Bactérias endofíticas do cafeeiro induzem a produção de enzimas relacionadas com a defesa da planta contra a ferrugem (*Hemileia vastatrix*)**

**Harllen S. A. Silva<sup>1</sup>; César R. F. Terrasan<sup>2</sup>; João P. L. Tozzi<sup>3</sup>; Itamar S. Melo<sup>3</sup>; Wagner Bettioli<sup>3</sup>.**

<sup>1</sup>Instituto Biológico, C.P. 70, 13001-970, Campinas/SP. E-mail: [harllen@biologico.sp.gov.br](mailto:harllen@biologico.sp.gov.br)

<sup>2</sup>UNESP, C.P. 199, 13506-900, Rio Claro/SP. <sup>3</sup>Embrapa Meio Ambiente, C.P. 69, 13820-000, Jaguariúna/SP.

A partir de uma coleção de bactérias endofíticas isoladas de cafeeiro de diversas regiões do estado de São Paulo, mantida na coleção de culturas da Embrapa Meio Ambiente, foram selecionados os isolados com potencial em controlar a ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix*). Em mudas de cafeeiro da cultivar Mundo Novo tratadas com quatro isolados bacterianos endofíticos (*Brevibacillus choschinensis* (3F), *Bacillus megaterium* (109G), *Microbacterium feittaceum* (115G), *Cedecea davisae* (119G)), foram realizados estudos para se verificar o efeito sobre os níveis de peroxidase, fenilalanina amônia-liase e lipoxigenase e sobre a ferrugem do cafeeiro. Suspensões aquosas das bactérias ( $10^8$  ufc mL<sup>-1</sup>) foram aplicadas em duas folhas verdadeiras de cada planta, até o nível de escorrimento. Decorridos três dias, outras duas folhas foram inoculadas com suspensão de uredíniosporos do patógeno (2 mg mL<sup>-1</sup>), tomando-se o cuidado de se preservar as folhas tratadas com as endofíticas. Após a inoculação, as plantas foram mantidas por seis horas em ambiente escuro, a 22 °C ±2 e, aproximadamente, 100% de umidade relativa. Mudas tratadas com água e inoculadas compuseram o tratamento controle. Utilizaram-se plantas com oito pares de folhas definitivas, com aproximadamente sete meses de idade. Sete dias após a inoculação, foram preparados extratos com as folhas não tratadas, e estimada a atividade das enzimas por espectrofotometria. Decorridos mais 18 dias foi determinado o número de pústulas de ferrugem por folha. Houve aumento significativo (Tukey 5%) apenas da atividade de peroxidase em plantas tratadas com as endofíticas 3F e 119G. O isolado 119G proporcionou as menores médias de pústulas de ferrugem por folha. Possivelmente, essa bactéria pode ter induzido o aumento da atividade de outras enzimas de resistência não estudadas no trabalho, ou ainda possui outros mecanismos de controle, além da indução de enzimas de resistência.

**Palavras-chaves:** endofíticos, indução de resistência, ferrugem do cafeeiro.

## **Seleção de microrganismos endofíticos como agentes de biocontrole da ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix*).**

**Harllen S. A. Silva<sup>1</sup>; João P. L. Tozzi<sup>2</sup>; César R. F. Terrasan<sup>3</sup>; Itamar S. Melo<sup>2</sup>; Wagner Bettioli<sup>2</sup>.**

<sup>1</sup>Instituto Biológico, CP 70, 13001-970, Campinas/SP. E-mail: [harllen@biologico.sp.gov.br](mailto:harllen@biologico.sp.gov.br);  
<sup>2</sup>Embrapa Meio Ambiente, CP 69, 13820-000, Jaguariúna/SP. <sup>3</sup>UNESP, C.P. 199, 13506-900, Rio Claro/SP.

Isolados de bactérias (216) e de fungos (17) endofíticos do cafeeiro foram submetidos a ensaios para seleção de agentes de biocontrole da ferrugem. Na primeira etapa, sobre a face abaxial de discos de folhas (cv. Mundo Novo), com 2,0 cm de diâmetro, aplicaram-se os endófitas bacterianos com 24 horas de crescimento e concentração ajustada para  $10^8$  ufc mL<sup>-1</sup>. Para os fungos, uma suspensão de  $10^6$  esporos mL<sup>-1</sup> foi preparada quando houve esporulação do isolado. Na ausência de esporos, preparou-se uma suspensão de micélio triturado, ajustada para OD<sub>540</sub> = 0,5. Os endófitas foram aplicados 72 e 24 horas antes e após a inoculação com uredíniosporos do patógeno (1 mg mL<sup>-1</sup>), e simultaneamente à inoculação. Alíquotas de 25 µL foram aplicadas sobre os discos, tanto dos endofíticos quanto do patógeno. Os discos foram acondicionados sobre espuma umedecida, em bandejas, e tampadas com lâmina de vidro (12 h de luz, 22 °C e UR 100%). O delineamento foi inteiramente casualizado com três repetições por isolado e com quatro discos para cada intervalo de aplicação. A avaliação foi realizada 25 dias após a inoculação por meio de escala de notas (0 a 5, de acordo com a % de área lesionada do disco). O teste Scott-Knott (5%) foi empregado para a comparação das médias. Os endófitas de melhor desempenho foram os isolados bacterianos: 3F, 14F, 36F, 109G, 115G, 116G, 119G, 123G e 137G, aplicados nos intervalos de 72 e 24 horas antes da inoculação. Esses isolados foram selecionados e utilizados no ensaio com mudas de café sadias com sete pares de folhas expandidas (cerca de oito meses de idade). Os endofíticos foram introduzidos 72 e 24 horas antes e simultaneamente à inoculação do patógeno por pulverização de suspensão de células. A inoculação deu-se via suspensão de uredíniosporos a 2,0 mg mL<sup>-1</sup> e, após, as plantas permaneceram em câmara de crescimento, no escuro, por 24 horas, sob condições controladas (22 °C ± 2, UR ≈ 100%) e a seguir foram transferidas para casa de vegetação. Decorridos 25 dias realizaram-se contagens de pústulas, “flecks” e de folhas por planta e estimou-se o número de lesões/folha. O delineamento foi inteiramente casualizado com seis repetições (vasos com duas plantas) por tratamento e plantas onde apenas pulverizou-se água compuseram o controle. As médias foram comparadas pelo teste Tukey (5%). Os melhores níveis de controle foram obtidos quando da aplicação dos endófitas 72 horas antes da inoculação. O isolado 119G foi o que proporcionou o maior nível de controle (média de 0,27 lesão/folha, comparado ao controle com 2,47 lesões/folha).

## **Bioprospecção de microrganismos endofíticos promotores do crescimento do cafeeiro e estudo dos mecanismos envolvidos**

**Harllen S. A. Silva<sup>1</sup>; João P. L. Tozzi<sup>2</sup>; César R. F. Terrasan<sup>3</sup>; Itamar S. Melo<sup>2</sup>; Wagner Bettiol<sup>2</sup>.**

<sup>1</sup>*Instituto Biológico, C.P. 70, 13001-970, Campinas/SP. E-mail: harllen@biologico.sp.gov.br;* <sup>2</sup>*Embrapa Meio Ambiente, C.P. 69, 13820-000, Jaguariúna/SP.* <sup>3</sup>*UNESP, 13506-900, Rio Claro/SP.*

Dentre 225 isolados de microrganismos endofíticos de cafeeiro originários de plantas cultivadas no estado de São Paulo, sendo 206 bactérias e 19 fungos, foram selecionados isolados com capacidade de promover o crescimento de mudas de café. O efeito de promoção foi avaliado em mudas (cv. Mundo Novo) provenientes de sementes tratadas com suspensão aquosa de células (bactérias) e propágulos ou esporos (fungos) por 24 horas. Sementes tratadas com água compuseram o tratamento controle. Aos 180 dias após a semeadura e mantidas em casa de vegetação com sombrite, avaliou-se a altura das plantas, número de folhas, peso seco da parte aérea e do sistema radicular. O valor de cada parâmetro avaliado foi considerado como 100 para o controle e realizadas as devidas comparações com os microrganismos endofíticos. A soma dos valores dos parâmetros dos tratamentos foi comparada estatisticamente pelo teste Scott-Knott, a 5%. O delineamento foi o de blocos casualizados, com três repetições e três plantas por parcela. As bactérias 85G, 161G, 163G, 150G e 109G (*Bacillus megaterium*) destacaram-se com índices de crescimento variando de 573 a 514, comparados ao controle, 400. Realizaram-se testes qualitativos *in vitro* com os isolados supracitados para detecção da produção de fosfatases, sideróforos, ácido indol acético (AIA), citocininas e giberelinas. Observou-se que: as endofitas 85G e 163G foram capazes de sintetizar sideróforos; o isolado 161G mostrou-se produtor de fosfatase; as bactérias endofíticas 85G e 109G produziram AIA. Outros ensaios devem ser realizados para se tentar elucidar outros possíveis mecanismos de promoção inerentes às endofitas 163G e 150G. A endofita 85G precisa ser testada em campo para a confirmação de aumento real na produção, bem como uso de mistura dos isolados selecionados. Além disso, há necessidade de realizar a identificação dos isolados.

**Palavras-chave:** endofitas, cafeeiro, promoção de crescimento

## **Aumento no crescimento de mudas de cafeeiro e redução na severidade da ferrugem mediados por possíveis isolados de rizobactérias**

**Júlio C. Silva; Luiz A. Maffia; Paulo E. F. Macedo; Rodrigo M. Saraiva; Fernando Haddad; Eduardo S. G. Mizubuti.**

UFV 36570-000, Viçosa, MG. E-mail: [lamaffia@ufv.br](mailto:lamaffia@ufv.br)

No sistema de produção de café, é imprescindível dispor de mudas saudáveis e bem desenvolvidas. Rizobactérias promotoras do crescimento (PGPR) podem ser alternativas para aumentar a qualidade de mudas. Em programa de controle biológico de doenças do cafeeiro, objetivou-se selecionar bactérias como potenciais PGPR em cafeeiro. De amostras de solos da rizosfera e rizoplane de cafeeiros, obtidas em três regiões cafeeicultoras de Minas Gerais, obtiveram-se 204 isolados bacterianos. Para selecionar eventuais PGPR, semeou-se 'Catuaí Vermelho IAC 44' em areia tratada com brometo de metila. Imergiram-se raízes de mudas no estágio orelha-de-onça em suspensão de cada isolado (aproximadamente  $10^8$  u.f.c./mL) em solução salina. Após 24h, repicaram-se as mudas para sacos plásticos e aplicou-se cada suspensão (10mL/saco). Aos 80 dias em casa de vegetação, reaplicaram-se 10mL de suspensão/saco e, aos 150 dias, inoculou-se *Hemileia vastatrix*. Avaliaram-se: altura das mudas (ALT), ao longo do experimento, matéria seca da parte aérea e sistema radicular (MS), após 130 dias, e severidade da ferrugem (SEV), após 190 dias. Houve efeito significativo (Teste de Scott & Knott,  $\alpha = 0,05$ ) de 30 isolados em, concomitantemente, reduzir SEV e aumentar MS e ALT. Os efeitos principais foram a redução de SEV (de 33 a 81% em relação à testemunha) e o aumento de MS (de 13 a 142%). Os 30 isolados continuam em avaliação, para definir sua eficiência como PGPR.

**Palavras-chave:** *Coffea arabica* L., ferrugem, controle biológico.

# Gêneros e espécies de rizobactérias isoladas de um sistema orgânico de produção de hortaliças apresentando antagonismo contra *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii* *in vitro*

Marcus V. B. Silva<sup>1</sup>; Anelise Dias<sup>1</sup>, Rafael S. Pacheco<sup>1</sup>, Jacqueline F. Carvalho<sup>1</sup>, Gustavo R. Xavier<sup>1</sup>, Norma G. Rumjanek<sup>1</sup>, Raul L. D. Ribeiro<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Agrobiologia, Rod. BR 465, Km 7 – CEP 23890-000, Seropédica/RJ, e-mail:norma@cnpab.embrapa.br; <sup>2</sup>UFRRJ, Rod. BR 465, Km 7; 23890-000, Seropédica/RJ

Vinte e cinco isolados de rizobactérias identificados pelo kit API 20NE como *Stenotrophomonas maltophilia* (4 isolados), *Methylobacterium mesophilico* (1), *Pseudomonas luteola* (9), *Rhizobium radiobacter* (1), *Burkholderia cepacia* (1), *Aeromonas salmonicida* (3), além de seis isolados não identificados foram analisados quanto à capacidade antagonística contra *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii* *in vitro*. Essas rizobactérias integram a coleção do Laboratório de Ecologia Microbiana da Embrapa Agrobiologia. Os isolados foram obtidas da rizosfera de hortaliças: couve (*Brassica oleracea* var. *acephala*), alface (*Lactuca sativa*), salsa (*Petroselinum sativum*) e rúcula (*Eruca sativa*) cultivadas em um sistema orgânico de produção em Seropédica/RJ. Isolados virulentos de *R. solani* e *S. rolfsii* foram obtidos de plantas com sintomas e foram crescidos em meio BDA por 4 dias a  $28 \pm 2^\circ \text{C}$ , retirando-se após a incubação, um disco da colônia com 0,5 cm de diâmetro imediatamente transferido para o centro de uma placa de Petri contendo meio King B. A 2 cm da borda dessa placa foi inoculada cada estirpe bacteriana a ser testada quanto à capacidade antagonística. As placas foram incubadas a  $28 \pm 2^\circ \text{C}$  e após 4, 6 e 9 dias foram determinados os tipos de interação entre patógeno e bactéria. Foram verificados três tipos de resposta: (I) ausência de antagonismo, (II) indicativo de competição definido pela paralisação do crescimento do fungo ao contactar a colônia bacteriana e, (III) inibição com formação de halo característico. Dos vinte e cinco isolados testados, apenas três não tiveram qualquer tipo de resposta antagonística o que corresponde a cerca de 12%, enquanto nos isolados de *P. putida* e *P. fluorescens* a ausência de antagonismo havia sido observada em aproximadamente 40% do total. Sete isolados pertencentes às espécies *P. luteola*, *A. salmonicida*, *S. maltophilia* e dois não identificados apresentaram resposta antagonística contra os dois fungos. Foram encontrados isolados de *S. maltophilia* e um de *M. mesophilico* com capacidade de inibir o fungo *R. solani* durante todo o período de avaliação, contra apenas um isolado de *P. fluorescens* que apresentou resposta semelhante. Os dados sugerem que essas espécies apresentam potencial biotecnológico para o controle dos fungos estudados.

**Palavras-chave:** antagonismo, rizobactérias, controle biológico, *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*

# **Avaliação de diferentes substratos, condição de aeração e formas de tratamento para multiplicação de fungos nematófagos**

**Pedro L. M. Soares; Jaime M. dos Santos**

UNESP/FCAV, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n. Jaboticaba/SP. 14884-900. E-mail: pedrolms@fcav.unesp.br

A partir de um estudo preliminar foram avaliados dois tipos substratos (composto de bagaço de cana, farelo de arroz e água; bagaço de cana e água) no desenvolvimento dos fungos nematófagos. A seguir, foram acondicionados em sacos de polipropileno autoclaváveis, para o tratamento em autoclave. Para o tratamento do substrato com irradiação, foram utilizados sacos de polietileno. Ambas as embalagens foram fechadas com grampeador, utilizando-se de três grampos equidistantes após duas dobras na extremidade aberta das embalagens. Uma variação desses tratamentos também foi testada, constituída dos mesmos materiais e embalagens, mas com fechamento dos recipientes com dobras e uso de grampeador nas duas extremidades das embalagens. Os tratamentos de esterilização dos substratos foram autoclavagem a 120 °C e 1 atm, por 40 minutos, realizados no Laboratório de Nematologia da UNESP/FCAV e esterilização do substrato com irradiação. A irradiação foi efetuada com radioisótopo cobalto-60, nas doses de 5, 25 e 50 kGy, nas instalações da empresa especializada CBE (Companhia Brasileira de Esterilização), com sede em Jarinu – SP. Posteriormente, os substratos foram inoculados em condições assépticas com um isolado de *Arthobotrys oligospora* e *Paecilomyces lilacinus* separadamente. Quanto a esterilização do substrato, os tratamentos com autoclavagem e irradiação com 25 e 50 kGy se mostraram eficientes, uma vez que não ocorreu crescimento de contaminantes (fungos, bactérias) nas placas de Petri contendo BDA. Quanto à percentagem de colonização visual do substrato, por ambos os fungos, os melhores resultados foram obtidos com o substrato composto por bagaço de cana, farelo de arroz e água que proporcionou médias acima de 74% para *A. oligospora* e para *P. lilacinus* foi acima de 60%. Os dois tipos de substrato foram favoráveis à esporulação, pois proporcionaram médias de esporulação acima de  $2,6 \times 10^6$  conídios para *A. oligospora* e  $7 \times 10^8$  conídios para *P. lilacinus*. Não houve perda da patogenicidade de ambos os fungos.

**Palavras-chave:** fungo predador e fungo parasita de ovos.

# Controle biológico de *Meloidogyne incognita* em cultivo de quiabeiro orgânico utilizando fungos nematófagos

**Pedro L. M. Soares<sup>1</sup>; Bruno F. F. Barbosa; Jaime M. Santos; José C. Barbosa**

UNESP/FCAV, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n. Jaboticabal/SP. 14884-900. E-mail: pedrolms@fcav.unesp.br

Foi estudada a mistura de partes iguais de um substrato colonizado individualmente, pelos fungos *Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora* e *Paecilomyces lilacinus*, contendo bagaço de cana enriquecido com farelo de arroz, no controle biológico de *Meloidogyne incognita* na cultura de quiabo (*Abelmoschus esculentus*), em sistema de produção orgânica, na região de Itápolis-SP. Os fungos foram multiplicados separadamente em sacos de polipropileno, contendo o substrato previamente autoclavado durante 40 minutos a 1 atm e 120°C. Depois de 21 dias da multiplicação dos fungos no substrato, eles foram misturados e aplicados no canteiro. Utilizaram-se parcelas com 3 m de comprimento 0,20 m de largura, com 8 repetições para cada tratamento. Os tratamentos utilizados foram: tratamento testemunha (sem fungos); 4 L da mistura dos fungos por parcela. Após a aplicação, utilizou-se um rastelo para fazer uma incorporação da mistura ao solo do canteiro. Quinze dias depois, as mudas de quiabeiro (cultivar Santa Cruz), com 15 dias foram transplantadas para as parcelas. Foi avaliada a população do nematóide no solo antes da aplicação dos tratamentos e no solo e nas raízes aos 45 e 90 dias após o transplante. As amostras de solo e raízes apresentaram baixo nível populacional de *M. incognita*. As médias da eficiência dos tratamentos, dada pela porcentagem de controle dos nematóides, em relação à Testemunha, segundo Abbott, para a população do nematóide no solo aos 45 e 90 dias, foram de 34 e 50%, respectivamente. Nas raízes aos 45 e 90 dias, foram de 86 e 51%, respectivamente. Nos diferentes períodos de avaliações, foi observado e documentado, que as plantas nas parcelas tratadas com a mistura dos fungos nematófagos, apresentaram melhor desenvolvimento da parte aérea e raízes com poucas galhas, enquanto que as plantas nas parcelas Testemunha (sem fungos) apresentaram menor desenvolvimento da parte aérea e raízes com muitas galhas.

**Palavras-chave:** fungo predador, fungo parasita de ovos e nematóide formador de galha.

## **Controle biológico de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira com fungos nematófagos**

**Pedro L. M. Soares<sup>1</sup>; Eduardo J. de Almeida; Bruno F. F. Barbosa; Jaime M. Santos; José C. Barbosa**

UNESP/FCAV, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n. Jaboticabal/SP. 14884-900. E-mail: pedrolms@fcav.unesp.br

Foi avaliada a mistura de partes iguais de um substrato colonizado individualmente, pelos fungos *Arthrobotrys musiformis*, *A. oligospora*, *Paecilomyces lilacinus* e *Dactylella* sp., contendo bagaço de cana enriquecido com farelo de arroz, no controle biológico de *Meloidogyne mayaguensis* na cultura da goiaba (*Psidium guajava*), em área de produção comercial irrigada por microaspersores, na região de Monte Azul Paulista-SP. Os fungos foram multiplicados separadamente em sacos de polipropileno, contendo o substrato previamente autoclavado durante 40 minutos a 1 atm e 120°C. Depois de 21 dias da multiplicação dos fungos no substrato, eles foram misturados e aplicados no canteiro. Utilizaram-se parcelas com 4 plantas contíguas, espaçadas 7 m (entre linhas) x 5 m (entre plantas), com 4 repetições para cada tratamento. Os tratamentos utilizados foram: 1. 4 L da mistura dos fungos por parcela; 2. 8 L da mistura dos fungos; 3. 150 g de Aldicarb/planta (antes da aplicação, todos os frutos foram derrubados) e 4. Testemunha (sem fungos). Após a aplicação, utilizou-se um rastelo para fazer uma incorporação da mistura ao solo. Foi avaliada a população do fitonematóide no solo e nas raízes antes da aplicação, 60 e 120 dias após. As médias da eficiência dos tratamentos, dada pela porcentagem de controle dos nematóides, em relação à Testemunha, segundo Abbott, para a população de *M. mayaguensis*, não apresentaram diferença estatística entre os tratamentos. Entretanto, aos 120 dias, no solo, os tratamentos com 4L (mistura de fungos), 8L e Aldicarb, apresentaram uma eficiência de 81, 73 e 84%, respectivamente. Nas raízes, a eficiência foi de 95, 93 e 94%, respectivamente.

**Palavras-chave:** fungo predador, fungo parasita de ovos e nematóide formador de galha.

## **Avaliação preliminar de substratos para multiplicação de *Arthrobotrys oligospora***

**Pedro L. M. Soares; Jaime M. dos Santos**

UNESP/FCAV, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n. Jaboticabal/SP. 14884-900. E-mail: pedrolms@fcav.unesp.br

O objetivo foi avaliar substratos para a multiplicação de *Arthrobotrys oligospora*. Os seguintes tratamentos foram testados: 1. arroz (484 g) e água (0,2 L); 2. casca de arroz e água (1 : 0,2 L); 3. casca de arroz, farelo de arroz e água (1 : 1 : 0,4 L); 4. casca de arroz, farelo de arroz e água (1 : ½ : 0,2 L); 5. bagaço de cana e água (1 : 0,2 L); 6. bagaço de cana, farelo de arroz e água (1 : 1 : 0,4 L); 7. bagaço de cana, farelo de arroz e água (1 : 1 : 0,2 L); 8. subproduto da indústria de cerveja sem água (1,5 L); 9. subproduto da indústria de cerveja, farelo de arroz ((1 : ½ L - sem água); 10. sementes de goiaba (sem triturar) e água (1 : 0,1 L); 11. sementes de goiaba (sem triturar), farelo de arroz e água (1 : ½ : 0,2 L); 12. sementes de goiaba (trituradas) e água (1 : 0,1 L); 13. sementes de goiaba (trituradas), farelo de arroz e água (1 : ½ : 0,2 L). Os diferentes tratamentos foram colocados em sacos de polipropileno autoclaváveis e foram fechados com um grampeador após duas dobras da extremidade aberta, a seguir foram autoclavados durante 40 minutos a 1 atm e 120°C . Posteriormente os substratos foram inoculados em condições assépticas, em uma câmara de fluxo laminar, com um isolado de *Arthrobotrys oligospora* multiplicados em placas de Petri, contendo BDA. Após 15 dias, procedeu-se a uma estimativa visual da percentagem do material colonizado por recipiente. Entre os melhores tratamentos, dos treze utilizados, seis proporcionaram a máxima colonização (100%) do volume do substrato, a saber, os tratamentos 1; 3; 4; 6; 7 e 13.

**Palavras-chave:** fungo predador.

## ***Datura metel*: evidências de antibiose a mosca branca, afídeos e outras pragas, reduzindo infestação em plantas vizinhas de batata (*Solanum tuberosum*).**

**José A. C. Souza-Dias<sup>1</sup>; Élon Yamamoto<sup>2</sup>; Haissar Malluf<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>IAC, CP 28; 13020-902, Campinas, SP. e-mail: [jcaram@iac.sp.gov.br](mailto:jcaram@iac.sp.gov.br); <sup>2</sup>Grupo Ioshida, Buri-SP; <sup>3</sup>Grupo Cercina, Monte Mor, SP

Entre 1985 a 1988, em insetários do Plant Pathology Depto., da Univ. Wisconsin-Madison (EUA), espécies de Solanácea: *Datura metel*. e *D. stramonium*, dentro de um mesmo insetário ou em insetários isolados, respondiam, 2-3 dias após adição de 50 afídeos apteros, por planta, com ausência total (morte) ou infestação (colonização), respectivamente. Desde então, um possível efeito de antibiose da *D. metel* a diferentes insetos e ácaros, causadores de danos físicos e vetores de viroses, com ênfase especial à cultura da batata continuou sendo observado no Brasil, em campos comerciais e experimentais, de diversas variedades. Nos últimos anos, em batatais na região do Sudoeste Paulista, onde tem sido verificada altas infestações de *Bemisia tabaci*, biótipo B (Souza-Dias et al. Cultivar HF, 5:22. 2004), mudas de *D. metel* foram transplantadas de telados anti-afídeos para o batatal cv. Bintje (2-3 dias após herbicida de pré-emergência). A distribuição de grupos de 40 plantas foi feita em forma de retângulo: 15 + 5 + 15 + 5 plantas de *D. metel* intercaladas com plantas de batata. Aos 50 dias do transplante, 13 folhas (1/planta) medianas de batata, apresentavam em contagens de ovos e adultos de mosca branca (Mb); e ápteros de afídeos (Af), possível *M.persicae*; dentro x fora da área de *D.metel*, os seguintes números médios (desvio padrão em parênteses) de Mb =: 2,39 (4,16) e 1,44 (0,77) x 7,75 (5,75) e 9,52 (10,88); e Af = 0,00 (0,00) e 1,06 (0,81), respectivamente. As mesmas contagens feitas na própria de *D. metel* revelaram: Mb = : 0,00 (0,00) e 1,06 (0,81), sendo que dez Mbs estavam mortas; e Af = 0,00 (0,00). Resultados semelhantes, têm sido observado consistentemente para espécies não identificadas de tripses e ácaros. Substancia-se, portanto, o possível amplo espectro de reconhecidos alcalóides da *D. metel* (ação tóxica medicinal: hioscina, daturina, atropina), na antibiose sobre pragas e aponta-se para seu potencial no manejo integrado de pragas/vetoras-de-vírus em batatal.

**Palavras chaves:** Manejo Integrado de Pragas; Controle Biológico; *Bemisia tabaci*; *Myzus* spp; *Datura*

# Bioprospecção de macroalgas marinhas e plantas aquáticas para o controle da antracnose do feijoeiro

Viviane Talamini, Guilherme F. de Abreu, Marciel J. Stadnik

UFSC, CP 476, 88040-900, Florianópolis/SC, E-mail: [vivianetalamini@yahoo.com.br](mailto:vivianetalamini@yahoo.com.br); [stadnik@cca.br](mailto:stadnik@cca.br)

Neste trabalho foram testados os efeitos local, residual e sistêmico do extrato de 17 espécies de macroalgas marinhas e de duas plantas aquáticas sobre a antracnose do feijoeiro. Os espécimes foram coletados no litoral da ilha de Florianópolis, após foram identificados, secos em estufa (50°C/48 h), macerados e seus compostos extraídos com etanol. Os 19 extratos foram subdivididos e testados em duas etapas independentes, utilizando-se o delineamento inteiramente ao acaso, com cinco repetições (vasos com três plantas). As plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*, cv. Uirapuru) com o primeiro trifólio expandido e cultivadas em casa-de-vegetação foram pulverizadas com extratos na concentração de 50 mg de peso seco/mL. Para verificar o efeito local, as plantas foram inoculadas com uma suspensão de  $1,2 \times 10^6$  conídios de *Colletotrichum lindemuthianum*/mL 4 horas após o tratamento, enquanto que para os estudos dos efeitos residual e sistêmico, as plantas foram inoculadas 7 dias após o tratamento. A severidade da antracnose foi avaliada 7 dias após a inoculação (dai) na planta inteira e no trifólio não tratado (efeito sistêmico). As algas e plantas que reduziram significativamente a severidade da doença foram comparadas em experimento avaliado aos 7 e aos 12 dai. Os extratos de *Lemna* sp. e *Ulva fasciata* reduziram sistemicamente a severidade de doença aos 7 dai na ordem de 55% e 44% em relação à testemunha. Aos 12 dai observou-se o efeito local do extrato de *Bryothamnion seaforthii* e o efeito residual do extrato de *Ulva fasciata* com reduções de 35% e 22% da severidade da antracnose. Em outro experimento foi analisada a germinação de conídios de *C. lindemuthianum* sobre folhas de feijoeiro tratadas com o extrato de *U. fasciata*. Mesmo com a redução na severidade da antracnose não se observou efeito direto do extrato sobre os conídios.

**Palavras-chave:** *Colletotrichum lindemuthianum*, *Phaseolus vulgaris*, algas marinhas, plantas aquáticas, bioprospecção, controle biológico.

# **Resíduos orgânicos associados à solarização para o controle das doenças do feijão causadas por *Sclerotium rolfsii***

**Vanessa Tomazeli, Idalmir dos Santos, Rafael Morales**

UTFPR, CP 571 – 85503-390, Pato Branco/PR, E-mail: [idalmir@utfpr.edu.br](mailto:idalmir@utfpr.edu.br)

O fungo *Sclerotium rolfsii* é um fitopatógeno agressivo e de difícil controle. Alternativas que reduzam o impacto ambiental, como por exemplo, a incorporação de resíduos orgânicos ao solo e o uso de solarização, podem ser eficientes no controle, além de melhorar as qualidades físicas, químicas e microbiológicas do solo. Os resíduos orgânicos podem atuar nos fitopatógenos diretamente pela produção de compostos químicos ou indiretamente favorecendo o aumento da população de antagonistas. Dessa forma, foi estudado o efeito de resíduos de chorume de suínos (CS), de cama de aviário (CA) e de repolho triturado (RT), associados à solarização do solo, sobre as doenças do feijoeiro causadas por *S. rolfsii*. O solo foi infestado com 100g de substrato (arroz em casca) contendo o patógeno. Em parcelas subdivididas, de 1 m<sup>2</sup> cada, foram incorporados os resíduos orgânicos nas doses equivalentes a 60 Mg ha<sup>-1</sup> de CS, 30 Mg ha<sup>-1</sup> de CA e 40 Mg ha<sup>-1</sup> de RT, com e sem cobertura plástica. A testemunha consistiu de parcelas sem os resíduos, com e sem solarização. Em um cultivo de feijão, com 80 sementes por parcela, avaliou-se a intensidade da doença, a sobrevivência dos escleródios do patógeno, o peso da matéria verde das plântulas, a fertilidade e o pH do solo, a atividade microbiana e a temperatura diária do solo. A atividade microbiana foi avaliada por meio do desprendimento de CO<sub>2</sub>, após a retirada da cobertura plástica. A intensidade das doenças foi avaliada por meio da emergência, da porcentagem de tombamento de plântulas e da incidência e severidade. Tanto o aumento da temperatura do solo, promovido pela solarização, quanto o aumento da atividade microbiana do solo, devido à incorporação dos resíduos orgânicos, reduziram a intensidade das doenças e a sobrevivência dos escleródios. Nos tratamentos sem solarização a severidade da doença foi reduzida pelos três resíduos orgânicos. A incidência da doença foi reduzida pelo CS e pelo CA. O tratamento com CA foi o único que aumentou o número de plantas emergidas de forma significativa. A redução na intensidade da doença observada nos tratamentos com resíduos orgânicos, sobretudo CA, foi atribuída, principalmente, ao aumento da atividade microbiana, a qual, por sua vez, correlacionou-se com o aumento dos níveis de matéria orgânica, tendo, assim, um efeito indireto nas relações patógeno-hospedeiro, resultando em possível causa da supressão da doença.

**Palavras-chave:** Controle biológico, chorume de suínos, cama de aviário.

## Isolamento e avaliação de rizobactérias no controle da fusariose em bananeira

**Aldo V. Trindade<sup>1</sup>; Celma C. Peixoto<sup>2</sup>; Rossana M. C. Cerqueira<sup>2</sup>; Estela G. Santos<sup>2</sup>; Ana C. F. Soares<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Rua Embrapa s/n, 44380-000, Cruz das Almas, BA, E-mail: [aldo@cnpmf.embrapa.br](mailto:aldo@cnpmf.embrapa.br); <sup>2</sup>UFRB, Cruz das Almas/BA, E-mail: [acsoares@ufrb.br](mailto:acsoares@ufrb.br)

A cultura da banana enfrenta como um dos principais problemas fitossanitários, o mal-do-Panamá, causado pelo fungo *Fusarium oxysporum* f.sp *cubense*. O biocontrole do patógeno através do uso de bactérias endofíticas e diazotróficas representa um potencial a ser explorado. Os dados aqui apresentados são parte de um projeto que objetiva isolar bactérias endofíticas e diazotróficas de raízes de bananeira e avaliá-las, em conjunto com fungos micorrízicos arbusculares (FMA), no controle da fusariose, em diferentes variedades. O presente trabalho objetivou isolar bactérias rizosféricas e endofíticas, estas diazotróficas e não diazotróficas, e avaliar o potencial no controle *in vitro* do fusarium e *in vivo* em bananeiras jovens. Para o isolamento foram coletadas raízes de diferentes variedades de bananeira situadas no BAG da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical ou em área de produtores familiares. Os meios utilizados visaram isolar bactérias do gênero *Bacillus*, *Pseudomonas* e actinomicetos; para o isolamento das bactérias diazotróficas foram empregados os meios LGI, JMV e JNFb. Os isolados obtidos foram avaliados quanto à atividade antifúngica *in vitro*, em placas de Petri, contendo o meio BDA e o efeito sobre a produção de esporos fúngicos. Um experimento com plantas foi realizado inoculando-se parte dos isolados, previamente obtidos, em mudas micropropagadas de bananeira Maçã inoculadas com o patógeno. As mudas foram cultivadas em recipiente contendo solo de textura média. Os resultados obtidos até o momento permitem deduzir que algumas bactérias endofíticas promovem crescimento das plantas e que os isolados obtidos do meio LGI têm bom potencial de controle *in vitro*. Das plantas cultivadas em sistema familiar obtive-se um maior número de isolados de bactérias endofíticas. Os isolados do gênero *Bacillus*, obtidos da variedade Maçã apresentaram maior potencial, *in vitro*, para o controle do *Fusarium oxysporum*. Nesta condição, o efeito foi mais pronunciado na produção de esporos do fungo. Dos isolados testados na planta, 48% deles reduziram significativamente a intensidade da fusariose na bananeira Maçã jovem. Bactérias diazotróficas apresentaram menor potencial de biocontrole *in vitro*. Conclui-se que é possível obter isolados bacterianos com potencial para avaliação em um programa de manejo integrado da fusariose na bananeira.

# Inibição de *Fusarium* por actinomicetos isolados de rizosfera de Araucária

**Rafael L. F. Vasconcellos, Elke J. B. N. Cardoso**<sup>2</sup>

ESALQ/USP CP 9, 13418-900, Piracicaba/SP, E-mail: [rlfvasc@esalq.usp.br](mailto:rlfvasc@esalq.usp.br); E-mail: [ejbncard@esalq.usp.br](mailto:ejbncard@esalq.usp.br)

A espécie *Araucaria angustifolia*, pertencente ao fragilizado Bioma Mata Atlântica, foi, durante décadas, uma das maiores fontes de madeira no Brasil. Essa espécie é de grande importância sendo fonte de alimento e matéria prima para a produção de móveis, polpa de celulose e vernizes. Devido ao valor econômico e ambiental da araucária, estudos voltados à preservação e manejo da espécie se tornaram necessários. Este trabalho teve como finalidade isolar actinomicetos, presentes na rizosfera de araucária, antagonistas ao fungo *Fusarium sp.*, isolado de mudas de araucária. Este patógeno é um dos responsáveis por danos às raízes, causando podridão e perda de mudas. Foram isolados 33 microrganismos com características de actinomicetos, como colônias pequenas e compactas aderidas ao ágar. Os isolados foram testados quanto à capacidade antagonista pelo método de contato direto, inoculando-os 30 mm de distância de um fungo fitopatogênico de sementes, do gênero *Fusarium*, em placas de *petri* contendo meio ISP2. Os halos de inibição foram medidos após 3, 5, 7 e 10 dias. Os seis isolados que apresentaram inibição por 10 dias contra esse primeiro isolado de *Fusarium* foram utilizados para os ensaios envolvendo outro isolado de *Fusarium sp.* proveniente de mudas de araucária com sintomas de podridão. Além da inibição por contato direto, foi analisada também, a produção de metabólitos voláteis capazes de inibir este fungo. Neste segundo ensaio apenas o isolado A43 foi capaz de manter a inibição por até 10 dias, sendo que este também foi o que mais se destacou nos ensaios envolvendo o patógeno de semente. Desta forma, além desse isolado produzir metabólitos eficientes quanto à inibição de patógenos, provavelmente o produza em grandes quantidades, por permitir um maior tempo de inibição. No entanto, nenhum isolado produziu metabólito volátil capaz de inibir o fungo isolado de araucária. Os resultados encontrados poderão levar ao desenvolvimento de novas tecnologias, visando trabalhos de identificação de metabólitos voltados ao controle de doenças de plantas.

**Palavras-chave:** *Fusarium sp*, actinomicetos, rizosfera, antagonismo, *Araucaria angustifolia*

# **Supressividade a *Sclerotium rolfsii* em cultivos envasados de *Phalaenopsis* utilizando biofertilizante, hidrolisado de peixe e *Trichoderma*.**

**Alexandre Visconti<sup>1</sup>; José A. H. Galvão<sup>2</sup>, Wagner Bettiol<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Epagri; CP 277; 88301-970 Itajaí/SC. E-mail: [a.visconti@terra.com.br](mailto:a.visconti@terra.com.br). <sup>2</sup>Embrapa Meio Ambiente, CP 69, 13820-000, Jaguariúna/SP. E-mail: [bettiol@cnpma.embrapa.br](mailto:bettiol@cnpma.embrapa.br)

A podridão do caule e da raiz, causada por *Sclerotium rolfsii*, caracteriza-se como uma das doenças de maior importância no cultivo de *Phalaenopsis* spp., desenvolvendo-se em todo substrato, formando grande quantidade de escleródios, destruindo completamente todo o sistema radicular e o caule, e comprometendo a qualidade sanitária da orquídea. A supressividade ao patógeno pode ser induzida por meio da adição de substratos orgânicos ou pela inoculação de antagonistas ao patógeno, como o *Trichoderma*. Objetivou-se, neste trabalho, identificar o potencial supressivo de biofertilizante, extrato de peixe, *Trichoderma* e suas combinações, no desenvolvimento de escleródios de *Sclerotium rolfsii*. Plantas contidas em vasos de 2 l, contendo substrato comercial, foram inoculadas com o patógeno, adicionando-se aproximadamente 120 escleródios e cascas de arroz colonizadas com o patógeno e distribuídas no quarto superior do vaso. Uma semana após a inoculação iniciou-se os tratamentos aplicando-se semanalmente água nas testemunhas não inoculada e inoculada com o patógeno; biofertilizante (150mL/vaso da suspensão a 10%); *Trichoderma* spp. (150mL/vaso de uma suspensão a 10<sup>6</sup> conídios/mL); hidrolisado de peixe (150mL/vaso a 1%); combinações de *Trichoderma*+biofertilizante; *Trichoderma*+extrato de peixe; biofertilizante+extrato de peixe (75mL+75mL/vaso de cada suspensão, respectivamente aplicados separadamente) e; a combinação de biofertilizante+*Trichoderma*+extrato de peixe (50mL+50mL+50mL/vaso de cada suspensão aplicados separadamente). O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado e, após 150 dias, foi realizada avaliação da severidade da doença nas plantas, considerando o sistema radicular e a parte aérea; estimado o número de escleródios por vaso estado geral das plantas (parte aérea e sistema radicular) e a viabilidade do inóculo. Os tratamentos não foram eficientes em controlar a doença, apresentando alto índice de infecção onde o patógeno foi inoculado, tal fato pode ser explicado pela grande quantidade de inóculo utilizada no ensaio, haja vista, que em condições de cultivo esses produtos misturados são eficientes em manter as plantas saudáveis.

## Diferentes sistemas de manejo cultural visando o controle alternativo de podridão mole em copo-de-leite

Débora Maria Zoccoli<sup>1</sup>; Celso Katsuhiko Tomita<sup>2</sup>; Carlos Hidemi Uesugi<sup>1</sup>

Palavras-chave: manejo sustentável, copo de leite, controle de doença.

### INTRODUÇÃO

O gênero *Zantedeschia* (*Araceae*), originária da região sul da África, é constituído por 8 espécies, divididas em duas seções (*Zantedeschia* e *Aestivae*). Caracteriza-se pela presença de rizomas tuberosos, típico das espécies *Z. aethiopica* e *Z. odorata*, que florescem no inverno e as folhas não secam; e rizoma discóide (Singh et al, 1996), com florescimento no verão e suas folhas secam durante o inverno. As espécies do gênero *Aestivae* e a espécie *Z. odorata* requerem um período de dormência em contraste a *Z. aethiopica*. Contudo as cultivares são desenvolvidas através de cruzamentos entre as espécies da seção *Aestivae* e *Z. albomaculata*, *Z. rehmannii*, *Z. elliotiana* e *Z. pentlandii* (Singh et al, 1996).

A podridão mole em copo de leite é uma doença de grande importância econômica, favorecida por ambiente de solos mal drenados, alta temperatura e umidade. Geralmente é ocasionada pela associação das espécies de bactérias, *Pectobacterium carotovorum* e *Dickeya chrysantemi*, que também ocorrem isoladamente, causando apodrecimento dos rizomas e raízes, apresentando uma podridão mole, de coloração marrom-escura e brilhante, com amolecimento e odor fétido. Na parte aérea observa-se murcha e amarelecimento das folhas inferiores (Wright, 1998).

Manejo cultural como a drenagem, a cobertura morta do solo, e o aumento de aeração promovem a redução do desenvolvimento da doença (Wright e Burge, 2000), mas as medidas de manejo podem proteger a colheita parcialmente. Uma combinação com cultivares resistentes, poderia resultar no melhor controle. Entretanto as cultivares resistentes não estão disponíveis no mercado (SNIJDER et al., 2004).

---

<sup>1</sup>Universidade de Brasília, Departamento de Fitopatologia, ICC/Sul, Brasília, DF, e-mail: deborazoccoli@yahoo.com.br;

<sup>2</sup>MOA Internacional / World Sustainable Agriculture Association, DF – 180, Km-19, Fazenda Chapadinha, Quinhão 14, 72701-910, Brazlândia, DF.

O objetivo deste trabalho foi comparar a eficiência dos métodos de manejo dos sistemas de agricultura natural com a convencional, na ocorrência e controle da podridão mole em cultura de copo-de-leite, testadas sob um campo de produção contaminado com a doença, e analisar a recuperação da cultura.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi estabelecido numa área de produção comercial, situada no Núcleo Rural Rajadinha a sudoeste de Brasília/ DF. Nesta área contaminada naturalmente com a doença, sob um delineamento em blocos casualizados foram distribuídos cinco tratamentos com quatro repetições, e 12 plantas representando cada unidade experimental. As mudas previamente selecionadas, foram distribuídas em covas com os seguintes tratamentos: 1-. Aplicação de 200 g/ m linear de adubo químico, formulação 4-14-8 e 2kg de cama de frango semi decomposta; 2-. Todos os componentes do tratamento (T1) + cobertura morta (CM), aplicada a uma altura de 20cm; 3-. Bokashi (B) - (500 g/ cova) produzido conforme as normas de agricultura natural desenvolvidas pela MOA Internacional; 4-. B + CM; 5-. Mudas tratadas previamente com agrimicina – (60 g/10 litros de água imersas durante 15min) + aplicação de todos os componentes utilizados no tratamento (T1).

As avaliações foram realizadas por sete meses, e conforme o estágio de desenvolvimento da planta, houve a necessidade de critérios diferenciados. Foi adotado inicialmente o critério de sobrevivência do rizoma após o plantio, ou seja, estabelecimento da planta, considerando incidência da doença causando morte ou não da planta. Após esse período foi quantificado o número de folhas emitidas em dois comprimentos que determinassem a folha adulta e/ou jovem, considerando também o número de perfilho do rizoma, flores emitidas e comprimento da haste floral.

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados demonstraram que a adição do composto orgânico é suficiente e necessária ao pleno estabelecimento das plantas. Têm efeito benéfico e favorece a recuperação e produção das plantas, mesmo quando os rizomas são provenientes de campos contaminados com a bactéria. Os

## **IX Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas**

tratamentos T3 e T4 apresentaram maior eficiência, mantendo 66,67% das plantas vivas, sendo que T1 manteve somente 18,75%; T2 41,67% e T5 16,67%, evidenciando o benefício da adubação orgânica através do Bokashi, em detrimento da adubação química. Os resultados indicam que a adição somente dos nutrientes não é suficiente para assegurar o bom desenvolvimento das plantas, já que a adubação química que apresenta níveis nutricionais mais elevados que o composto orgânico se mostrou menos favorável à promoção das plantas. Conforme a análise, a quantidade de nutrientes presentes no composto apresenta uma relação C/N equilibrada, mas os demais elementos essenciais encontram em quantidade bem abaixo do que é recomendado para cultura. É possível afirmar que a atividade biológica do composto teve papel fundamental no estabelecimento e desenvolvimento das plantas no período acompanhado. O maior percentual, 83,34% de plantas mortas foi observado em T5, tratamento que houve prévia imersão dos rizomas em antibiótico, evidenciando a ineficácia da agrimicina, nas condições descritas, para o controle da bacteriose em copo-de-leite. Considerando os tratamentos envolvendo preparo do solo com a adubação química (T1 e T2), a presença da cobertura morta em T2, evidenciou sua importância, devido ao incremento de 23,5% em média, no número de plantas vivas em relação ao tratamento (T1) que recebeu os mesmos componentes, mas não foi adicionada a cobertura morta. Esse incremento não foi observado entre os tratamentos T3 e T4, que receberam o composto, sendo em T4 adicionada cobertura, e não havendo neste, demonstração de aumento no número de plantas vivas, quando comparado com T3 que não recebeu cobertura. Isso permite afirmarmos que a cobertura morta em sistemas químicos pode ser responsável por favorecer a atividade biológica. Para os T3 e T4, o uso do Bokashi, exerce o papel biológico ativo, deixando a contribuição da cobertura morta possivelmente no equilíbrio da temperatura do solo e umidade, o efeito não foi pronunciado para manutenção de plantas vivas e promoção do desenvolvimento. O percentual de plantas mortas nos tratamentos com Bokashi alcançou o máximo de 33,34% ao final das avaliações. Enquanto T2, mesmo com o incremento da cobertura morta não foi capaz evitar perdas de 54,17%, que elevou para 58,34% na última avaliação. De-Polli & Pimentel, 2005, salientam que o papel da matéria orgânica na agricultura vai além do oferecimento de alimentos saudáveis à

população, ela melhora química, física e biologicamente o solo, proporcionando maior equilíbrio nas relações entre a atividade biológica, fertilidade e conservação dos solos e que nos trópicos, a sustentabilidade de um sistema agrícola está baseada no aporte de material orgânico que nele permanece e é continuamente reciclado, e somente a partir da contínua reposição é que se pode alcançar os benefícios resultantes de seu uso. Este trabalho permitiu evidenciar o benefício da adição de “matéria-orgânica”, promovendo uma agricultura sustentável, através da reposição continuada, pelo uso do Bokashi, que disponibiliza os nutrientes em quantidade e qualidade melhor assimilável para planta. Quanto ao número de folhas adultas emitidas, os resultados demonstram que nos tratamentos T3 e T4 apresentaram um número seis vezes superior a quantidade emitida em T1 e T5, sendo em T2 em média próxima a metade. Na etapa final, iniciou o florescimento somente nos tratamentos T3 e T4.

O manejo cultural sob sistema de produção que preconiza a redução do uso de produtos químicos, reposição de matéria orgânica, nutrientes através do composto biológico Bokashi, permite o desenvolvimento das plantas com perspectivas de produção e redução da ocorrência da podridão mole em copo-de-leite. Em relação ao sistema de manejo químico ou com antibióticos, torna-se evidente a desvantagem em relação às técnicas estabelecidas pela agricultura natural e sustentável, que causam menor impacto ambiental e potencializam a produção da cultura.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. DE-POLLI, H.; PIMENTEL, M. S. Indicadores de qualidade do solo. In: AQUINO, A. M. ; ASSIS, R. L. **Processos biológicos no sistema solo-planta: ferramentas para uma agricultura sustentável**. Embrapa Agrobiologia. Brasília, DF, 2005. Cap. 1. p. 17-28.
2. MIYASADA, S.; NAKAMURA, Y.; OKAMOTO, H. **Agricultura Natural**. Cuiabá, SEBRAE/MT, 2 ed., 1977.
3. **Normas de “Agricultura Natural” (MOA – Brasil)**, Associação Mokiti Okada do Brasil.
4. SINGH, Y., BAIJNATH, H. & VAN WYK, A.E. Taxonomic notes on the genus *Zantedeschia* Spreng. (Araceae) in southern Africa. *South African Journal Botany* 62:321-324, 1996.
5. SNIJDER, R. C. et al. Genetic variation in *Zantedeschia* spp. (Araceae) for resistance to soft rot caused by *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. **Euphytica** 135: 119-128. 2004.
6. WRIGHT, P. J. (1998). Plant disease record a soft rot of calla (*Zantedeschia* spp.) caused by *Erwinia carotovora* subspecies *carotovora*. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science (abstracts)**. Acesso em 13/10/2006.
7. WRIGHT, P. J. & Burge, G.K. Irrigation, sawdust mulch, and Enhace® biocide affects soft rot incidence, and flower and tuber production fo calla. **New Zealand Journal of Crop and Hortural Science** 28: 225-231, 2000.

## Diferentes sistemas de manejo cultural visando o controle alternativo de podridão mole em copo-de-leite.

**D. M. Zoccoli<sup>1</sup>; C. K. Tomita<sup>2</sup>; C.H. Uesugi<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>UnB, ICC/Sul, Brasília/DF; <sup>2</sup>MOA Internacional, DF-180, Km-19, Brazilândia/DF. e-mail: [deborazoccoli@yahoo.com.br](mailto:deborazoccoli@yahoo.com.br)

Com o objetivo de comparar os métodos de manejo e controle da podridão mole em copo-de-leite (*Zantedeschia aethiopica*) causada por *Pectobacterium* spp., foram testados os tratamentos em blocos casualizados (12 plantas/5m linear), 4 repetições e 5 tratamentos. Sendo: T1. Adubação Química (AQ) + orgânica (O) - 200g de 4-14-8 + 2Kg de cama de frango/m linear; T2. Os componentes de T1 + cobertura morta (CM); T3. Bokashi (B), composto produzido segundo as Normas de Agricultura Natural MOA - 500g/cova; T4. (B) + (CM); T5. Tratamento prévio de rizomas com agrimicina 60g/10litros d'água por 15min. + aplicação dos componentes do T1. Considerou para avaliação a sobrevivência dos rizomas, folhas emitidas, perfilhamento, inflorescências e tamanho da haste. Os resultados demonstraram que o T3 e T4, foram mais eficientes na recuperação das plantas e controle da doença. O maior percentual de plantas mortas foi observado em T05 (83,34%), tratamento com prévia imersão dos rizomas em antibiótico, evidenciando a ineficácia da agrimicina, para o controle da bacteriose em copo-de-leite. Os tratamentos T03 e T04 mantiveram 67% das plantas vivas, sendo consideravelmente superiores a T01 e T02, com perdas de 81% e 58% respectivamente, evidenciando um acréscimo de 25% no número de plantas mortas em relação a T03 e T04. Possivelmente, a incorporação de compostos bioativos favorece a microbiota benéfica do solo, promovendo a retenção do patógeno e conseqüentemente o desenvolvimento das plantas. Nos sistemas T03 e T04, o Bokashi exerce papel biológico ativo, deixando a contribuição da cobertura morta somente no equilíbrio da temperatura do solo e umidade, não evidenciando seu efeito na manutenção de plantas vivas e promoção do desenvolvimento. A presença da cobertura morta sobre o solo com a adubação química (T02), mostrou a importância, pelo incremento de 23,5% em média, no número de plantas vivas em relação ao tratamento (T01) que recebeu somente a adubação. Mesmo com o incremento da cobertura morta em T02, as perdas chegaram a 54,17%, elevando para 58,34% na última avaliação.

**Palavras-chave:** manejo sustentável, *Zantedeschia aethiopica*, doenças do solo, controle biológico.

## ***Streptomyces* sp. ASBV-1 diminui a viabilidade de conídios de *Aspergillus parasiticus* e acúmulo de aflatoxinas em sementes de amendoim**

**Tiago D. Zucchi<sup>1,3</sup>; Luiz A. B. de Moraes<sup>2</sup>; Itamar S. de Melo<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>USP, 05508-900, São Paulo/SP, E-mail: [tdzucchi@terra.com.br](mailto:tdzucchi@terra.com.br); <sup>2</sup>USP, Av. Bandeirantes, 14100-000, Ribeirão Preto/SP, E-mail: [luizmoraes@ffclrp.usp.br](mailto:luizmoraes@ffclrp.usp.br); <sup>3</sup>Embrapa Meio Ambiente, CP 69, 13820-000, Jaguariúna/SP, E-mail: [itamar@cnpma.embrapa.br](mailto:itamar@cnpma.embrapa.br).

Entre todas as micotoxinas conhecidas, a aflatoxina é considerada a de maior potencial carcinogênico, teratogênico e mutagênico. De todas as espécies produtoras de aflatoxina, *A. flavus* e *A. parasiticus* são as mais comumente relacionadas com contaminação por essa micotoxina. As aflatoxinas são consideradas um grande problema na agricultura, pois rações ou alimentos contaminados causam grandes perdas econômicas. O controle desses patógenos é feito basicamente com fungicidas, mas devido à crescente pressão da sociedade para alimentos livres de agrotóxicos, pesquisadores têm voltado seus esforços para métodos alternativos de controle, como o controle biológico. Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial da linhagem *Streptomyces* sp. ASBV-1 em colonizar sementes de amendoim, controlar o fungo *A. parasiticus* e evitar o acúmulo de aflatoxina. Dessa maneira, realizou-se um teste inibitório entre *Streptomyces* sp. ASBV-1 e *A. parasiticus*, em sementes de amendoim, para avaliar o efeito dessa interação na viabilidade de conídios e acúmulo de aflatoxina. Como muitos mecanismos podem estar envolvidos no controle biológico, foi avaliada também a capacidade dessa actinobactéria em produzir quitinase, uma enzima lítica usada no controle de fungos fitopatogênicos. Pelos resultados obtidos, o isolado ASBV-1 de *Streptomyces* sp. é capaz de colonizar a semente de amendoim e protegê-la contra o *A. parasiticus*. Essa linhagem reduz a viabilidade dos conídios desse fungo em até 85%, inibindo o acúmulo de aflatoxina nas sementes de amendoim em aproximadamente 95%. A ASBV-1 também produz uma boa quantidade de quitinase, sendo que esse pode ser um dos mecanismos usado no controle do *A. parasiticus*. Esses resultados positivos na redução do acúmulo de aflatoxina na semente de amendoim se mostram promissores para o uso da ASBV-1 no controle do *A. parasiticus*.

**Palavras-chave:** Controle biológico, *Streptomyces* sp., *Aspergillus parasiticus*, amendoim, aflatoxina.

## **Supressividade de solo a *Meloidogyne* por *Pasteuria penetrans* nos estados do Maranhão e Santa Catarina.**

**Leandro G. Freitas, Guilherme S. Podestá, Marcelo M. Coutinho, Silamar Ferraz.**

UFV, 36570-000 Viçosa/MG, E-mai: [leandro@ufv.br](mailto:leandro@ufv.br)

A bactéria *Pasteuria penetrans* reduz a penetração e reprodução do nematóide das galhas nas plantas hospedeiras e, dessa forma, desenvolve supressividade de solo. A bactéria foi aplicada em 1996 para o controle de *M. javanica* em jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*) em Barra do Corda, Maranhão, lugar de solo arenoso e altas temperaturas o ano todo. Foram aplicados 6g de pó de raiz em água ( $1 \times 10^7$  esporos/g) nas linhas de plantio, cobrindo uma área de 170m<sup>2</sup> dentro de uma área de 102,4 ha irrigada por sistema de pivô central. Em fevereiro de 1999, coletaram-se amostras de 240 pontos da área irrigada. Endósporos de *P. penetrans* foram encontrados aderidos em 73% dos J2 extraídos, em número de cerca de 5/J2. Em outra avaliação, feita em dezembro de 1999, constatou-se que dos poucos J2 extraídos do solo, cerca de metade deles tinha endósporos aderidos e que em cerca de 1/3 deles o número variava de 80 a 150 endósporos/J2. Nessa ocasião as plantas de jaborandi não mais apresentavam sintomas de amarelecimento e subcrescimento causados pelo nematóide. Com o solo coletado foram preparadas cinco amostras compostas e um bioteste foi realizado para determinar o nível de supressão do nematóide pela bactéria. Metade do solo foi autoclavada duas vezes por 1 hora para matar a *P. penetrans* e outra metade não. O solo não autoclavado foi seco à sombra para matar os nematóides, envasado, reumedecido e recebeu 1000 J2 de *M. javanica* por vaso e dois dias após, uma plântula de tomate foi plantada por vaso. Neste solo, as raízes apresentaram 60,5% menos galhas e 89,7% menos ovos do que no solo autoclavado, valores que expressam o seu alto grau de supressividade. Outros biotestes foram realizados nos anos de 2000, 2002 e 2004 e estes indicaram que o solo continuava supressivo. Em Santa Catarina, a bactéria foi introduzida em outubro de 2000 em dois campos de produção de fumo, um com o solo arenoso e outro com solo argiloso. Ambos os campos apresentavam *M. javanica* e *M. incognita*. Seis anos após a introdução de *P. penetrans*, realizou-se um bioteste como descrito acima e os números de galhas e de ovos no solo arenoso foram 29,5% e 49,2% menores no solo não autoclavado do que no autoclavado, e no solo argiloso as reduções foram de 15,3% e 34,6%, respectivamente. O baixo nível de infestação inicial do solo pelo nematóide e as baixas temperaturas durante o outono e inverno resultaram em menor desenvolvimento de supressividade em Santa Catarina do que no Maranhão. Em condições semelhantes de clima, o solo arenoso se mostrou mais favorável para *P. penetrans* do que o solo argiloso.

**Palavras-chave:** *Pasteuria penetrans*, nematóide das galhas, controle biológico.

## **Comportamento de *Trichoderma* em solo sob irrigação por inundação**

**Marcus A. K. Almança; Isabel C. P. Paz; Rita de C. M. Santin; João L. de Azevedo; Priscila P. Ribas; Aida T. S. Matsumura**

UFRGS, Av. Bento Gonçalves, 7712, 91540-000, Porto Alegre/RS, E-mail: mkalmanca@yahoo.com.br.

O controle biológico de fitopatógenos com o uso de isolados de *Trichoderma* sp. tem sido estudado para diversas culturas de interesse econômico como soja, feijão, tomate e fumo, que são cultivadas sem o uso de irrigação por inundação. Entretanto, na cultura do arroz na maioria das áreas de cultivo é utilizado esse método, permanecendo o solo coberto com lâmina de água. Então, o objetivo deste trabalho foi avaliar a sobrevivência de isolados de *Trichoderma* sp. em solo sob irrigação por inundação. Foram testados três isolados IT8 e IT10 (isolados de lavoura de arroz irrigado), TF11 (isolado de lavoura de fumo), a mistura destes (MIX), um produto comercial (PC) à base de *Trichoderma* sp. na presença ou não de plantas de arroz (cultivar IRGA 417) e os controles somente com plantas de arroz e sem plantas e sem o antagonista. O cultivo foi realizado em casa de vegetação com temperatura de  $25 \pm 7$  °C e o solo com lâmina d'água constante de 5 a 10 cm. Foram realizadas duas coletas de solo, 7 e 127 dias após a instalação do experimento. A partir destas foram realizadas diluições seriadas, plaqueamento em BDA e, incubação a 28 °C e fotoperíodo de 12 h. Foi possível verificar que não houve diferença significativa na população do antagonista entre os tratamentos na primeira coleta. Todavia, na segunda coleta os tratamentos com *Trichoderma* sp. apresentaram população superior em relação aos controles. Portanto, além de não haver uma diminuição da população pela presença de lâmina de água, ainda houve um aumento da população, principalmente dos isolados oriundos de lavouras de arroz. Assim, conclui-se que é possível a utilização de *Trichoderma* sp. em solos sob irrigação por inundação.

## **Fungitoxicidade de um actinomiceto a *Colletotrichum truncatum* causador da antracnose em soja**

**R. T. Souza; N. D. Denardin; C. Ubeffe, A. C. Trentin; M. Zanata; C. A. Forcelini**

UPF, C.P. 611, 99001-970, Passo Fundo/RS. E-mail: norimar@upf.br; rosemari224@yahoo.com.br

A antracnose constitui uma das principais doenças da soja na região do Cerrado Brasileiro sob condições de elevada umidade, podendo ocorrer na Região Sul do País quando encontrar as mesmas condições ambientais. O objetivo deste trabalho foi avaliar capacidade de controle do crescimento, *in vitro*, do fungo *Colletotrichum truncatum* na presença de um isolado de actinomiceto. Para tanto, foram realizados dois testes: um para verificar a capacidade direta do antagonista sobre o fungo e, outro, para verificar a capacidade de inibição do fungo através da produção de produtos voláteis liberados pelo actinomiceto. Os tratamentos foram: T1 = disco de colônia de *C. truncatum* com diâmetro de 5,29 mm, disposto no centro da placa de petry com meio de cultura 523 de Kado Heskete (1970); T2 = disco de fungo + actinomiceto (esse realizado para avaliar o antagonismo direto entre o actinomiceto e o fungo), para o qual um tubo de ensaio esterilizado, de 23 mm de diâmetro, foi colocado em contato com colônias de actinomiceto e a seguir posicionado ao redor do disco, fazendo-se pequena pressão do tubo sobre o substrato ao redor da colônia do fungo, formando, assim, um círculo; T3 = Actinomiceto cultivado em uma placa e o fungo cultivado em outra placa (após o semeio dos microrganismos, colocou-se uma placa de frente para outra selando-se com filme de plástico); T4 = cultivo do actinomiceto somente. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com seis repetições em câmara de crescimento com temperatura de 24 a 26 °C e fotoperíodo de 12 horas. As medidas do diâmetro das colônias foram feitas com auxílio de um paquímetro digital. As avaliações foram realizadas diariamente até que a testemunha atingisse a borda da placa de petry. Para verificação da significância se fez o teste F a 1% e para o teste de comparação de médias usou o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para a testemunha T1, após 10 dias, a média do diâmetro da colônia foi de 33,7 mm e, para o T2 a média foi de 17,32 mm e, para o T3 de 24,5 mm. Conclui-se que o isolado tem capacidade de controlar *C. truncatum* pois diferiu, significativamente, da testemunha tanto no teste para avaliar a atividade antagonística direta como na avaliação indireta, mostrando que esse isolado produz substâncias voláteis. Verificou-se que, na testemunha as colônias de *C. truncatum* tiveram crescimento de micélio e também a produção de acérvulos e de esporos e que nos T2 e T3 o crescimento foi somente de micélio. Foi observado no T3 que a coloração das colônias de fungos estava branca e laranja nos demais tratamentos.

**Palavras-chave:** controle biológico, antagonismo, actinomiceto

# Inibição do crescimento de fungos fitopatogênicos com actinomicetos

**Cheila C. Sbalcheiro; Norimar D. Denardin**

*Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo/RS, C.P. 611, 99001-970. E-mail: cheilasbal@yahoo.com.br, norimar@upf.br*

Problemas ambientais ocasionados por produtos químicos indicam necessidade de novas alternativas para controle de fitopatógenos, dentre as quais destaca-se o controle biológico com uso de actinomicetos. Objetivando avaliar o potencial de inibição do crescimento de fungos por um isolado de actinomiceto, foram avaliadas diferentes formas de preparo do biocontrolador aplicadas contra três fungos que causam doenças em importantes culturas. Os tratamentos constituíram de: suspensão pura do isolado; filtrado dessa suspensão; isolado + veículo (polímeros); filtrado + veículo; e somente veículo. Discos de micélio com diâmetro de 8,90 mm dos fungos *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium graminearum* e *Colletotrichum truncatum* foram colocados no centro de placas de Petry contendo meio de cultura BDA. Tubos de ensaio de 22,30 mm de diâmetro mergulhados em cada forma do biocontrolador foram posicionados ao redor do disco de micélio fazendo-se pequena pressão ao ponto de formar um círculo. Observou-se crescimento, tamanho do halo de inibição e expansão do micélio aos 7 e 14 dias após a aplicação dos tratamentos. O tratamento filtrado + veículo apresentou o maior controle com 28 e 18% sobre *C. truncatum* e *B. sorokiniana*, respectivamente. A suspensão pura de actinomiceto foi eficiente no controle de *B. sorokiniana* até os 7 dias de crescimento micelial e a forma filtrado de actinomiceto controlou *F. graminearum* até os 7 dias.

**Palavras-chave:** Biocontrolador, controle biológico, *Bipolaris*, *Fusarium*, *Colletotrichum*.

# Controle do crestamento bacteriano comum do feijoeiro pela microbiolização de sementes com actinomicetos

**N.D. Denardin; Vanessa A. Agostini**

UPF, C.P. 611, 99001-970, Passo Fundo/RS. E-mail: norimar@upf.br.

O Crestamento Bacteriano Comum do Feijoeiro (CBCF) é causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Xap) e por sua variante *fuscans*. Sua ocorrência é generalizada nas regiões de clima quente e úmido. Os sintomas aparecem nas folhas, hastes, vagens e nas sementes, as quais apresentam amarelecimento na região do hilo ou descoloração e enrugamento do tegumento. As sementes são a principal fonte de inóculo primário desse patógeno. Quanto maior a incidência dessa bacteriose no campo, maior será a sua incidência na semente. Sementes com concentrações altas de Xap diminuem a porcentagem de germinação e promovem plântulas deformadas. Dados bibliográficos informam que as sementes podem apresentar elevada taxa de transmissão de Xap, entre 16 e 50,8% e, a uma população mínima de  $10^3$  e  $10^4$  UFC de Xap por sementes pode originar plantas doentes. O CBCF é uma doença de difícil controle, devido à dificuldade de obtenção de cultivares comerciais resistentes, à monocultura e à baixa eficiência do controle químico. Objetivou-se com esse estudo avaliar o potencial do controle do CBCF pela microbiolização de sementes com actinomicetos. O trabalho foi a campo, sendo constituído por quatro tratamentos: T1 = sementes infectadas naturalmente com Xap; T2 = sementes naturalmente infectadas com Xap e microbiolizadas com actinomiceto; T3 = sementes inoculadas com Xap; T4 = sementes inoculadas com Xap e microbiolizadas com actinomiceto. As avaliações realizadas foram: severidade do CBCF e rendimento de grãos. Os tratamentos apresentaram diferenças para severidade do CBCF. Os tratamentos com actinomicetos diferiram, estatisticamente, dos demais, obtendo-se redução da severidade em 46%, ou seja, controle relativo de 27,4% para o tratamento T2, e rendimento de grãos de  $1.150 \text{ kg ha}^{-1}$ , o dobro da testemunha (T1). Nesse estudo verificou-se a possibilidade de controle do CBCF pelo uso de actinomiceto através da microbiolização de sementes.

**Palavras chave adicionais:** Controle biológico, microbiolização de sementes, patologia de sementes, *Phaseolus vulgaris*.

# Inibição do crescimento de bactérias fitopatogênicas por actinomicetos

**Cheila C. Sbalcheiro; Norimar D. Denardin**

UPF, Passo Fundo/RS, C.P. 611, 99001-970. E-mail: [cheilasbal@yahoo.com.br](mailto:cheilasbal@yahoo.com.br), [norimar@upf.br](mailto:norimar@upf.br)

As bacterioses causam expressivo dano e redução na produtividade do feijoeiro e da soja em todo o País. Os actinomicetos são empregados como possíveis agentes de biocontrole de fitopatógenos. Objetivando avaliar o potencial de inibição do crescimento de bactérias fitopatogênicas por um isolado de actinomiceto, foram testados o filtrado da suspensão; suspensão do isolado + veículo (polímeros); filtrado da suspensão + veículo; e somente o veículo. O método de avaliação foi fundamentado na inibição do crescimento das bactérias através da produção de halo inibitório. Os tratamentos constituíram de alíquotas de 200 µl de suspensões das bactérias *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Xap), *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* var. *fuscans* (Xapf), *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* (Xag) e *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* (Psg) semeadas, em triplicata, em placas de Petri com meio de cultura 523. Após 1 hora, alíquotas de 10 µl de cada forma do antagonista foram aplicadas em três pontos equidistantes da placa e incubadas a 28°C. As avaliações foram efetuadas 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a aplicação do actinomiceto, observando-se o crescimento e expansão da cultura bacteriana e halo de inibição. Observou-se aumento diário dos halos de inibição da suspensão do actinomiceto sob Xap, Xapf, Xag e Psg. O maior halo de inibição (9 mm) foi observado com a suspensão pura do antagonista aplicada sob Psg. O tratamento com filtrado da suspensão apresentou halo de inibição para Xap e Psg e a maior eficiência na inibição do crescimento de bactérias *in vitro*, ao longo de 120 horas.

**Palavras-chaves:** Biocontrolador, controle biológico, *Xanthomonas*, *Pseudomonas*.

## **Seleção massal de procaritos com ação antagonista a *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea*, agente causal do crestamento bacteriano da soja**

**Fernanda S. Vilasbôas; Norimar D. Denardin; Cheila C. Sbalcheiro**

*UPF Passo Fundo/RS, C.P. 611, 99001-970. E-mail: fernandavilasboas@gmail.com, norimar@upf.br*

Dentre as doenças causadas por bactérias na cultura da soja pode-se destacar o crestamento bacteriano causado por *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* (Psg), devido à disseminação por semente, permanência nos restos culturais e dificuldade de controle. Objetivando a identificação e obtenção de bactérias com potencial de biocontrole para o crestamento bacteriano da cultura de soja, procedeu-se o isolamento de bactérias da rizosfera, rizoplano e filoplano de plantas cultivadas como abacaxi, cana-de-açúcar, milho, tomateiro, espécies nativas, espécies forrageira e essências como arruda, bem como de sementes de forrageiras e de solo cultivados e de campo nativo. Porções de diferentes partes de tecido vegetal da planta (folhas e raízes) foram retiradas, desinfestadas e maceradas com 5 mL de solução fisiológica em cadinho de porcelana esterilizado. A seguir foram retiradas alíquotas de 100 µL e semeadas, com alça de drigalski, em meio 523 de Kado & Heskett (1970). As colônias isoladas com diferentes aspectos morfológicos foram purificadas e repicadas para tubos de ensaio contendo o meio 523 inclinado. Para as amostras de solo, foram pesadas 10 g e colocados num erlemeyer com 90 mL de solução fisiológica, ficando sob agitação contínua por 30 minutos, em temperatura ambiente. Foram obtidos 320 isolados para testes. Para a prospecção da potencialidade antagonística dos possíveis agentes de biocontrole foram efetuados testes *in vitro*. Suspensão da bactéria Psg foi obtida após o cultivo desta por 48 horas retirando-se uma alíquota de 100 µL e semeando-se em meio de cultura 523 com alça de drigalski. Após 30 minutos foi colocado uma alíquota de 10 µL de suspensão dos candidatos em três pontos da placa de petry sobre o cultivo de Psg. Dos 320 isolados, 120 foram testados e 43 apresentaram potencial contra a bactéria *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea*.

**Palavras-chave:** *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea*, controle biológico, crestamento bacteriano da soja.

## **Uso de procarioto no controle de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em feijoeiro**

**Denardin, N. D. Vanessa A. Agostini**

UPF, C.P. 611, 99001-970, Passo Fundo/RS. E-mail: norimar@upf.br.

O potencial de uso de procarioto para o controle de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, (Xap) e sua variante *fuscans*, agente causal do Crestamento Bacteriano Comum do Feijoeiro (CBCF), foi avaliado através da microbiolização de sementes. O trabalho foi desenvolvido em duas etapas: em laboratório e em casa-de-vegetação. Os ensaios constituíram-se de quatro tratamentos: T1 = sementes infectadas naturalmente com Xap; T2 = sementes naturalmente infectadas com Xap e microbiolizadas com actinomiceto; T3 = sementes inoculadas com Xap; e T4 = sementes inoculadas com Xap e microbiolizadas com actinomiceto. As análises de detecção de bactérias nas sementes foram realizadas através do método de incubação seguido de extração. Os níveis de infecção foram expressos em unidades formadoras de colônia por sementes (UFC). O ensaio conduzido em casa de vegetação foi realizado em vasos, contendo solo. A cultivar de feijoeiro utilizada foi a FT Nobre. Avaliou-se a germinação das sementes, a incidência e a severidade da doença. Na análise bacteriológica das sementes foi detectada uma concentração de  $2,8 \times 10^3$  UFCs por semente de Xap. A emergência nos tratamentos T1, T2, T3 e T4 foram, respectivamente, 85%, 91%, 57% e 80%. O controle do CBCF, considerando a AACPD ao longo do ciclo da cultura foi para o T2 de 79,8 % e para o T4 de 48,3%. Nesse estudo foi possível verificar que o controle biológico através da microbiolização de sementes para o crestamento bacteriano comum é viável.

**Palavras chave adicionais:** *Phaseolus vulgaris*, controle biológico, microbiolização de sementes, patologia de sementes.

## **Antagonismo *in vitro* de rizobactérias de bananeira a fungos fitopatogênicos**

**Rosana L. M. Sampaio<sup>1</sup>; Érika C. T. Anjos<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>UFRPE, R. Dom Manoel de Medeiros, s/n 52171-900, Recife/E. <sup>2</sup>UFPE, Rua Prof. Nelson Chaves s/n, Cidade Universitária, 50670-901 Recife/PE

Pesquisas têm mostrado que fitopatógenos podem ser controlados por agentes microbianos ou pela manipulação de comunidades naturais de organismos nas raízes e na parte aérea das plantas. Trabalhos com rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCPs) têm sido intensificados, principalmente pelo aumento do interesse em alternativas para o controle de fitopatógenos por produzirem grande variedade de antibióticos, sideróforos e hormônios de crescimento vegetal. Na Região Nordeste, as perdas de produtividade em mandioca devido a podridão radicular, tendo como agente o fungo *Fusarium solani*, está em torno de 30%. Sintomas podem ocorrer em qualquer fase do desenvolvimento da planta provocando nas raízes podridão de consistência seca e sem aparente distúrbio dos tecidos. Em erva-doce os fungos dos gêneros *Fusarium* e *Curvularia* são encontrados com frequência causando doenças na cultura. Nesse sentido, RPCPs em bananeiras cv. Grand Naine (BAN29, BAN36, BAN81, BAN82, S1 e S2), endofíticas e epifíticas, obtidas de isolamento de raízes de diversas cultivares foram utilizadas para determinar a capacidade antagonica *in vitro* contra fungos fitopatogênicos (FFP): *Fusarium solani* obtido de mandioca (*Mangifera indica*); *Fusarium lateritium* e *Curvularia lunata*, ambos de erva-doce (*Foeniculum vulgare*). O antagonismo *in vitro* das rizobactérias foi realizado por meio de pareamento em placas contendo BDA. As bactérias foram repicadas para tubos com NYDA e transferidas sob a forma de riscas a 2,5 cm da borda das placas e no lado oposto depositados discos de BDA (5 mm) contendo micélio dos FFP, incubadas por 9 dias sob alternância luminosa e temperatura ambiente. O delineamento foi inteiramente casualizado com 6 isolados de RPCPs e 3 de FFP, 5 repetições e um tratamento controle (placas com os fungos). Avaliações foram realizadas por medições do crescimento fúngico (cm) e da percentagem de inibição (%). Não houve diferença significativa entre os tratamentos com as rizobactérias e o tratamento controle em relação ao antagonismo *in vitro* de *F. lateritium* e *C. lunata*. As rizobactérias BAN29 e BAN36 promoveram inibição no desenvolvimento de *F. solani*, diferenciando-as do tratamento controle, com reduções de 10% e 68% no crescimento micelial, respectivamente. Conclui-se que a rizobactéria BAN36 pode ser alternativa promissora para o controle da podridão radicular da mandioca.

**Palavras-chave:** controle biológico, RPCP, *Fusarium* e *Curvularia*.

## **Commercialization of Biocontrol Agents for Use against Plant Pathogens**

**Deborah Fravel**

*Genetic Improvement of Fruits and Vegetables Laboratory  
United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service  
The Henry A. Wallace Beltsville Agricultural Research Center  
Beltsville, Maryland 20904, USA – Email: Deb.Fravel@ARS.USDA.GOV*

One of the most critical, yet often overlooked, stages of commercialization of biocontrol agents is screening for new agents in a way that will yield the agents most likely to succeed under production conditions. There are many ways to approach screening. The most successful strategies take into consideration the biology and ecology of the target pathogen and host plant, as well as agricultural practices associated with the crop. Where is the “weakest link” to target the pathogen? Is it monocyclic? If so, targeting over wintering inoculum might be a good way to proceed. In other cases, protection of the infection court might be more appropriate. If the host is only susceptible for a short time, simply slowing the progress of the pathogen, particularly through soil, may be sufficient to manage the disease. In still other cases, induced resistance or systemic acquired resistance may be desirable. In each case mentioned, the screening procedure would be different. Methods include burying sclerotia and retrieving them, finding organisms that colonize the area of the plant targeted by the pathogen (roots, leaves, flowers), finding organisms that are good at colonizing soil and excluding others that try to invade it, or inoculating plants with microbes and challenging them with the pathogen.

Inconsistency in field performance is the major reason for lack of wider adoption of biocontrol for disease management. Knowledge of the basic biology, ecology, and epidemiology of the biocontrol agent, pathogen, and host plant can aid us in increasing the consistency. This knowledge can also help us predict when we would expect biocontrol to work, and situations where other disease management strategies might be more appropriate. With our knowledge of the biology and ecology of these organisms, it is our challenge to encourage the biocontrol agent to its fullest genetic potential to manage plant diseases.

Once biocontrol agents have been identified, they must be mass produced and formulated. Some biocontrol agents are relatively easy to mass produce with current industrial processes, while others require unique conditions when scaled up. For all microbes, it is critical to remember that the growth medium and culture conditions that yield the greatest number of propagules are not necessarily the same as those that give the most efficacious propagules. The efficacy of the propagules is sometimes altered during scale-up and it is important to check efficacy at every stage. Similarly, the nutritional status of the propagules can greatly affect shelf-life when the organisms are formulated. Some biocontrol agents perform better when a nutrient source is provided in the formulation, while others will perform worse if nutrients are provided in the formulation. The formulation must be inexpensive to produce, while providing good shelf-life and a

## IX Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas

convenient form for shipping, storage, and application. The timing and method of delivery care often critical to the success of biocontrol. The objective is to get the biocontrol agent in the right place, at the right time, in a physiologically active state to provide the needed control.

One of the many reasons we choose biological control over synthetic pesticides is that we perceive that biological control is safer. It is incumbent on us to determine whether this is true and to work with scientists in other disciplines, including medicine, to ascertain the safety of the organisms and formulations of these organisms with which we work. As a minimal screen, I believe that organisms capable of growing at human body temperature should be eliminated from consideration early in the research process even if they demonstrate biocontrol potential. In addition to concerns about human pathogenicity, toxigenicity and allergenicity, we must also be cognizant of potential deleterious effects on other animals, plants and microbes, including the ability of the biocontrol agent to survive and spread in the environment.

In most countries, biocontrol agents must be registered with the government as pesticides before they can be sold commercially. The United States places emphasis in the registration process on the safety of the product. Organisms currently registered in the US for biocontrol are listed along with related controls at <http://www.epa.gov/oppbppd1/biopesticides/ingredients/index.htm> . This list also includes active compounds isolated from plants or other organisms. Each organism registered may be marketed under one or more names. Biocontrol and related products currently available in the US are listed at [http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/product\\_lists/bppd\\_products\\_by\\_AI.pdf](http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/product_lists/bppd_products_by_AI.pdf) .

Thus far, we have discussed discovery, development and use of single biocontrol agents. This type of thinking shows our natural bias based on a century of synthetic pesticide use when we would purchase a single pesticide. We recognize that our strategies should not be limited to single biocontrol agents. From an ecological point of view, ideally we would manage our agroecosystems so that they are stable and naturally resistant to pathogen invasion. Additional epidemiological knowledge is needed so that we only intervene in the system when a threshold level of pathogen population is reached and environmental factors favor infection and disease development. Biology is seldom simple, and at this point in time our knowledge does not permit us to do this optimally. We do have some information toward more stable systems through studies on crop rotations and organic farming. A holistic view of the system can help us make informed decisions about managing plant diseases.

## **Impacto das mudanças climáticas globais sobre o controle biológico de doenças de plantas**

Raquel Ghini, Wagner Bettiol. Embrapa Meio Ambiente, CP 69; 13820-000 Jaguariúna, SP. Brasil. raquel@cnpmembrapa.br

As atividades antrópicas estão alterando as concentrações de gases de efeito estufa da atmosfera, causando mudanças no clima do planeta. A importância do ambiente para a ocorrência de pragas e doenças de plantas é conhecida há séculos. Certamente, num futuro próximo, ocorrerão modificações no cenário fitossanitário brasileiro. O impacto econômico pode ser positivo, negativo ou neutro, pois as mudanças podem diminuir, aumentar ou não ter efeito sobre as pragas e doenças, em cada região ou época. Os impactos também serão observados sobre as plantas e outros organismos, como agentes de controle biológico, além de outros componentes do agroecossistema. As mudanças climáticas podem alterar a composição e a dinâmica da comunidade microbiana do ambiente aéreo e do solo de modo a alterar a saúde dos órgãos das plantas. Para se obter sucesso com o controle biológico, haverá maior necessidade de selecionar organismos devidamente adaptados para cada região. De modo geral, as mudanças climáticas serão benéficas para o controle biológico, tanto natural, quanto ao introduzido, pois as atenções da sociedade para os problemas ambientais exigirão medidas que minimizem o lançamento de poluentes. Com isso, o equilíbrio biológico dos sistemas agrícolas será beneficiado levando a um aumento da complexidade do sistema e, conseqüentemente, ao controle biológico. Para tanto, especialistas das diferentes áreas relacionadas com agricultura precisam ir além de suas disciplinas e posicionar os impactos das mudanças climáticas em um contexto mais amplo, que envolve todo o agroecossistema.

**IX Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas**  
**Fish emulsion and liquid swine manure: model systems for development of organic amendments as fertilizers with disease suppressive properties.**

**George Lazarovits, Pervaiz Abbasi, Kenneth Conn, Janet Hill<sup>1</sup>, and Sean Hemmingsen<sup>2</sup>**

*Agriculture and Agri-Food Canada, Southern Crop Protection & Food Research Ctr., 1391 Sandford St., London, ON, Canada, N5V 4T3; <sup>1</sup>Department of Veterinary Microbiology, U. of Saskatchewan, 52 Campus Drive, Saskatoon, SK, Canada, S7N 5B4; <sup>2</sup>National Research Council, Plant Biotechnology Institute, Saskatoon, SK, Canada. E-mail: lazarovitsg@AGR.GC.CA*

Fish emulsion (FE) is a liquid by-product of the processing of fish into fish meal. Liquid swine manure (LSM) wastes are stored in large lagoons which when full are applied to agricultural fields. The market for FE has been primarily as fertilizers but manufacturers noted that growers apply FE to a wide variety of field and orchard crops. LSM is used as a cheap source of fertilizer. What benefits growers derive applications of FE or LSM remains unidentified and little scientific data is available as to the impacts these materials have on crop health, other than improved fertility. Fish meal used as a soil amendment reduced the incidence of Verticillium wilt of tomato and solid waste from fish processing reduced the populations of plant-parasitic nematodes. Foliar sprays of FE and bacteria were shown to control moths. There are some single reports of various other pathogens and pests being controlled by mixtures of products containing fish waste.

Our laboratory was asked to identify why growers were using FE in their production. Typically FE has a N-P-K value of 5-2.0-2.5 with a dry organic matter content of about 50-60%. Our initial hypothesis was that the primary effect of FE was fertility. We found that radish, cucumber, and tobacco seedlings growing in peat substrate (Pro-Mix) under growth room conditions when fertilized with various amounts of FE ranging from 1-4% (m/m Pro-Mix) and were of equivalent weights and heights to those fertilized with an equivalent amount of inorganic fertilizer. The 2-4% FE rate was optimal and provided sufficient nutrition for plants for up to 6-8 weeks of growth. For plants growing in soil 1% FE was often sufficient.

The possibility that FE suppresses diseases of seedlings caused by *Rhizoctonia solani* and *Pythium aphanidermatum* was then tested in Pro-Mix and soil. FE (1-4% m/m Pro-Mix) or the equivalent inorganic fertilizer (N-P-K) was incorporated into pathogen-infested substrate and the mixtures were incubated for 1, 7, 14, and 28 d prior to planting radish or cucumber seeds. Plants were rated 14 d later for incidence and severity of damping-off. Seedlings grown in Pro-Mix incubated for only 1 d with FE were often as highly diseased as the control treatments, although occasionally significant disease reduction was seen (1). In Pro-Mix treated with 4% FE 7 d prior to seeding, 70-80% of the seedlings remained disease-free and when treated 28 d prior to seeding even the 1% rate of FE provided similar high levels of protection. The equivalent levels of inorganic N-P-K treatment provided no disease control. Incorporation of 0.5% (m/m soil) FE into soil 5 d prior to planting radish provided effective control of damping-off disease. In muck soil naturally infested with damping-off pathogens FE (2% and 4%; m/m) also effectively and consistently suppressed damping-off of cucumber seedlings. Significant increases in soil bacteria and fungi were seen after addition of FE and suggest that FE may enhance a biological climate that is suppressive to plant pathogens.

**Campinas- SP, 6 a 9 de novembro de 2007**

### IX Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas

FE was also tested as a pre-plant soil amendment to control soilborne diseases such as *Verticillium* wilt and common scab in 11 soils of different characteristics (pH 5.2-7.2, organic matter 1-3.7) from commercial potato fields in four provinces (2). Under greenhouse conditions FE (0.5 and 1% m/m soil) protected eggplants from *Verticillium* wilt and increased (1% only) fresh and dry plant biomass. In microplots, 1% FE significantly reduced common scab severity in seven soils with low to medium scab disease pressure and increased total tuber yield by 41-170% in nine soils compared to the controls. FE also reduced the petiole infection by *Verticillium dahliae* in some soils but only significantly in one soil. In field trials at two sites, 1% FE (20,000 L/ha) significantly reduced scab severity, increased the percentage of disease-free tubers by 132-366%, and increased marketable tuber yield by two-fold compared to the control at both sites. The rates required, however, were much too costly for commercial use.

FE applied as a foliar spray (0.5 %; v/v water) reduced the incidence and severity of bacterial spot of tomato and pepper under both greenhouse and field conditions (3). The disease incidence on the fruit of these plants was reduced but the effect was not always statistically significant. However, the number of lesions per pepper fruit was significantly less with the FE treatment. FE increased healthy and total fruit yield of tomatoes and healthy fruit yield of peppers in some but not all years. These results suggest that disease management programs for bacterial spot may be enhanced by including foliar sprays of FE

A single application of LSM to a potato field with soil of pH 5 resulted in a significant reduction of *Verticillium* wilt, caused by the fungus *V. dahliae* for up to 3 years. Disease reduction with the same LSM, however, was not observed re at a second site where the soil pH was neutral. The basis for this disease control arises from the fact that LSM kills *V. dahliae* microsclerotia within 1 day after incorporation in acid soil, but it has no effect in a neutral pH soil (5,6). The toxic products were found to be volatile fatty acids (VFAs) with the major VFA being acetic acid (60% of the active ingredient). VFAs are only toxic in acidic soils.

FE reduces disease by at least two mechanisms; the presence of high amounts of VFAs as seen with LSM (unpublished results) of which formic acid is the most active, although there are also high concentrations of acetic acid present (2). The second mechanism is possibly the stimulation of biological control, but the source of this remains unknown. Attempts are being made to determine what microbial changes occur as a result of FE treatment. We extracted DNA from treated soil at various times and amplified the chaperonin cpn60 using universal primers (4). Amplification of this site provides sequences that can discriminate species within a genus, and sometimes subspecies. This technique has been shown to be useful for identifying and enumerating members of complex microbial communities. The cpn60 fragments were cloned, sequenced, and the sequences compared to a data base and a tentative identity for the origin of the organism was generated. The process allowed for measuring the exact abundance of particular taxa within the population by quantitative PCR assays (real-time PCR). Results indicated that certain bacteria increased in number while others were reduced. The ones of greatest interest were those from the *Burkholderia* family as these are known to have numerous biocontrol members among them.

- 1) Abbasi, P.A., Conn, K.L., and Lazarovits, G. 2004. Can. J. Plant Pathol. 26:177-187.
- 2) Abbasi, P.A., Conn, K.L., and Lazarovits, G. 2006. Can. J. Plant Pathol. 28:509-518.
- 3) Abbasi, P.A., Cuppels, D.A., and Lazarovits, G. 2003. Can. J. Plant Pathol. 25:41-48.

**IX Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas**

- 4) Hill, J.E., Seipp, R.P., Betts, M., Hawkins, L., Van Kessel, A.G., Crosby, W.L., and Hemmingsen, S.M. 2002. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:3055-66.
- 5) Lazarovits, G., 2004. *Phytoparasitica* 32:427-431.
- 6) Conn, K.L., Tenuta, M., and Lazarovits, G. 2005. *Phytopathology* 98:28-35.

## **A indústria no controle biológico: produção e comercialização de microrganismos no Brasil**

**Rogério Biaggioni Lopes.**

*Itaforte BioProdutos - Rod. Raposo Tavares, Km167, C.P.808, 18201-970, Itapetininga-SP, rogeriolopes@itafortebioproductos.com.br*

A despeito do conhecimento já acumulado a centenas de anos sobre os microrganismos como agentes de controle biológico de pragas e doenças, somente recentemente o uso de produtos microbianos vem se difundindo em alguns países no mundo. No Brasil, o controle microbiano é uma estratégia ainda em crescimento, em parte, pela falta de produtos disponíveis no mercado nacional e pelo perfil tradicional do agricultor brasileiro. A produção de agentes de controle de pragas, viabilizando o fornecimento de grandes quantidades de um microrganismo, está diretamente ligada à evolução desse método de controle. O desenvolvimento dos processos de produção de microrganismos iniciou-se no país em meados do século XX, em sistemas simples e artesanais que perduram até hoje. A maior parte dessa produção industrial envolve a fabricação de fungos reguladores de pragas e doenças. As formulações microbianas são também bastante simples e, na maioria dos casos, o microrganismo é usado no próprio substrato de cultivo. Isso implica em menor estabilidade do produto final no armazenamento, que deve ser feito em condições de baixa temperatura e utilizado rapidamente no campo. Adaptações nos sistemas de produção e o desenvolvimento de formulações mais modernas são mais recentes, dando condições para uma evolução maior do mercado nacional. Boa parte dos produtos microbianos em comercialização no país é à base de bactérias e normalmente são formulações importadas. A grande demanda para fungos no Brasil está relacionada à cultura da cana-de-açúcar, em um dos maiores programas mundiais de uso de um fungo para o controle de um inseto. O controle de fitopatógenos habitantes de solo com antagonistas, em especial *Trichoderma*, também vem crescendo no país. A maior parte da comercialização de produtos microbianos é voltada à agricultura convencional. Embora alguns produtos sejam usados atualmente em grandes culturas anuais, com resultados satisfatórios, os cultivos perenes e semi-perenes e os cultivos protegidos oferecem melhores condições para o estabelecimento e uso dos microrganismos. A agricultura orgânica é outro campo em crescimento e, certamente, mais dependente de insumos biológicos do que o modelo convencional. Fatores relacionados ao mercado, como a qualidade das formulações disponíveis, a legislação vigente no país e as necessidades do consumidor são ainda questões a serem discutidas. O sucesso do controle biológico de pragas também não depende apenas da disponibilidade de produtos microbianos. O método deve ser encarado com uma visão ampla, dentro de um contexto de manejo integrado. Desse modo, é importante que o insumo biológico não seja comercializado e utilizado como um simples produto, devendo fazer parte de um processo de controle.

**Palavras-chave:** controle microbiano, antagonistas, entomopatógenos

## **A utilização do controle biológico para grandes culturas – a experiência do grupo Sementes Farroupilha.**

**Alan W.V. Pomella**

*Laboratório de Biocontrole Farroupilha, Av. Cica 555, Patos de Minas, Minas Gerais, 38706-420, [alan@sementesfarroupilha.com.br](mailto:alan@sementesfarroupilha.com.br).*

A utilização do controle biológico no mercado mundial é demasiadamente tímida em relação a expectativa de cientistas, fabricantes e consumidores, mesmo levando-se em consideração, os claros benefícios inerentes a esta técnica. Segundo dados apresentados em um workshop realizado em Nova Jersey em 1998, o mercado de produtos biológicos no final da década de 90 era de cerca de US\$ 380 milhões, ou seja apenas 1,4% dos US\$ 28 bilhões gastos com defensivos no mercado mundial. Deste universo cerca de US\$ 308 milhões eram provenientes somente do mercado de produtos derivados de *Bacillus thuringiensis*. Atualmente, no mercado mundial, o controle biológico vem sendo relegado a nichos específicos com alto valor agregado, e mesmo assim, vem perdendo espaço para os produtos transgênicos ou defensivos químicos “ecologicamente corretos”.

Acreditamos que um dos principais objetivos do controle biológico seja lutar para diminuir a utilização de defensivos químicos na agricultura, no entanto, esta meta não esta sendo atingida. Em parte, podemos explicar que esta realidade é ocasionada pelos problemas de produção e comercialização destes produtos, e que é difícil seguir o modelo adotado pelas indústrias químicas, voltado principalmente para utilização em grandes culturas com custos reduzidos de produção e prolongada vida de prateleira.

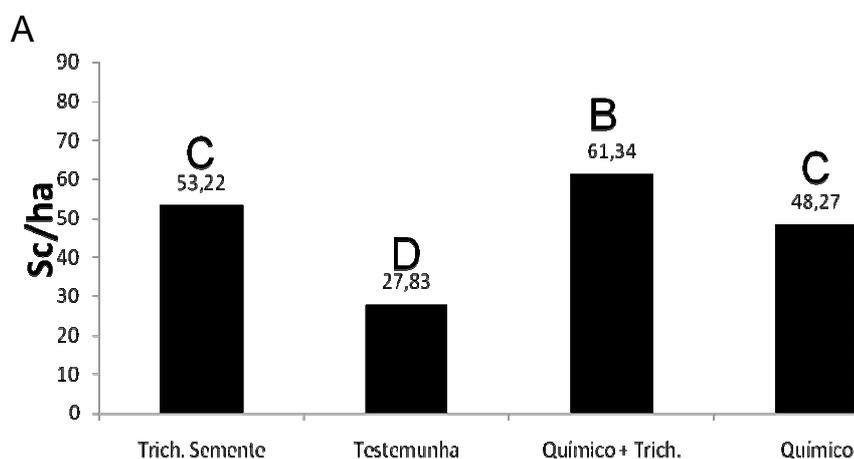
No Brasil a situação não é diferente, embora tenhamos no mercado dezenas de produtos baseados em fungos e bactérias, a sua utilização, principalmente em grandes culturas como a soja e o algodão, é muito restrita. Cabe a nós refletirmos sobre dois pontos de vista, o do empresário e o do consumidor. O primeiro sofre com toda a burocracia, tempo e custo elevado do processo de registro dos produtos, além de uma carência de pesquisa, objetivando colocar no mercado um produto melhor, seja relacionado a produção, formulação ou tecnologia de aplicação. Já o consumidor perde a credibilidade em produtos que não são registrados, normalmente onerosos e que muitas vezes não apresentam a eficiência prometida, normalmente por problemas de perda de viabilidade do antagonista ou falha na sua aplicação. Além do mais o consumidor não distingue a diferença entre os produtos biológicos, terminando assim, a denegrir o nome do controle biológico como um todo.

O Laboratório de Biocontrole Farroupilha esta provando que a utilização do controle biológico para grandes culturas é tecnicamente viável e economicamente rentável. Esta empresa pertence ao grupo Sementes Farroupilha®, localizada em Patos de Minas, região do Alto Paranaíba de Minas Gerais. Fundado no ano de 2006 o laboratório tem como objetivo a pesquisa e a produção de organismos de biocontrole de doenças e pragas. A Sementes Farroupilha® possui 15.000 ha plantados dos quais 8.500 cultivados com soja, 4.500 com o algodão além de 2.500 ha com feijão e milho. Por ser elevado o volume de defensivos agrícolas utilizados anualmente onerando o custo de produção, e devido a todo benefício sócio-ambiental, a empresa decidiu investir no controle biológico. Convênios

## IX Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas

foram formados com diversos centros de pesquisas e ensino, no Brasil e no exterior, os quais muito auxiliaram na seleção do isolado a ser produzido, na construção e na logística de funcionamento e manutenção do laboratório. Atualmente esta sendo produzido majoritariamente o fungo *Trichoderma asperellum*. Este isolado demonstra comportamento endofítico, pois foi isolado do interior de uma árvore na mata atlântica. Atualmente o laboratório processa 500 kg de substrato por dia, totalizando uma produção média de 10.000 kg/mês. Toda a produção é consumida pela empresa, porém o objetivo futuro é comercializar o produto, após o registro no Ministério da Agricultura. A busca pela melhoria na sua qualidade é constante, tanto por meio de testes com novas formulações como pela avaliação de diferentes métodos de aplicação. Ensaio também são conduzidos objetivando aprimorar a recomendação do produto, quanto a melhor dosagem, compatibilidade com defensivos químicos, intervalo e horário de aplicação. Os resultados obtidos no campo com a aplicação de *T. asperellum* são muito animadores, principalmente para as culturas da soja (Figura 1 ), algodão e feijão.

O sucesso do programa é creditado ao aumento do stand de plantas, devido à redução de tombamento ocasionado por patógenos de solo como *Fusarium* sp. e *Rhizoctonia solani*, ao efeito fitotônico, que promove um maior vigor as plantas, e também a sensível redução na incidência e na severidade de *Sclerotinia sclerotiorum*, reduzindo a utilização de fungicidas químicos. Portanto, o custo de produção no geral foi reduzido, tanto pelo aumento da produtividade, quanto pela redução da utilização de defensivos químicos. O diferencial expresso pelo produto esta no isolado altamente eficiente e em toda a tecnologia empregada na sua formulação e aplicação.



B

## IX Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas

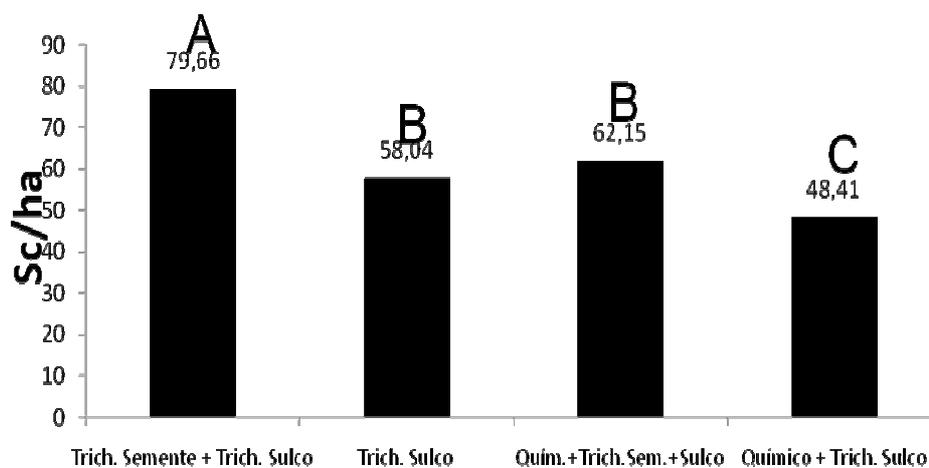


Fig.1- Avaliação da produtividade da soja em função do tratamento de sementes e/ou sulco com *Trichoderma asperellum* e tratamento químico. A- Quando aplicado, *T. asperellum* somente em tratamento de semente; B- *T. asperellum* aplicado também no sulco. Barras seguidas de mesma letra não se diferem pelo teste de Scott-Knott a 5%.

**Serenade® (*Bacillus subtilis* strain QST 713) and Sonata® (*Bacillus pumilus* strain QST2808), new biological tools for integrated and organic disease control programs**

D W Edgecomb, D C Manker

AgraQuest Inc, 1540 Drew Ave, Davis, CA, 95618, USA

Email: dedgecomb@agraquest.com

**ABSTRACT**

Serenade, a unique and naturally occurring strain of *B. subtilis*, was discovered in a California orchard by AgraQuest, Inc., USA. Serenade has been shown to possess significant efficacy against a broad spectrum of bacterial and fungal pathogens and is not toxic to beneficial and non-target organisms. Sonata has more selective activity on obligate pathogens such as mildews and rusts. Serenade works through novel, multiple modes of action that involve the competitive biological action of *B. subtilis* in addition to fungicidal, lipopeptide compounds produced by the bacterium. Sonata also works through novel, multiple modes of action that involve competitive biological action in addition to a different class of fungicidal compounds produced by the bacterium which give differentiated activity compared to Serenade. As determined by US-Environmental Protection Agency and international regulatory authorities, Serenade and Sonata are exempt from the requirement of a tolerance because there are no synthetic chemical residues, and it is safe to workers and the environment. As a result, treated fruit and vegetables can be exported throughout the world without restrictions. Serenade and Sonata have been shown to be effective tools for disease control in organic crop production and in integrated disease control programs contributing to resistance management and, overall, reducing dependency on synthetic fungicides.

**DESCRIPTION and REGISTRATION STATUS**

*Bacillus subtilis* strain QST 713 is a rod-shaped, gram positive, aerobic, motile bacterium which is ubiquitous in nature. The bacterium can also produce an endospore. *B. subtilis* is commonly found in various ecological niches including soil, water and air. The US-Environmental Protection Agency and international regulatory authorities have classified *B. subtilis* strain QST 713 as a microbial fungicide. The commercial formulated product and QST 713 technical product contain living *B. subtilis* as the active ingredient. *B. subtilis* QST 713 was approved in the United States as a foliar fungicide in 2000 and is currently registered in 16 countries under the trade name, Serenade® (Table 1).

Table 1. Serenade Global Registration Status.

Bold type indicates regulatory approval for commercial use

1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006>
Chile	US	Mexico	Costa Rica	Japan	Guatemala	France	Peru
		New Zealand		Israel	Honduras	Italy	Columbia
		Puerto Rico		Philippines	Switzerland	Korea	Canada
					Turkey	Ecuador	Spain
					Argentina		Greece
							Germany

Africa  
UK

*Bacillus pumilus* is a rod-shaped, gram positive, aerobic, motile spore-forming bacterium which is ubiquitous in nature. *B. pumilus* is commonly found in various ecological niches including soil, water, air and decomposing plant materials. The US-Environmental Protection Agency and international regulatory authorities have classified *B. pumilus* QST 2808 as a microbial fungicide. The commercial formulated product and QST 2808 technical product contain living *B. pumilus* strain QST 2808 as the active ingredient. *B. pumilus* QST 2808 was approved in the United States as a foliar fungicide in 2004 and is currently registered in the US under the trade name, Sonata®. Registration processes for Sonata are underway in Korea, Mexico, and Brazil.

### CROP USES AND DISEASE SPECTRUM

Serenade efficacy has been demonstrated on over 30 crops in 20 countries against a broad spectrum of fungal and bacterial pathogens. Currently, the major commercial uses are in the crops listed in Table 2. Serenade can be applied alone, in tank mixtures or in rotation programs with other fungicides. Therefore, it is ideally suited for “high” value, fruit and vegetable production particularly for export markets with requirements for organic or reduced chemical-input certification.

Table 2. Serenade: Global Commercial Use

Crop	Disease	Pathogen
Tomato/Pepper	Bacterial Leaf Spot	<i>Xanthomonas</i> spp.
	Powdery Mildew	<i>Leveillula taurica</i>
	Early Blight	<i>Alternaria solani</i>
Grapes	Gray Mold	<i>Botrytis cinerea</i>
	Powdery Mildew	<i>Uncinula necator</i>
	Sour Rot	Multiple pathogens
Cucurbits	Powdery mildew	<i>Erysibe/Sphaerotheca</i> spp.
	Gummy Stem Blight	<i>Didymella bryoniae</i>
Banana	Black Sigatoka	<i>Mycosphaerella fijiensis</i>
Mango	Anthraxnose	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>
Lettuce	Leaf Drop	<i>Sclerotinia</i> spp.
Apples/Pears	Fire Blight	<i>Erwinia amylovora</i>
Beans	White Mold	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>

Table 3. Sonata: Global Commercial Use

Crop	Disease	Pathogen
Tomato/Pepper	Powdery Mildew	<i>Oidiopsis taurica</i> , <i>Erysiphe</i> spp.
Potato	Early Blight	<i>Alternaria solani</i>
	Late Blight	<i>Phytophthora infestans</i>
Grapes	Powdery Mildew	<i>Uncinula necator</i>
Cucurbits	Powdery Mildew	<i>Erysiphe/Sphaerotheca</i> spp.
	Downy Mildew	<i>Pseudoperonospora</i> spp
Strawberries	Powdery Mildew	<i>Sphaerotheca macularis</i> <i>Erysiphe</i> spp.
Lettuce	Powdery Mildew	<i>Erysiphe cichoracearum</i>
	Downy Mildew	<i>Bremia lactucae/Peronospora</i> spp
Apples/Pears	Powdery Mildew	<i>Podosphaera leucotrica</i>

## MODES OF ACTION

Serenade (*Bacillus subtilis* QST 713) works through novel modes of action that are manifested by the bacterium colonizing the leaf surface and competing with the pathogen for nutrients and space and physically preventing attachment and penetration of the pathogen. In addition, *B. subtilis* QST 713 produces three groups of metabolites known as lipopeptides, (iturins, agrastatins/plipastatins, and surfactins) that act in a synergistic manner to destroy pathogen germ tubes and pathogen membranes. The iturins and plipastatins have been reported to have fungicidal activity. *B. subtilis* QST 713 is the first strain reported to produce iturins, plipastatins and surfactins and two new compounds, the agrastatins. Studies at AgraQuest on the effects of the individual groups of lipopeptides on pathogen spore germination compared to mixtures of the groups, provided a better understanding of the role of these metabolites. Morphological differences were observed in spores treated with different lipopeptide groups. The iturin group resulted in inhibition of spore germination and was dependent upon the concentration of iturins present. The iturins were most effective on *Botrytis cinerea* spores with an EC<sub>50</sub> as low as 15 ppm (50% inhibition of spore germination). The EC<sub>50</sub> of *Monilinia fructicola* spores occurred at 30 ppm and for *Alternaria brassicicola* the level required was 25 ppm. Exposure of the spores to the iturin/plipastatin group resulted in an abnormal appearance in which the spore had a large bubble-like growth replacing the normal appressorium. This effect was most notable with *A. brassicicola* spores in which the EC<sub>50</sub> was 5 ppm. Investigation of the effects of combining the groups of lipopeptides gave further explanation for the efficacy observed with *B. subtilis* QST 713. Addition of concentrations as low as 1 ppm agrastatin/plipastatin to 10 ppm iturin provided a significant reduction in spore germination; reduced to approximately 5% spore germination for *M. fructicola*. The surfactin group was found to have no effect on spores at the highest rate tested (250 ppm). Addition of 25 ppm surfactin to 20 ppm iturin reduced spore germination from 85% to less than 5%. Surfactin at 25 ppm added to agrastatin/plipastatin reduced germination from 100% to 10%. Given the novel, multiple, modes of action, *B. subtilis* QST 713 is utilized as a resistance management tool in rotation programs with chemical fungicides, such as the strobilurin

and triazole groups, which are highly susceptible to resistance development due to a specific metabolic site, modes of action.

Sonata, *Bacillus pumilus* QST 2808, also works through multiple modes of action. In addition to the colonization of the leaf surface and competition with the pathogen, the aminosugar compounds produced by this strain have a unique antifungal effect. Competing for the enzyme that is involved in cell wall formation, these compounds effectively stop formation of new cell walls, resulting in pathogen death. This is distinct different from the action of the lipopeptides present in Serenade.

## FORMULATION

Serenade, *Bacillus subtilis* QST 713, is formulated as a wettable granule and aqueous suspension product containing from 1 to  $7 \times 10^9$  cfu/gram depending upon the formulation. Sonata, *Bacillus pumilus* QST 2808, is formulated as an aqueous suspension and contains a minimum of  $1 \times 10^9$  cfu/gram. Both can be applied using conventional application equipment, requiring no special storage conditions and have a shelf life of more than 2 years. Serenade and Sonata formulations have been shown to be compatible in mixtures with commonly used synthetic fungicides (e.g., sulfur, copper hydroxide, mancozeb, chlorothalonil, azoxystrobin, myclobutanil) and are approved for use in organic agriculture under the guidelines established by the Organic Materials Review Institute (OMRI-USA). In addition, Serenade is approved for organic use by the Institute for Marketecology (IMO-Switzerland) and BCS Öko-Garantie (BCS-Germany).

## USE IN INTEGRATED DISEASE MANAGEMENT PROGRAMS

Because of the excellent environmental profile, broad disease control spectrum and safety to non-target, beneficial organisms (Table 3), Serenade is ideally suited for use in integrated pest management (IPM) programs that utilize many approaches such as cultural practices, classical biological control and other fungicides. Similarly, Sonata exhibits a safe environmental profile and is non toxic to beneficial organisms.

Table 3. Summary of Serenade ecological toxicity studies

Non Target Test Organism	Toxicity Serenade	Toxicity Sonata	Toxicity Rating <sup>1</sup>
Avian oral (quail)	LD50 > 5000 mg/kg	LD50 > 1000 mg/kg	5
Freshwater fish (trout)	LC50 = 162 ppm	LC50 = 2760ppm	3
Honey bee larvae	LC50 >10,000 ppm	LC50 >10,000 ppm	5
Daphnia	EC50 = 108 ppm	EC50 = 67 ppm	3
Hymenoptera parasitic wasp	LC50 > 30,000 ppm	LC50 > 50,000 ppm	5
Lady beetle	LC50 > 60,000 ppm	LC50 > 50,000 ppm	5
Lacewing larvae	LC50 > 60,000 ppm	LC50 = 12,305 ppm	5

<sup>1</sup> Rating according to Hodge and Sterner scale of 1 to 6 where 1 is “Extremely Toxic” and 6 is “Relatively Harmless”

## IX Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas

The benefits of Serenade in programs utilizing chemical fungicides are shown in the following studies. The objective of these studies were (1) to demonstrate the efficacy of Serenade used alone against economically important diseases and (2) to document the effectiveness of Serenade in strategically replacing conventional fungicide applications in rotation and tank mix programs. In a 2003 cucumber study conducted in Japan, Serenade (*B. subtilis* QST 713) provided effective powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) control when applied alone on a weekly schedule, although it was slightly less effective than the chemical standard, quinomethionate (Table 4). However, rotational programs with Serenade and quinomethionate provided excellent powdery mildew control, comparable to weekly applications of quinomethionate alone. The Serenade/quinomethionate programs provided a 50% reduction in chemical fungicide use without compromising disease control.

Table 4. Serenade (*Bacillus subtilis* QST 713) integrated pest management program for cucurbit powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) control, Japan 2003  
Chemical fungicide = quinomethionate

	Treatment Schedule				Powdery Mildew % Control
	0 Day	7 Day	13 Day	20 Day	
Untreated	Water	Water	Water	Water	0
Chemical	Fungicide	Fungicide	Fungicide	Fungicide	98.8
<i>B. subtilis</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>B. subtilis</i>	86.9
Chemical / <i>B. subtilis</i>	Fungicide	<i>B. subtilis</i>	Fungicide	<i>B. subtilis</i>	98.6
<i>B. subtilis</i> / Chemical	<i>B. subtilis</i>	Fungicide	<i>B. subtilis</i>	Fungicide	98.4

Serenade is also effective in tank mix programs with reduced use rates of chemical fungicides as shown in a banana/black sigatoka (*Mycosphaerella fijiensis*) study conducted in Costa Rica during 2003 (Table 5). Black sigatoka causes significant reductions in functional leaf area resulting in yield losses and premature ripening of harvested fruit. Successful sigatoka control programs depend heavily on synthetic fungicides. As many as 30 to 50 fungicide applications per year are required for acceptable sigatoka control creating concerns for adverse affects on local ecosystems and potential health risks associated with human exposure. Systemic fungicides, such as strobilurin, sterol biosynthesis and sterol demethylation inhibitors, provide effective sigatoka control, but are highly susceptible to disease resistance development if not properly managed. In this study, evaluations parameters such as Youngest Leaf Infected and Functional Leaves at Shooting and Harvest showed that Serenade provided effective control of sigatoka, particularly in tank mix combinations, with reduced rates of the standard protectant fungicide, mancozeb.

Table 5. Serenade (*Bacillus subtilis* QST 713) integrated pest management program for black sigatoka (*Mycosphaerella fijiensis*) control in bananas, standard fungicide = mancozeb 60 OS formulation. Mindanao Philippines (March to August 2003)

Treatment (rate / hectare)	Visible Streaks	Youngest Leaf Spotted	Functional Leaves at Shooting Stage	Functional Leaves at Harvest
<i>B. subtilis</i> – 2 liters	3.9 a	9.5 c	13.3 a	7.8 a
<i>B. subtilis</i> + mancozeb (2 + 0.9 liters)	3.9 a	10.1 bc	13.5 a	7.4 a
Standard Program (mancozeb at 1.8 liters)	4.1 a	11.4 a	13.4 a	8.5 a

## IX Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas

Untreated	3.4 b	8.6 d	12.9 a	4.9 b
-----------	-------	-------	--------	-------

Sonata has also been shown to be effective in disease control alone and provides significant benefits to integrated programs with conventional fungicides. In a study carried out in Mexico, Sonata was applied five times in seven day intervals at three rates to cucurbits for control of *Pseudoperonospora cubensis*. This was compared to five applications of chlorothalonil 720 grams / liter with the same application interval. Sonata gave excellent disease control under high pressure at all rates and was statistically equivalent to the conventional fungicide at 6 and 9L/ha (Table 6).

Table 6. Sonata (*Bacillus pumilus* QST 2808) stand alone treatment of downy mildew in cucurbits (cabocha calabaza) compared to chlorothalonil 720 grams/liter; five applications, seven day intervals. Percent infection and percent efficacy (Abbott) shown at 7 days after the fourth application and 7 days after the fifth application.

Treatment (rate / hectare)	% infection	% Efficacy	% infection	% Efficacy
	7DAT4	Abbott's 7DAT4	7DAT5	Abbott's 7DAT5
Sonata – 3 liters	9.0 b	86	10.7 b	87
Sonata – 6 liters	7.0 bc	89	9.0 bc	89
Sonata – 9 liters/ Chlorothalonil – 2.5 liters	4.2 cd	93	5.5 c	93
Untreated	3.2 d	95	5.0 c	93
	65.7 a	--	83.0	--

A program approach to the control of powdery mildew in apples in Washington State, USA, showed that Sonata outperformed the standard conventional program in a measure of leaf incidence at the final rating. Five applications made at green tip, pink, petal fall, first cover and second cover were carried out on Rome apples from April through June. Incidence and severity are shown in Table 7.

Table 7. Efficacy of Sonata for control of powdery mildew of Rome apples

Treatment	5/30/06	5/30/06	6/13/06	6/13/06
	Leaf incidence %	Leaf severity (0-4 scale)	Leaf incidence %	Leaf severity (0-4 scale)
Sonata 2qts/acre tank mixed with triflumizole – 8 oz/acre	1.9 b	0.02 b	2.9 b	0.03 b
Sonata 1qt/acre tank mixed with triflumizole – 12 oz/acre	0.2 b	0.003 b	0.5 c	0.01 b
Triflumizole/	2.8 b	0.04 b	5.9 b	0.06 b

## IX Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas

trifloxystrobin <sup>1</sup>				
Untreated	34.3 b	0.47 a	49.5 a	0.94 a

<sup>1</sup> Triflumizole 50WS at 12oz/acre alternated with trifloxystrobin 50WG at 2.5 oz/acre

Additional benefits of Sonata in a program can also be seen in yield effects. In a study carried out by University of Florida, Sonata used in a conventional program was shown to give similar disease control of downy mildew on winter squash and increased yield compared to a conventional chemical program with out Sonata (Table 8).

Table 8. Efficacy of Sonata for control of downy mildew on winter squash

Treatment	% Foliar Damage 5/11/06	Harvested Number fruit/acre	Harvested Pounds fruit/acre
Sonata 2qt + propamocarb 1pt alt with Sonata 2qt+mancozeb 75DF 1.5lb	59.5 cde	59,117	37,545
Sonata 2qt + propamocarb 1pt alt with Sonata 2qt + phosphoric acid 1pt	75.8 abcd	56,825	38,997
Pyraclostrobin 12oz + dimethomorph 6oz alt with propamocarb 2pt +chlorothalonil 3pt	62.3 bcde	49,783	29,870
Untreated	87.3 a	43,041	33,085

Serenade (*Bacillus subtilis* QST 713) and Sonata (*Bacillus pumilus* QST 2808) have been shown to be effective tools in rotational and tank mix programs with other fungicides contributing to resistance management and overall, reducing dependency on synthetic fungicides.

## **Integração de métodos biológicos para o controle de doenças e pragas da cultura do lírio.**

**Eng. Agr. Johannes Petrus W. de Wit**

*Jan de Wit - CP 175; 13850-000 Holambra, SP. E-mail: jandewit@uol.com.br*

Os problemas fitossanitário na cultura do lírio são limitantes para o seu cultivo. Dentre esses podem ser destacados os causados por *Botrytis*, *Rhizoctonia*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Fusarium* e por pulgões. Para se obter um controle integrado desses problemas há necessidade de se realizar um redesenho do sistema de produção de lírio em estufa. Na propriedade de cultivo de lírio com utilização intensiva de fungicidas, inseticidas e acaricidas, localizada na Holambra, SP, foi eliminada a utilização desses produtos por meio da integração de métodos alternativos para o controle de pragas e doenças. De um modo geral, a produção atual baseia-se na colonização de um substrato desinfestado com vapor, com *Trichoderma*, *Metarhizium*, *Beauveria* e microrganismos presentes em biofertilizante para eliminar o vácuo biológico promovido pela desinfestação. Além disso, é realizada uma aplicação de biofertilizante concentrado logo após a emergência dos bulbos e semanalmente a aplicação massal de *Trichoderma*, *Clonostachys* bem como biofertilizante e óleo de nin. Associado a esses produtos e de uma fertilização equilibrada, um programa de sanitização é mantido em todas as estufas. O sucesso se deve não apenas à substituição dos agrotóxicos por algum produto alternativo, mas sim pela alteração de todo o sistema de produção, pois a simples substituição de produtos poderá levar aos mesmos desequilíbrios causados pelos agrotóxicos.

## **Integração de métodos biológicos para o controle de doenças e pragas da cultura do *Spathiphyllum* e *Phalaenopsis*.**

Eng. Agr. Ronaldo Aluisio Kievitsbosh.

E-mail: ronaldk@holnet.com.br

Um dos principais problemas no controle fitossanitário em plantas ornamentais é a inexistência de produtos fitossanitários registrados para uso. Assim, ocorrem os problemas principalmente nas culturas em que selos são exigidos para venda no mercado interno e principalmente externo. Na cultura do lírio da paz ou espatifilo a principal doença é causada por *Cylindrocladium spathiphylli*. Essa doença é limitante para a cultura e os fungicidas disponíveis no mercado não são registrados para uso e não apresentam a eficiência desejada, além dos problemas com resistência do patógeno. Assim, considerando esses fatos foi decidido substituir todos os produtos químicos utilizados por técnicas alternativas de controle visando redesenhar o sistema de produção. Nas estufas de produção foi estabelecido um programa de substituição de fungicidas e substituição por técnicas que não causem estresses às plantas. Inicialmente o substrato de crescimento foi enriquecido com biofertilizante produzido aerobicamente e com *Trichoderma*. Além disso, as plantas também passaram a ser pulverizadas semanalmente com o agente de biocontrole. Associado a isso foi montada uma estrutura na casa de vegetação para que os vasos ficassem elevados do solo em torno de 30 cm, com a finalidade de evitar a sua contaminação via solo. Um problema da cultura é a ocorrência de ratos logo após o transplante, pois as mudas são arrancadas do substrato. Nesse caso o uso de raticidas foi substituído integralmente pela liberação de um gato nas estufas, sendo que o gato tem todo o acompanhamento veterinário recomendado.

No caso de *Phalaenopsis*, os problemas com registro e eficiência dos produtos são semelhantes. Como o cultivo visa exclusivamente à comercialização para flor de corte, as plantas são mantidas em produção por longos períodos (superiores há 10 anos), com alto custo energético. O principal problema desse modelo de produção é a ocorrência de *Sclerotium rolfsii* o qual foi resolvido com a introdução da aplicação de *Trichoderma*, *Bacillus* e de biofertilizante diretamente no substrato. Para as duas culturas foi estabelecido também um programa de adubação equilibrada, pois a nutrição, considerando as fases de desenvolvimento da planta e as suas necessidades, auxilia na manutenção de plantas saudáveis. Também a sanitização em todas as áreas de produção é um instrumento de extrema importância. Além disso, foi melhorado o controle das condições ambientes e introduzidas armadilhas para o controle de insetos pragas. Nesse novo modelo uma das vantagens é o bem estar dos trabalhadores, pois nenhum produto químico é pulverizado nesse ambiente fechado.

## Controle biológico de doenças no café orgânico

**Luiz A. Maffia; Fernando Haddad; Eduardo S. G. Mizubuti**

*Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Fitopatologia, 36570-000, Viçosa (MG), Email: [lamaffia@ufv.br](mailto:lamaffia@ufv.br).*

Considerando as demandas de mercado, há necessidade de geração de dados experimentais relacionados à cafeicultura orgânica. Nessa perspectiva, na UFV iniciou-se um programa de pesquisa que objetiva avaliar a eficiência do controle biológico das doenças de cafeeiros cultivados organicamente. Apresentar-se-ão os resultados obtidos no projeto de biocontrole da ferrugem. De amostras de folhas doentes e sadias, restos de folhas e de solo sob a saia de cafeeiros, coletadas em lavouras sob cultivo orgânico, isolaram-se 393 microrganismos (154 bactérias e 239 fungos). Em condições controladas, 17 isolados reduziram, em níveis superiores a 70%, a frequência de infecção e o número de uredinósporos produzidos por folha. Dos 17 isolados, seis de *Bacillus* sp. e um de *Pseudomonas* sp. foram os mais eficientes em reduzir a severidade de ferrugem em mudas de ‘Catuaí’, principalmente quando aplicados antes de inocular *H. vastatrix*. Os sete isolados foram avaliados em experimento de campo em cultivo orgânico em 2005 (E1) e 2006 (E2). Dez tratamentos (os isolados bacterianos, hidróxido de cobre, silicato de cálcio e água) foram aplicados em três (E1) ou quatro (E2) pulverizações mensais, e mensalmente quantificou-se a incidência da ferrugem. Em E1, as pulverizações iniciaram-se em janeiro/2005, e nenhum tratamento reduziu o progresso da ferrugem. Em novembro/2005, a incidência atingiu 5%, e as pulverizações para o E2 iniciaram-se. Houve diferenças entre os tratamentos ( $P < 0,0001$ ) quanto à incidência em junho/2006, incremento na incidência no período dezembro/2005-junho/2006 e área abaixo da curva de progresso da ferrugem. Obtiveram-se menores valores das três variáveis, nas parcelas tratadas com hidróxido de cobre, um isolado de *Bacillus* sp. e com o isolado de *Pseudomonas* sp. Estudos mais detalhados estão sendo conduzidos com as duas bactérias.

**Palavras-chave:** ferrugem do cafeeiro, *Hemileia vastatrix*, biocontrole.