



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
CURSO DE AGRONOMIA

Thais Melissa Macedo de Vasconcelos

**CONTROLE DE *SCLEROTIUM ROLFSII*, CAUSADOR DE PODRIDÃO EM
FEIJOEIRO, COM *TRICHODERMA* SPP, *PSEUDOMONAS* SP. FLUORESCENTES E
FOSFITO**

Brasília, DF

2011

Thaís Melissa Macedo de Vasconcelos

**CONTROLE DE *SCLEROTIUM ROLFSII*, CAUSADOR DE PODRIDÃO EM
FEIJOEIRO, COM *TRICHODERMA SPP*, *PSEUDOMONAS SP.* FLUORESCENTES E
FOSFITO**

Trabalho de conclusão de curso de graduação
apresentado à Faculdade de Agronomia e Medicina
Veterinária da Universidade de Brasília, como
requisito parcial para a obtenção do grau de
Engenheiro agrônomo.

Orientador: Ph.D. Luiz Eduardo Bassay Blum

Brasília, DF

2011

FICHA CATALOGRÁFICA

Thais Melissa Macedo de Vasconcelos

“Controle de *Sclerotium rolfsii*, causador da podridão em feijoeiro, com *Trichoderma* spp., *Pseudomonas* sp. e fosfíto”/ Thais Melissa Macedo de Vasconcelos; a. – Brasília 2011 - X p.: il.

Monografia de Graduação (G) – Universidade de Brasília / Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2011.

Cessão de direitos

Nome do Autor: THAIS MELISSA MACEDO DE VASCONCELOS

Título da Monografia de Conclusão de Curso:

“Controle de *Sclerotium rolfsii*, causador de podridão em feijoeiro, com *Trichoderma* spp, *Pseudomonas* sp. Fluorescentes e fosfíto”

Grau: 3º **Ano:** 2011

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta monografia de graduação e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta monografia de graduação pode ser reproduzida sem autorização por escrito do autor.

THAIS MELISSA MACEDO DE VASCONCELOS.

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**“CONTROLE DE *SCLEROTIUM ROLFSII*, CAUSADOR DE PODRIDÃO EM
FEIJOEIRO, COM *TRICHODERMA* SPP, *PSEUDOMONAS* SP. FLUORESCENTES
E FOSFITO”**

THAIS MELISSA MACEDO DE VASCONCELOS

Monografia de graduação apresentada à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, como parte dos requisitos necessários para obtenção de grau de Engenheira agrônoma.

APROVADA EM BRASÍLIA, ___ DE _____ DE 2011 POR:

Dedico este trabalho primeiramente à Deus, à minha família
e aos amigos que sempre me apoiaram.

Agradecimentos

Primeiramente, à Deus, autor e consumidor da minha fé, ao qual devo tudo o que sou e o que tenho.

Aos meus pais Ademir Mendonça de Vasconcelos e Sônaly Macedo de Vasconcelos pelo apoio, incentivo e amor dedicados todos esses anos.

Ao meu noivo e futuro esposo Filipe Paiva Martins do Egito pela compreensão e dedicação. Também à seus pais e à sua família pelos momentos de apoio e demonstrações de cuidado.

À toda minha família, em especial às minhas avós Valdemira Macedo de Andrade e Josefa mendonça de Vasconcelos minhas primas Emily Monike e Cendy Williana pelos momentos de descontração e alegria compartilhados e pelas palavras de conforto nas horas difíceis.

Aos amigos e futuros engenheiros agrônomos Jomary, Elenice, Cássia, Daniela e Douglas pelos conselhos, pelo suporte quando precisei, por compartilhar tanto momentos de tristeza como de alegria, principalmente, por tornarem esta jornada muito mais agradável.

À amiga e engenheira agrônoma Klênia Rodrigues Pacheco pela amizade construída, pela disposição em ensinar, apoio nos momentos difíceis e pelos momentos de descontração.

Ao Centro Nacional de Pesquisa (CNPq) pela bolsa de iniciação científica concedida durante este trabalho.

Ao meu orientador Ph.D. Luiz Eduardo Bassay Blum pelo conhecimento compartilhado e disposição em ensinar.

Aos professores da Faculdade de Agronomia e Veterinária pelo entusiasmo demonstrado em sala de aula e dedicação em ensinar.

Aos técnicos do departamento de fitopatologia da Universidade de Brasília, pela ajuda e pelo apoio demonstrado.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1 Cultura do feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>).....	15
2.2 <i>Sclerotium rolfsii</i> – Podridão do colo.....	16
2.3 Controle biológico.....	17
2.4 Fosfitos – Aspectos gerais.....	18
2.5 <i>Pseudomonas</i> spp. – Biocontrole.....	19
2.6 <i>Trichoderma</i> spp. – Aspectos gerais.....	21
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.1 Obtenção e manutenção do antagonista – <i>Pseudomonas</i> sp.	24
3.2 Obtenção e manutenção do antagonista – <i>Trichoderma</i> sp.	24
3.3 Obtenção e manutenção do patógeno – <i>Sclerotium rolfsii</i>	25
3.4 Condução dos experimentos.....	25
3.4.1 Pareamento de colônias em placa de petri (<i>Trichoderma</i> x <i>S. rolfsii</i>)...26	
3.4.2 <i>Pseudomonas</i> sp. em caixas tipo-gerbox®.....	26
3.4.3 Fosfitos em caixas tipo-gerbox®.....	27
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
4.1 Efeito dos isolados de <i>Trichoderma</i> spp. sobre os isolados de <i>Sclerotium Rolfsii</i> no experimento de pareamento de colônias em placa de petri.....	29
4.2 Efeito da aplicação de suspensão bacteriana de <i>Pseudomonas</i> sp. sobre a germinação dos escleródios em recipientes tipo-gerbox®.....	30
4.3 Efeito da aplicação de fosfitos sobre a germinação dos escleródios em Recipientes tipo-gerbox®.....	32
5. CONCLUSÕES.....	35
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Isolados de <i>Trichoderma</i> spp. testados e seus respectivos locais de coleta.....	44
Tabela 2. Isolados de <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescentes testados e seus locais de coleta.....	45
Tabela 3. Quantidade de esclerócios de <i>Sclerotium rolfsii</i> (193 e 228) germinados ao 14º dia após a aplicação de <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescentes.....	46
Tabela 4. Quantidade de esclerócios de <i>Sclerotium rolfsii</i> (193 e 228) germinados ao 14º dia após a aplicação de fosfitos.....	47
Tabela 5. Efeito de isolados de <i>Trichoderma</i> (TR) na inibição do desenvolvimento micelial de <i>Sclerotium rolfsii</i> (SR) “in vitro”, medido através da escala de Bell (1 a 5) ao 7º dia.....	48

LISTA DE FIGURAS

Fig. 1. <i>Pseudomonas</i> sp. observadas em câmara com comprimento de luz ultravioleta.....	42
Fig. 2. Colônia de <i>Pseudomonas</i> sp. em meio de cultura King B.....	42
Fig. 3. Experimento de pareamento de colônias em placa de petri: <i>Trichoderma</i> spp. x <i>S. rolfsii</i> spp.....	43
Fig. 4. Organização do experimento em recipientes tipo-gerbox®.....	43

RESUMO

O Brasil é um dos principais produtores de feijão do mundo e devido à esse título novas tecnologias de produção e controle de pragas e fitopatógenos vem nascendo para aumentar a produtividade e diminuir as perdas no cultivo, com objetivo de potencializar ainda mais essa produção e aumentar o escoamento. Com essas novas tecnologias o controle biológico vem trazendo força a ideia conservacionista de diminuição da quantidade de resíduos no meio ambiente e nos alimentos. Foram realizados três experimentos, dois deles em recipientes tipo-gerbox® e um deles em placa de petri. No experimento *in vitro* com *Trichoderma* spp. avaliou-se o desempenho de 66 isolados do antagonista sobre 2 isolados do fitopatógenos em pareamento de colônias em placa de petri. No experimento com *Pseudomonas* sp. em gerbox, foram testados 14 isolados de bactérias recuperadas da região rizosférica de plantas do Distrito Federal. Os tratamentos (suspensões bacterianas) foram aplicados na concentração de 10^8 sobre cada um dos esclerócios. Neste experimento com diferentes isolados de *Pseudomonas* sp., observou-se o controle da germinação dos esclerócios pelo isolado obtido de raiz de limão tahiti da Estação experimental de biologia da Universidade de Brasília (Isolado 11). Os tratamentos com fosfitos utilizados no experimento em gerbox foram onze, nas doses indicadas pelos fabricantes. Neste experimento, avaliou-se o controle da germinação dos esclerócios observando-se que dentre os fosfitos que apresentaram algum controle o que melhor controlou diminuindo significativamente a média de esclerócios germinados foi o Fosfito K2 (40% P₂O₅ + 20% K₂O – “Fitofós K Plus”) aplicado na concentração de 1,50 mL/L. No teste com diferentes isolados de *Trichoderma* (66 isolados), mais de 80% se mostraram eficientes em relação aos dois isolados do patógeno, mas dois deles apresentaram melhor desempenho diferenciando-se de todos os outros estatisticamente, o isolado de número 15 (Coletado da região do entorno do DF, em regiões com cultivo de alho) e o isolado 1642 (Pertencente a coleção micológica da Universidade de Brasília). O presente trabalho objetivou a avaliação do potencial de *Pseudomonas* sp. e fosfitos na inibição de germinação de esclerócios de *Sclerotium rolfsii* e dos sintomas da podridão-do-colo, e do *Trichoderma* spp. no crescimento *in vitro* de *S. rolfsii*. Foram testados dois isolados de *S. rolfsii* (193 e 228), comparando a eficiência dos tratamentos para cada um deles.

Palavras-chave: controle biológico, microrganismos antagonistas, fosfitos, *Pseudomonas* sp., *Trichoderma* spp.

ABSTRACT

Keywords:

1. INTRODUÇÃO

A cultura do feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) representa grande importância econômica para o Brasil e mais especificamente para a região centro-oeste, fazendo-se presente em grandes e pequenas propriedades (IBGE, 2010). Apesar da elevada importância o feijão comum tem sua produtividade diminuída devido a ocorrência de doenças. Vários são os agentes patogênicos que podem incidir na cultura e provocar perdas na qualidade e no rendimento dos grãos, em especial fungos, bactérias, nematóides. Dentre estes, o fungo *Sclerotium rolfsii* Sacc., que causa a podridão do colo, ocorre na maioria das áreas de plantio (SANTOS, 1999).

O fungo *Sclerotium rolfsii*, causador da doença conhecida por podridão-do-colo, podridão-do-esclerócio, murcha-do-esclerócios e outras, ocorre em diversas culturas, e na cultura do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*) tem causado danos em grande escala, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais. Este fitopatógeno ocasiona danos pela destruição do córtex das plantas levando à morte. Em condições de alta umidade, sobre as lesões desenvolvem-se um micélio branco de aspecto cotonoso, com a presença das estruturas de resistência, os esclerócios. O fitopatógeno infecta as plantas invadindo o espaço inter e intracelular provocando a formação de manchas escuras com conseqüente podridão do colo da planta, murcha e morte das plantas (BIANCHINI et al., 2005).

A medida de controle da doença, tal como, tratamento químico, caracteriza-se por ser imediata, não permitindo o desenvolvimento da doença no ciclo da cultura, o que contribui apenas para a diminuição do inóculo, além de que muitas vezes, o meio ambiente é afetado pelo excesso da aplicação destes agroquímicos. Assim, estas medidas devem estar associadas a métodos que sejam eficientes no controle do fitopatógeno, sem agredir o ambiente, uma vez que os esclerócios podem permanecer viáveis no solo por até oito anos (BIANCHINI et al., 2005).

A partir dessa visão sobre o tratamento químico iniciaram-se os trabalhos com microrganismos antagonistas visando controlar esses fitopatógenos e impedir ou diminuir seu ataque às culturas. Alguns microrganismos utilizados no biocontrole de *S. rolfsii* são *Trichoderma* spp. e *Pseudomonas* sp., além desses, fosfitos já são comprovados como agentes eficientes de controle alternativo.

Este trabalho teve por objetivo principal testar os isolados de *Pseudomonas* sp. e *Trichoderma* spp. pertencentes as coleções da Universidade de Brasília quanto ao seu

potencial antagônico sobre o *Sclerotium rolfsii*, bem como selecionar os isolados que apresentarem resultados satisfatórios que possam ser utilizados em testes “in vivo” posteriormente. Além disso, objetivou-se também testar o potencial de inibição do fitopatógeno e crescimento micelial do fosfito.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Cultura do Feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)

O feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é pertencente a família Fabaceae ou Leguminosae, ordem Rosales e gênero Phaseolus, esse gênero possui cerca de 55 espécies. Admite-se dois locais de domesticação à essa cultura sendo um andino e um mesoamericano (GONÇALVES, 2008). Seu ciclo varia de 61 a 110 dias, o que o torna uma cultura apropriada para compor desde sistemas agrícolas intensivos irrigados, altamente tecnificados, até aqueles com baixo nível tecnológico, principalmente subsistência (AIDAR, 2007).

Phaseolus vulgaris constitui uma das principais leguminosas cultivadas no Brasil, sendo o nosso país um dos maiores produtores mundiais de feijão. A produção nacional de feijão no ano de 2010 foi de 2 milhões de toneladas superando em 28% a produção do ano de 2009, ou seja, a produção é crescente a cada ano (IBGE, 2004), e nas regiões central e sudeste é uma das principais culturas plantadas na entressafra em sistema irrigado (BARBOSA FILHO, et al., 2001). Dependendo da região, o plantio é feito em três períodos do ano, contribuindo para o abastecimento do mercado interno. Essa leguminosa tem um cultivo bastante variável e é observada em cultivos de subsistência, em áreas limitadas e com pequena quantidade de insumos (BORÉM & CARNEIRO, 1998).

A posição de destaque do Brasil na produção dessa leguminosa diante do cenário mundial está relacionada com o fato desta ser o alimento básico da população e constituindo uma das principais fontes de proteína tanto para a dieta humana quanto animal (GODINHO, et al., 1998). O feijão é consumido em todas as classes sociais sendo a principal fonte proteica, de minerais, vitaminas e fibras para as classes com menor poder aquisitivo. Quando comparada com as proteínas de origem animal, apresenta um custo menor, fornecendo cerca de 20% das necessidades de um adulto para uma série de nutrientes. O amido é o principal carboidrato armazenado constituindo cerca de 60% a 65% da sua composição total. As fibras encontradas em forma de celulose e hemicelulose variam, no feijão cozido, entre 3% e 7%. Essas fibras possuem utilização terapêutica muito importantes para tratar diabetes, hiperglicemia, e outros. É também uma importante fonte de ferro, fósforo, magnésio, manganês e também mesmo que em menor quantidade de zinco, cobre e cálcio.

Alguns fatores afetam o cultivo dessa leguminosa tão importante para a alimentação brasileira entre eles estão acidez do solo (FAGERIA & STONE, 1999; SILVEIRA et al., 2000), características físicas do solo (CASTRO et al., 1987), disponibilidade hídrica (SILVEIRA & STONE, 1998), e claro o ataque de fitopatógenos citando entre os mais limitantes para essa cultura no Brasil o *Sclerotium rolfsii*, causador da podridão do colo.

2.2 *Sclerotium rolfsii* – Podridão do colo

Sclerotium rolfsii é um patógeno facultativo que sobrevive no solo sob forma de escleródios por períodos de um a três anos. Foi registrado pela primeira vez em 1882, por Rolfs em tomate – *Solanum lycopersicum* (PUNJA, 1985). Possui capacidade de competição saprofítica e produz elevado número de escleródios (Cardoso, 1994), tornando difícil seu controle.

Em relação aos isolados deste fungo em meios de cultura observa-se que apresentam variação nas características morfológicas e fisiológicas dependendo da área de origem e do hospedeiro também (PUNJA & GROGAN, 1983). Fatores físicos influem no efeito do crescimento micelial e desenvolvimento esclerodial, entre eles destaca-se a luz, (PUNJA, 1985), ou seja, pode se afirmar que o *S. rolfsii* necessita da luz para produzir escleródios.

A maioria das plantas susceptíveis ao *S. rolfsii* são classificadas como dicotiledôneas porém há também diversas hospedeiras entre as monocotiledôneas (PUNJA, 1985).

Podridão do colo é o nome da doença que esse fitopatógeno causa. Essa doença é muito importante e frequentemente observada em áreas quentes, sub-tropicais e tropicais onde o feijoeiro é cultivado (*P. vulgaris*). Esta foi relatada em vários países como Brasil, Bolívia, Equador, Colômbia, Venezuela, Costa Rica, México, EUA, Austrália, Japão, Ceilão, Cuba, Havá e Filipinas (ABAWI & PASTOR-CORRALES, 1990; WEBER, 1931) e é considerada um fator limitante da produção dessa cultura. É observada em uma grande faixa de plantas cultivadas pertencente às mais diferentes famílias, entre elas estão, Curcubitaceae (melão, melancia e pepino), Graminae (arroz, milho e trigo) e Musaceae (banana), dentre outras (CARDOSO, 1994a). A podridão do colo ocorre em regiões de clima tipicamente tropical e subtropical que apresentem temperatura e umidade do ar elevadas, e em seguida o período seco (BLUM et al., 2003).

Os seus sintomas iniciam-se no colo ao nível do solo, caracterizados por lesões marrom-escuras e aquosas, que vão avançando pela raiz principal e pelo caule, com consequente destruição do córtex e da raiz principal (BLUM et al., 2003). Em condições favoráveis à doença, essa podridão cortical é aos poucos recoberta por um micélio branco no qual se envolvem numerosos escleródios pardos de forma e tamanho de um grão de mostarda. Como consequência desse ataque à planta, a parte aérea também mostra sinais apresentando sinais de amarelecimento das folhas superiores e inferiores, desfolha dos ramos e uma murcha repentina que conduz à seca total (SARTORATO et al., 1987).

2.3 Controle Biológico

Podemos dizer que o conceito de doença em si mudou nas últimas décadas, anteriormente o objetivo era eliminar completamente o patógeno com o uso indiscriminado e contínuo de produtos químicos sem medir as consequências. Este procedimento provocou alterações no ambiente, como a seleção de patógenos resistentes, ocorrência de surtos de doenças consideradas como secundárias, diminuição de microrganismos benéficos, além de causar efeitos deletérios ao homem, aos animais e ao ambiente, através do acúmulo de resíduos no solo na água e nos alimentos (GRIGOLETTI JR et al., 2000).

Há tempos, os pesticidas químicos têm sido usados na agricultura, entretanto seus efeitos colaterais tem estimulado a redução no seu uso e adoção de métodos naturais menos agressivos (GRIGOLETTI JR et al., 2000).

A partir do aumento dessa preocupação, com acúmulo de resíduos prejudiciais e o destino desses resíduos tem se estudado formas de controle alternativos ao controle químico, estão entre eles o controle biológico por *Pseudomonas* sp., *Trichoderma* spp., fosfitos, a aplicação de extratos vegetais (VALARINI et al., 1991); solarização do solo (GHINI et al., 1993); calagem; aplicação de resíduos orgânicos; aração profunda (PUNJA, 1985), e também o uso de cultivares resistentes ou tolerantes ao patógeno (ABAWI & PASTOR - CORRALES, 1990).

De acordo com Baker & Cook (1974), controle biológico é a redução da densidade de inóculo ou das atividades determinantes da doença provocado por um patógeno ou parasita, nos seus estados de atividade ou dormência, por um ou mais organismos, realizado naturalmente ou através da manipulação do ambiente, hospedeiro ou antagonista, ou por

introdução em massa de um ou mais antagonistas. O uso do controle biológico na agricultura vem de tempos remotos, a cinco mil anos antes de Cristo os egípcios já faziam uso dessa prática (COOK & BAKER, 1983).

Os mecanismos de controle biológico podem ocorrer simultaneamente durante todo o processo de vida do antagonista. A capacidade para produzir tais substâncias e o seu efeito pode variar entre espécies e até mesmo entre isolados da mesma espécie (PAPAVIZAS, 1985; RIDOUT et al., 1988). Os agentes biocontroladores exercem efeito benéfico sobre as plantas, por diferentes mecanismos de ação, diretos ou indiretos, tais como competição, antibiose, parasitismo e indução de resistência (RAMAMOORTHY et al., 2001; WHIPPS, 2001).

A identificação de espécies antagonistas a determinados patógenos e sua aplicação em estudos *in vitro* e *in situ* levam ao entendimento dos processos pelo qual o biocontrole se aplica. Apesar disso, o controle biológico nem sempre pode ser atribuído a ação de um simples fator, pois compreende mecanismos complexos. Ao contrário do controle químico o biocontrole não erradica completamente o patógeno de forma imediata, e a sua otimização está direcionada a métodos preventivos aliados a outros fatores ligados ao manejo integrado de doenças (BERNARDES, 2006)

Buscando adaptar o uso do controle biológico para a agricultura, estudos sobre o solo, seus habitantes, suas interações e formas de manejo começaram a ser investigados com rigor científico somente no século XIX. De 20 anos para os tempos de hoje, foram registrados cerca de 40 produtos comerciais de origem biológica nos EUA, pelo investimento de pesquisa nessa área (PAULITZ & BÉLANGER, 2001).

2.4 Fosfitos – Aspectos gerais

O fosfito é um composto derivado de ácido fosforoso (H_2PO_3) e é considerado um fertilizante. O íon fosfito tem aproximadamente 7% a mais de fósforo por molécula do que o fosfato (BLUM & DIANESE, 2010). Os fosfitos tem alta solubilidade em água e em solventes orgânicos e são absorvidos mais rapidamente por raízes e folhas do que os fosfatos (BLUM et al. 2006; BLUM, 2008; NEVES, 2006; RIBEIRO JUNIOR, 2006).

Especificamente em relação ao uso de fosfito há relatos da sua ação tóxica contra determinadas espécies de fungos, e também do seu papel na indução de defesa à planta (ALI et al., 1993; VARADAJAN et al., 2002).

O uso de fosfitos abrange um largo espectro de culturas relatado em seus rótulos, incluindo grãos, olerícolas, ornamentais e fruteiras. Estes têm sido indicados para controle de fungos do gênero *Phytophthora* e outros fungos causadores de podridões do colo, raiz, tronco e frutos. Tais substâncias já tiveram eficiência comprovada contra *Phytophthora* em cultivos de citros (*Citrus* sp) (BOER et al., 1990) e em mamoeiro (DIANESE et al., 2007).

A ação dos fosfitos contra alguns fungos foi relatada várias vezes contra diferentes patógenos das plantas cultivadas não só agindo diretamente, inibindo o desenvolvimento dos fungos, como também agindo indiretamente, induzindo resistência à planta. Os fosfitos agem inibindo o crescimento micelial e a esporulação do patógeno, além de induzir na planta a produção de fitoalexinas fenilalanina-amônia-liase e compostos como a lignina e o etileno que agem no processo de defesa da planta (NEMESTOTHY & GUEST, 1990; PANICKER & GANGADHARAN, 1999).

A utilização de fertilizantes à base de fósforo está se tornando uma alternativa cada vez mais comum na agricultura; não só por induzirem proteção às plantas contra determinadas doenças, mas também por proporcionarem benefícios nutricionais e incrementos na produção (NOJOSA, 2002; NOBRE, 2005).

O uso de fosfitos tem despertado interesse nas pesquisas pois podem ser recomendados como uma alternativa aos fungicidas contribuindo para evitar a resistência. No Brasil várias formulações à base de fosfitos de potássio têm sido comercializadas e comumente utilizadas como fonte de fósforo aplicados via foliar. Entretanto ainda existe uma carência de dados quando falamos de fosfito serem indutores de resistência. Na maioria dos resultados de pesquisa encontramos dados que dizem ocorrer uma ação curativa do íon fosfito contra patógenos e não afirmando os a indução de resistência (NOJOSA et al., 2005)

2.5 *Pseudomonas* sp. – Biocontrole

As *Pseudomonas* sp. são bactérias gram-negativas, e portanto, apresentam alto teor lipídico na parede celular (FERREIRA & SALGADO, 1995), pigmento verde-amarelado e

fluorescente sob comprimento de onda próximo ao ultra-violeta (Figura 1), denominados pioverdina ou pseudobactinas que atuam como sideróforos (BUCHANAN & GIBBONS, 1974; MEYER & ABDALLAH, 1978).

Esse gênero possui características taxonômicas de bastonete reto, raramente curvo; geralmente, possui mais de um flagelo polar e metabolismo estritamente aeróbio (STANIER et al., 1966; FERREIRA & SALGADO, 1995). Dentro desse grupo as espécies mais importantes são *Pseudomonas fluorescens* e *Pseudomonas putida*, geralmente estudadas como promotoras de crescimento em plantas, e *Pseudomonas aeruginosa*, considerada patogênica à animais.

Esses microrganismos podem ser encontrados na água e no solo. Algumas propriedades dessas bactérias permite a adaptação a diferentes habitats e possibilita que ela colonize ambientes tais como solo e rizosfera (STANIER, 1996).

As *Pseudomonas* sp. recebem atenção especial no meio científico, não só pela sua versatilidade metabólica, que lhes confere capacidade de se estabelecer em diversos ambientes, pelo grande potencial de colonização radicular e por serem promissoras na produção de reguladores de crescimento e antibióticos, mas também pela facilidade de cultivo in vitro e de manipulação genética (HASS & KELL, 2003). Entretanto, o desenvolvimento de produtos comerciais a partir de *Pseudomonas* sp. é de difícil realização pelo comportamento instável dessas bactérias (FREITAS & AGUILAR-VILDOSO, 2004).

Embora houvesse muitos relatos sobre a atuação de *Pseudomonas* sp. como agentes de biocontrole, não era possível confirmar se o isolado persistia na rizosfera, já que é um gênero facilmente encontrado nas raízes de plantas não tratadas com microrganismos, tornando-se impossível a diferenciação entre isolados nativos e introduzidos (MARIANO & KLOEPPER, 2000). A partir do emprego de técnicas como uso da resistência a antibiótico e a aplicação da engenharia com o desenvolvimento de linhagens mutantes, conseguiu-se demonstrar o estabelecimento de certas rizobactérias na rizosfera, e simultaneamente, sua capacidade no controle de fitopatógenos (HASS & KEEL, 2003).

Os sideróforos produzidos por essas bactérias, que são compostos orgânicos que atuam na captação de ferro por certos organismos, além de promoverem melhor nutrição, que se converte em maior crescimento vegetal, privavam outros microrganismos nativos de ferro, dificultando seu crescimento e estabelecimento na rizosfera e a possível colonização de patógenos (KLOEPPER et al., 1980). Alguns trabalhos vieram reforçando essa ideia mais

tarde. Isolados do grupo fluorescentes de *Pseudomonas* provenientes da periderme da batata foram capazes de controlar diferentes espécies de patógenos pela produção de sideróforos. O isolado 3551 de *P. fluorescens* reduziu a incidência de “damping-off” causada por *Pythium ultimum* em algodoeiro, quando comparado à mesma espécie mutante, incapaz de produzir sideróforos (LOPPER, 1988).

A produção de compostos antibióticos por *Pseudomonas* sp. *fluorescens* também é uma propriedade capaz de suprimir patógenos. Foi verificado *in situ*, que *P. fluorescens*, obtido de raiz de trigo, controlou *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, pela produção de metabólito secundário (TOMASHOW & WELLER, 1988). Posteriormente, essa evidência foi confirmada, pelo uso de espécies mutantes incapazes de produzir esses metabólitos, quando inoculadas em trigo e na presença do patógeno (TOMASHOW et al., 1990).

O patógeno *Thielaviopsis basicola*, causador da podridão preta das raízes em fumo, foi controlado por *P. fluorescens* devido a produção de composto volátil ácido hidrociânico (HCN) (VOISARD et al., 1989). O HCN também pode promover o crescimento das plantas diretamente, aumentando o desenvolvimento de pelos radiculares (LUZ, 1996). Certas espécies de *Pseudomonas* são produtoras de glucanases e quitinases, enzimas que degradam a parede celular de fungos, constituídas por glucana e quitina (FRIDLENDER et al., 1993). Alguns antibióticos são produzidos por diferentes isolados de *Pseudomonas* sp. (ZAGO et al., 2000).

Essas bactérias colonizam sítios específicos nas raízes, sendo relacionadas com o fenômeno de exclusão de nicho (KLOEPPER et al., 1980).

2.6 *Trichoderma* spp – Aspectos gerais

O fungo agente de controle biológico *Trichoderma* spp. são fungos de ocorrência natural no solo, principalmente nos solos orgânicos podendo viver saprofiticamente ou parasitando outros fungos, estando aí muitas vezes a sua importância no uso em controle biológico. São agrupados na ordem Moniliales, família Moniliaceae. Produzem conídios em abundância a partir de células conidiogênicas originadas de estruturas denominadas conidióforos que são formadas diretamente a partir das hifas vegetativas (MELO & AZEVEDO, 1991).

Em meio de cultura, as culturas de *Trichoderma* crescem em ritmo elevado apresentando inicialmente uma superfície lisa e quase translúcida. Posteriormente a colônia pode se tornar flocosa ou compacta com tufo. Sua coloração verde ou amarelada deve-se a pigmentação dos

conídios e à quantidade dos conídios produzidos. O micélio é formado por hifas hialinas, ramificadas e de paredes lisas. Os conidióforos são muito ramificados com formato cônico ou piramidal, e quase sempre são formados em anéis sazonais, produzindo zonas concêntricas. Os conídios tem formato subglobosos, ovoides, elipsoides ou elípticos cilíndricos, sendo produzidos em série com variação da coloração de verde amarelo ou verde claro (MELO, 1991).

O que se destaca nos *Trichodermas* é a capacidade de se associar às raízes de plantas. A interação é uma simbiose que ocorre por mecanismos similares àqueles de fungos micorrízicos (BENÍTEZ et al., 2004). Essa interação se inicia com a colonização da superfície externa das raízes, e pode tanto ser restrita ou mesmo ocorrer por toda região das raízes, mediante produção de celulasas (AHMAD & BAKER, 1987) e da invasão da primeira ou segunda camada da epiderme pelas hifas, com produção de proteínas que permitem a adesão à superfícies hidrofóbicas (KERSHAW & TALBOT, 1998).

Além de ser utilizado em controle de fitopatógenos os fungos do gênero *Trichoderma* são frequentemente utilizados como promotores de crescimento, ou seja, promove efeitos benéficos na germinação das sementes, na emergência e desenvolvimento de plântulas e também na frutificação. O mecanismo pelo qual esses resultados benéficos são observados é pelo fato de os nutrientes solubilizados se tornarem disponíveis para absorção das raízes reduzindo assim a necessidade de adubação (ALTOMARE ET AL., 1999; KLEIFELD & CHET, 1992).

São vários os mecanismos usados pelos fungos do gênero *Trichoderma* são eles: parasitismo, amensalismo, competição e indução de resistência da planta. O mecanismo pelo qual o fungo é capaz de penetrar às estruturas de outro fundo, nesse caso do patógeno, é denominado parasitismo. Essa penetração é realizada principalmente nas hifas, utilizando enzimas que degradam a parede celular, desta forma ocorre o consumo dos nutrientes que compunham as estruturas do fitopatógeno. Os antagonistas que agem dessa forma são denominados hiperparasitas ou hiperpatógenos (BLUM et al., 2006); Antibióticos são metabólitos produzidos no mecanismo de amensalismo ou antibiose pelos quais o antagonista destrói ou inibe o crescimento do patógeno (DENNIS & WEBSTER, 1971; BENÍTEZ et al., 2004). a competição consiste na interação de dois ou mais organismos concorrendo por alimento, espaço e oxigênio (WELLER, 1988; BENÍTEZ et al., 2004); a indução de resistência à planta ocorre a partir da penetração do *Trichoderma* nas raízes, fazendo assim com que a planta produza uma resposta à invasão, acumulando fitoalexinas, flavonoides,

terpenóides, derivados fenólicos, e outros compostos que não afetem o desempenho do *Trichoderma* (BENÍTEZ et al., 2004).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no laboratório de micologia do instituto de Ciências biológicas da Universidade de Brasília e em casa de vegetação da Estação experimental de biologia da Universidade de Brasília.

3.1 Obtenção e manutenção do Antagonista – *Pseudomonas* sp.

Os isolados utilizados no experimento pertencem a coleção bacteriológica da Universidade de Brasília e foram isoladas de diferentes culturas e também de diferentes locais no Distrito Federal (Tabela 1). Esses isolados são armazenados em diluições em água e para serem utilizados no experimento em frascos plásticos do tipo “Gerbox” os mesmos foram plaqueados em meio B de King (KING et al., 1954) e com alça de Drigalsky riscando-se para estimular o crescimento da colônia bacteriana (figura 2).

Após 48 horas já podia realizar-se a montagem do experimento. Enquanto não eram utilizadas as colônias em placas de petri e meio B de King eram armazenadas em câmaras do tipo BOD com fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 28°C. A concentração de trabalho com *Pseudomonas* spp. era de 10^8 células bacterianas/ml de água destilada e esterilizada (GANESAN & GNANAMANICKAM, 1987), a qual era ajustada em aparelho de espectrofotômetro que mede em absorbância (ABS), onde a concentração de trabalho equivalia ao intervalo entre 0,1 e 0,2 ABS.

3.2 Obtenção e manutenção do Antagonista - *Trichoderma* spp.

Os isolados de *Trichoderma* utilizados nos experimentos são provenientes da coleção micológica da universidade de Brasília e outros provenientes de coletas de solo na Estação experimental de biologia da Universidade de Brasília e regiões do Distrito Federal e Goiás (Tabela 2).

Para isolamento de *Trichoderma* spp. do solo foram feitas coletas de amostras de solo compostas. Foi utilizado o método de diluição em série, inicialmente foram homogeneizados 10 g de solo em 90 ml de água destilada, sendo essa a diluição 10^{-1} . A segunda diluição (10^{-2}) foi realizada transferindo-se 1 ml da primeira diluição para um recipiente com 9 ml de água, e assim sucessivamente até a diluição 10^{-5} . Após essa diluição, da diluição de

concentração 10^{-5} foi pipetado 1 ml e transferido para Placa de petri contendo meio batata-dextrose-ágar (BDA) (GONZÁLES, 1999) com adição de antibiótico. A repicagem das regiões com ocorrência de *Trichoderma* foi feita 96 horas após esse procedimento. As culturas de *Trichoderma* obtidas por esse método foram armazenadas em câmaras de fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 26°C do tipo BOD.

Além do isolamento de *Trichoderma* por esse método descrito anteriormente foram usados nos experimentos colônias fúngicas pertencentes a coleção micológica da Universidade de Brasília. Essas foram transferidas para o meio batata-dextrose-agar em placa de petri para posteriormente serem utilizadas nos tratamentos. Esses isolados foram mantidos em câmara do tipo BOD com temperatura de 26°C e fotoperíodo de 12 horas, sendo repicados a cada 15 ou 20 dias.

3.3 Obtenção e manutenção do patógeno – *Sclerotium rolfsii*

O inóculo, ou seja, os isolados de *Sclerotium rolfsii* foram obtidos a partir da coleção micológica da Universidade de Brasília e da Embrapa e armazenados em câmaras do tipo BOD com foto período de 12 horas e temperatura de 26°C, para estimular a produção de escleródios de acordo com Punja (1985). Nos experimentos realizados foram utilizados dois diferentes isolados para posterior comparação sendo eles nomeados 193 e 228.

Após a produção de escleródios estes eram retirados do meio de cultura com auxílio de pincel e transferidos para outra placa de petri, previamente esterilizada, sem meio de cultura somente com a finalidade de armazenamento.

3.4 Condução dos experimentos

3.4.1 Pareamento de colônias em placa de petri (*Trichoderma* spp. x *S. rolfsii*)

No experimento a ser descrito foi utilizado o método de pareamento de colônias, antagonista e patógeno, em placa de petri utilizando-se meio de cultura batata-dextrose-ágar (MELLO et al. 2007). Em placas de petri previamente autoclavadas e em câmara de fluxo laminar contendo meio BDA solidificado, foram depositados discos (5 mm de diâmetro), ou seja, pedaços das colônias com idade de três dias de cultivo. A disposição em cada placa foi realizada colocando-se simultaneamente em extremidades opostas da placa.

No caso das testemunhas transferiu-se para o centro das placas contendo meio BDA um disco também de 5 mm de diâmetro do fitopatógenos ou do antagonista para acompanhar seu crescimento micelial e o desenvolvimento dos fungos, não sendo pareadas as colônias opostas neste caso.

As placas foram incubadas em ambiente controlado, à 24°C em câmaras tipo BOD, com fotoperíodo de 12 horas. Após sete dias de cultivo, avaliou-se o crescimento micelial dos fungos, conforme escala proposta por Bell et al. (1982). De acordo com essa escala, os isolados foram classificados por meio de notas: nota 1, crescimento de *Trichoderma* sobre o patógeno, ocupando toda a superfície do meio; nota 2 - crescimento de *Trichoderma*, ocupando mais de 2/3 da superfície do meio; nota 3 - crescimento de *Trichoderma*, ocupando aproximadamente metade da superfície do meio; nota 4 - crescimento de *Trichoderma*, ocupando 1/3 da superfície do meio e nota 5 - ausência de crescimento de *Trichoderma*, patógeno ocupando toda a superfície do meio. Os experimentos foram realizados com quatro repetições. O isolado foi considerado como eficiente quando sua nota era menor ou igual a 3,0 (Figura 3).

3.4.2 *Pseudomonas* spp. em caixas tipo-gerbox®

Os experimentos em recipiente tipo-gerbox® com *Pseudomonas* sp. foi realizado em padrão. Nesse tipo de experimento só foi avaliada a interação patógeno-antagonista, pois não foi realizado plantio. Foram feitas quatro repetições de cada um dos tratamentos.

Primeiramente foi realizada a assepsia dos recipientes com álcool 70% e então foram colocados 200 gramas de solo previamente esterilizado e peneirado em cada um dos recipientes tipo-gerbox.

Após enchimento de todos, foi adicionada água destilada na quantidade de 70 ml em cada um deles e então se colocou os escleródios organizados em cinco fileiras de cinco totalizando 25 esclerócios por gerbox, utilizando-se pinça de relojoeiro flambada (Figura 4).

Os tratamentos utilizados foram suspensões bacterianas dos isolados presentes na coleção bacteriológica da Universidade de Brasília, provenientes de diferentes culturas e locais no Distrito Federal. Estes foram aplicados em concentração recomendada, ou seja, mais descrita em literatura. O tratamento foi aplicado sobre cada um dos esclerócios na dose de 20 µl e em concentração de 10⁸. A suspensão bacteriana foi preparada e agitada e quando aplicada era frequentemente agitada para evitar acúmulo de material ao fundo. Na testemunha não foi aplicada soluções, avaliando a germinação dos esclerócios.

As avaliações foram feitas ao sétimo dia e ao décimo-quarto dia e foi avaliada a quantidade de esclerócios germinados.

O delineamento estatístico empregado foi o de experimento inteiramente casualizado com quatro repetições por tratamento. Os dados foram submetido a análise de variância – anova e as médias dos tratamentos foram comparadas através do teste de Tukey (P = 0,05 %). As análises estatísticas dos dados foram realizadas utilizando-se o programa “ASSISTAT Versão 7.6” Beta (2011).

3.4.3 Fosfitos em caixas tipo-gerbox®

Além do experimento em recipiente tipo-gerbox® com *Pseudomonas* sp. foi realizado o experimento em caixas gerbox testando diferentes fosfitos em suas doses recomendadas em seus rótulos comerciais e este foi realizado em padrão. Nesse tipo de experimento só foi avaliada a interação patógeno-antagonista, pois não foi realizado plantio. Foram feitas quatro repetições de cada um dos tratamentos, e os mesmos foram dispostos ao acaso.

Primeiramente foi realizada a assepsia dos recipientes com álcool 70% e então foram colocados 200 gramas de solo previamente esterilizado e peneirado em cada um dos recipientes tipo-gerbox.

Após enchimento de todos, foi adicionada água destilada na quantidade de 70 ml em cada um deles e então se colocou os escleródios organizados em cinco fileiras de cinco, utilizando-se pinça de relojoeiro flambada (Figura 4).

Os tratamentos utilizados foram utilizados 11 fosfitos como dito anteriormente em doses indicadas pelo fabricante [Fosfito Cu (25% P₂O₅ + 5% Cu – “**Fitofós Cu**”) – 2,5 mL/L; Fosfito Zn (40% P₂O₅ + 10% Zn – “**Phytogard Zn**”) – 2,5 mL/L; Fosfito K1 (40% P₂O₅ + 20% K₂O – “**Phytogard K**”) – 2,5 mL/L; Fosfito Mg1 (30% P₂O₅ + 4% Mg – “**Phytogard Mg**”) – 3,00 mL/L; Fosfito Ca1 (30% P₂O₅ + 7% Ca – “**Phytogard Ca**”) – 3,00 mL/L; Fosfito Ca2 (10% P₂O₅ + 6% Ca – “**Fitofós Ca**”) – 4,00 mL/L; Fosfito K2 (40% P₂O₅ + 20% K₂O – “**Fitofós K Plus**”) – 1,50 mL/L; Fosfito Mg2 (40% P₂O₅ + 6% K₂O – “**Fitofós Mg**”) – 1,5 mL/L; Fosfito K3 (20% P₂O₅ + 20% K₂O – “**Nutex Premium 00-20-20**”) – 1,75 mL/L; Fosfito K4 (30% P₂O₅ + 20% K₂O – “**Nutex Premium 00-30-20**”) – 1,75 mL/L; Fosfito K5 (27% P₂O₅ + 27% K₂O – “**Hortifós PK**”) – 3,00 mL/L].

As avaliações foram feitas em relação ao número de esclerócios germinados e foram feitas avaliações no sétimo dia e no décimo-quarto dia.

O delineamento estatístico empregado foi o de experimento inteiramente casualizado com quatro repetições por tratamento. Os dados foram submetido a análise de variância – anova e as médias dos tratamentos foram comparadas através do teste de Tukey ($P = 0,05 \%$). As análises estatísticas dos dados foram realizadas utilizando-se o programa “ASSISTAT Versão 7.6” Beta (2011).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Efeito dos isolados de *Trichoderma* spp. sobre os isolados de *S. rolfsii* em experimento de pareamento de colônias em placa de Petri.

Foram testados 66 isolados de *Trichoderma*, e entre estes testados contra o isolado de *S. rolfsii* 193 de acordo com análise estatística dos dados de avaliação observou-se que 55 desses isolados do antagonista testados apresentaram controle sobre o crescimento do patógeno, ou seja, mostraram-se eficientes. Com relação ao isolado de *S. rolfsii* 228, um número menor de isolados de *Trichoderma* foram eficientes no controle do crescimento do patógeno, somente 48 dos 66 testados apresentaram eficiência, considerando que os isolados eficientes foram aqueles que receberam nota até 3 na escala de Bell (Tabela. 3).

Em comparação às análises dos dados de avaliação correspondente aos dois isolados de *S. rolfsii*, o isolado do antagonista mais eficiente foi o mesmo para os dois isolados do patógeno, confirmando ainda mais seu potencial antagônico. Este foi o isolado de número 15, coletado em solo do Distrito Federal com cultivo de alho, este além de se diferenciar da testemunha diferenciou-se de todos os outros isolados testados. No caso do teste realizado com *S. rolfsii* 228, outro isolado do antagonista apresentou o mesmo resultado do isolado de número 15, o de número 1642, pertencente a coleção micológica da Universidade de Brasília. O isolado 1642 também destacou-se no teste com o *S. rolfsii* 193, ficando com média estatística das notas menor do que 2.

Confirmando os resultados deste trabalho podemos observar a confirmação do potencial antagônico de isolados de *Trichoderma* spp. por diversos trabalhos científicos. Entre esses o primeiro que descreveu um isolado de *Trichoderma* como agente de biocontrole foi publicado em 1932 (WEINDLING, 1932). Desde então, várias espécies do gênero tem sido pesquisadas e desenvolvidas como agentes de biocontrole para diversos patógenos (MELLO et al. 2007).

Podemos citar dados que indicam o potencial antagonista de isolados de *Trichoderma* provenientes de diferentes regiões brasileiras, contra patógenos distintos por LOUSADA et al. (2009). A literatura refere-se a espécies de *Trichoderma* como parasitas de uma ampla gama de fitopatógenos, diferentemente da maioria dos agentes empregados no biocontrole de doenças de plantas que geralmente apresentam certo grau de especialização. Entretanto, o nível de controle pode variar, dependendo do isolado e de sua adaptação às condições bióticas e abióticas, dentro e entre espécies de *Trichoderma* (DENNIS & WEBSTER 1971a, b),

confirmando os dados obtidos nesse trabalho onde entre uma ampla gama de isolados testados muitos apresentaram controle do fitopatógenos mas só dois apresentaram diferença em relação a todos os outros apresentando maior nível de controle.

O potencial antagônico do *Trichoderma* ao *S. rolfsii* foi constatado por NEUNFELD et al. (2007), onde foram testados *in vitro* e *in vivo* e confirmou-se o potencial antagônico sobre o patógeno e no controle do tombamento em soja causado por *S. rolfsii*.

LIMA et al. (2007) constataram que a imersão de bulbilhos de alho em suspensão de esporos de *Trichoderma asperellum* pode ser usado isolado ou associado a fungicidas melhorando o stand de plantas. SILVA (1997), observou que isolados de *T. viride* e *T. harzianum* foram efetivos quanto à inibição micelial do *S. rolfsii* (80 a 100%). O mesmo foi encontrado por ETHUR et al. (2001) onde foram selecionados quatro de 12 isolados de *Trichoderma* spp. que inibiram o crescimento micelial de *S. sclerotiorum* de 95 a 100%.

A efetividade de *Trichoderma* spp. sobre *S. sclerotiorum*, utilizando-se a técnica de confrontação direta, ou seja, pareamento de colônias em placa de petri, foi demonstrada (ZAZZERINI & TOSI, 1985; BARROS et al., 1987; SILVA, 1997; ETHUR et al., 2001), sem, no entanto, haver menção à espécie em estudo. Isolados de *T. virens* previamente selecionados em testes *in vitro* foram efetivos quanto ao tombamento de mudas causado por *S. sclerotiorum*, o qual é um patógeno causador de “damping-off” de pré e pós-emergência em muitas culturas (CARDOSO, 1994).

Observando dados pode se afirmar que o controle biológico, através da introdução de antagonistas, pode ser considerado uma alternativa viável para o controle de fungos de solo como *S. sclerotiorum*, *S. rolfsii* e outros. Isolados de *Trichoderma* spp. selecionados em testes *in vitro* e *in vivo* são considerados excelentes agentes de biocontrole e possuem a vantagem de não afetarem ao ser humano (MELO, 1996) e não causarem impacto negativo no meio ambiente (PATRICIO et al., 2001).

4.2 Efeito da aplicação de suspensão bacteriana de *Pseudomonas* sp. sobre a germinação dos escleródios em recipientes gerbox®

Nesse experimento em que foram testadas diferentes *Pseudomonas* sp. de diferentes culturas e locais no Distrito Federal foram testadas quatorze isolados e entre esses, com relação ao controle ao isolado 193 de *S. rolfsii*, quatro delas se destacaram. Já com relação ao isolado 228 somente três delas se destacaram. Isso pode ser explicado pela diferença de virulência dos isolados.

No teste com o isolado 193 as *Pseudomonas* sp. que apresentaram controle na germinação dos esclerócios foram as bactérias 03, 11, 13, 16 e entre essas a que mais se destacou, ou seja, que apresentou um maior controle foi o isolado 11. Já no teste com o isolado 228 os isolados que demonstraram controle sobre a germinação dos esclerócios foram as bactérias 03, 05 e 11, e duas delas apresentaram um controle mais eficiente se diferenciando dos outros tratamentos em teste, foram elas a 05 e a 11. Analisando-se os resultados sobre os dois isolados de *S. rolfsii* a bactéria de número 11 apresentou maior eficiência no controle tanto do isolado 193 quanto do 228 (Tabela 4).

Em questão da inibição de crescimento de fitopatógenos podemos observar de acordo com LIAO (1989), que isolados de *Pseudomonas putida* inibiram o crescimento de um largo espectro de bactérias fitopatogênicas em meio de cultura, isso pode ser comparado aos resultados deste trabalho pois não houve a relação com a planta somente agente de biocontrole-patógeno.

A produção de compostos antibióticos por *Pseudomonas* sp. fluorescentes também é uma propriedade capaz de suprimir patógenos. A ação *in situ* de um isolado de *Pseudomonas fluorescens*, obtido de raízes de trigo, controlou *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, pela produção de metabólito secundário fenazina-1-ácido-carboxílico (PCA), também foi verificada. Posteriormente, isso foi confirmado por espécies mutantes incapazes de produzir PCA, quando inoculadas em trigo na presença do patógeno (TOMASHOW et al., 1990).

VAN PEER et al. (1991) observaram que *Pseudomonas fluorescens*, isolado WCS417, diminuiu o sintoma provocado pela murcha de fusarium do cravo, quando o patógeno *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* foi aplicado no caule das plantas.

O potencial antagônico de isolados de *Pseudomonas* fluorescentes contra *Streptomyces scabies*, agente causal da sarna comum da batata, foi testado em condições de campo, acarretando aumento de 17,17% no índice de emergência, pelo isolado C-21 (MARIANO et al, 1992). Esses valores comprovam o potencial de indução de crescimento e controle de fitopatógenos dessas bactérias.

VOISARD et al. (1989) observaram a supressão do patógeno *Thielaviopsis basicola*, causador da podridão preta das raízes em fumo, por *P. fluorescens* CHAO devido a produção do composto volátil ácido hidrocianico (HCN).

Em se tratando de estimular o crescimento das plantas, LUZ (1996) relata que o HCN também pode promover o crescimento das plantas diretamente, aumentando o desenvolvimento de pelos radiculares.

4.3 Efeito da aplicação de fosfitos sobre a germinação dos escleródios em recipientes gerbox®

Nesse experimento em recipiente gerbox, onde foram testados onze diferentes fosfitos estes foram testados sobre os dois isolados de *Sclerotium rolfsii*, 193 e 228, e em se tratando do efeito sobre o isolado 193 no décimo-quarto dia de avaliação, seis destes onze fosfitos testados apresentaram uma redução na germinação de esclerócios em relação à testemunha. Entre esses seis fosfitos que melhor controlaram este percentual de germinação, um deles apresentou maior controle e apresentou diferença em relação à todos os tratamentos aplicados, inclusive à testemunha. Os fosfitos, Fosfito Mg1 (30% P₂O₅ + 4% Mg – “**Phytogard Mg**”), Fosfito K1 (40% P₂O₅ + 20% K₂O – “**Phytogard K**”), Fosfito Cu (25% P₂O₅ + 5% Cu – “**Fitofós Cu**”), Fosfito K2 (40% P₂O₅ + 20% K₂O – “**Fitofós K Plus**”), Fosfito K5 (27% P₂O + 27% K₂O – “**Hortifós PK**”) e Fosfito Ca1 (30% P₂O₅ + 7% Ca – “**Phytogard Ca**”) foram os que diferiram da testemunha estatisticamente e o Fosfito Ca1 (30% P₂O₅ + 7% Ca – “**Phytogard Ca**”) foi o que diferiu da testemunha e de todos os outros tratamentos aplicados. No isolado 228, dos onze fosfitos testados nove deles demonstraram controle da germinação dos esclerócios por apresentarem diferença estatística em relação à testemunha e um deles apresentou maior controle pois além de diferença em relação a testemunha apresentou também em relação aos outros tratamentos destacados. Foram estes nove, fosfito K4 (30% P₂O₅ + 20% K₂O – “**Nutex Premium 00-30-20**”), Fosfito Ca2 (10% P₂O₅ + 6% Ca – “**Fitofós Ca**”), Fosfito K1 (40% P₂O₅ + 20% K₂O – “**Phytogard K**”), Fosfito K3 (20% P₂O₅ + 20% K₂O – “**Nutex Premium 00-20-20**”), Fosfito Cu (25% P₂O₅ + 5% Cu – “**Fitofós Cu**”), Fosfito Ca1 (30% P₂O₅ + 7% Ca – “**Phytogard Ca**”), Fosfito K5 (27% P₂O + 27% K₂O – “**Hortifós PK**”) e Fosfito K2 (40% P₂O₅ + 20% K₂O – “**Fitofós K Plus**”), este último foi o que apresentou o maior controle pois diferiu-se de todos os tratamentos (Tabela. 5)

Assim como no presente trabalho ANDREU & CALDIZ (2006), foi avaliado o desempenho do fosfitos de K e do fosfito de Ca, mas aplicado em batata-semente (*Solanum tuberosum*) logo após o corte e antes do plantio e sua aplicação na folhagem após a emergência das plântulas sobre o desenvolvimento da doença em duas cultivares diferentes, ocasionadas por *Phytophthora infestans* de Bary e *Fusarium solani* Sacc. Os autores após a análise dos dados provenientes de avaliações concluíram que houve diferença significativa com relação às cultivares diante da aplicação dos fosfitos no que diz respeito à proteção contra doenças avaliadas. Os tubérculos tratados com fosfitos de K e Ca, onde observou-se o desenvolvimento de lesões causadas por *P. infestans* apresentaram diminuição dos diâmetro

das colônias do patógeno e aumento na produção de fitoalexinas, comprovando as propriedades de indução de resistência e fungistáticas desses fosfitos que pode culminar com a redução da quantidade da doença, ou ao não desenvolvimento do patógeno.

Com relação à germinação das estruturas fúngicas, RIBEIRO JÚNIOR et al. (2006) testou o efeito de doses de de fosfito de potássio (Hortifós PK – 27% P₂O₅ + 27% K₂O, da Agrichem do Brasil Ltda) na germinação de conídios de *V. dahliae*.

Além desses trabalhos apresentados houve um realizado com *Phoma costarricensis* em cafeeiro [*Coffea arabica* (L.)] por NOJOSA (2003) mostraram que o fosfito de potássio na concentração de 10 mL/L inibiu o crescimento micelial em 62%, reduziu o comprimento do tubo germinativo em 32,6%, enquanto que o fosetil-Al inibiu 100% do crescimento micelial nas doses de 2 a 4 g/L. O fosfito fosetil-Al não foi testado neste trabalho mas segundo FEEN & COFFEY (1989), o efeito do fosfito de potássio seria tão potente quanto ao fosetil-Al, pois possui modo de ação similar ao mesmo.

Trabalhos relatando o uso de fosfitos para tratamentos pós-colheita são muito comuns também, entre eles está o realizado por MOREIRA et al. (2002), avaliando o efeito de microrganismos antagônicos, fungicidas e fosfitos (CaB e K) sobre *Monilia fructicola* Honey em pêsegos [*Prunus pérsica* (L.)], neste foi observado que o fosfito K proporcionou um controle superior a 85% de lesões latentes. BLUM et al. (2007) demonstraram que tratamento pós-colheita com frutos de maçã com doses crescente de fosfito de K e fosfito CaB reduziram a incidência e o diâmetro das lesões ocasionadas por *Penicillium expansum*, entretanto o fosfito de K apresentou maior eficiência no controle do mofo azul assim como neste trabalho, observamos uma diferença do fosfito de K em relação à testemunha e o fosfito de Ca em relação à testemunha e a todos os outros tratamentos. Em relação ao efeito da aplicação de fosfitos em produção de grãos JACCOUD FILHO e MONFERDINI (2006) avaliaram a eficiência de Phytogard Zn e de Stimulate no controle da ferrugem-asiática-da-soja em experimentos de campo. Nas avaliações realizadas foi observado que todos os fosfitos utilizados apresentaram menor nível da doença em relação à testemunha, além de ganhos na produtividade e maior peso de grãos, em todas as doses e épocas de avaliações, embora esse fosfito seja menos utilizado e os resultados referentes a seu uso neste trabalho não terem sido significativamente diferente da testemunha, ou seja, não ter apresentado um controle eficiente da germinação dos esclerócios. Além do trabalho descrito anteriormente, NEVES (2006) também realizou experimentos de campo para avaliar a eficiência de fosfitos aplicados isoladamente ou em conjunto com fungicidas tradicionais, no controle da ferrugem asiática. No primeiro experimento a primeira aplicação foi no estágio V8 e a segunda aplicação no

estágio R2, e no segundo experimento, a primeira aplicação foi no estágio R1 e a segunda no R5. Verificou-se a partir destes testes um aumento na produtividade em todos os tratamentos quando comparados à testemunha, no entanto somente os com fungicidas tradicionais reduziram a severidade da doença.

Em contraposição, SONEGO et al. (2003), ao avaliarem o uso de fosfitos no controle do míldio (*Plasmopara viticola* Berk & M.A. Curtis) da videira [*Vitis vinífera* (L.)], observaram que o fosfito de Zn ('Fitofós Zn', que possui em sua fórmula o elemento Mn) não apresentou bom controle da doença quando aplicados nos cachos de videira, confirmando os resultados obtidos onde o fosfito de Zn ("Phytogard Zn" – 40% P₂O₅ + 10% Zn) não apresentou controle eficiente na germinação dos esclerócios.

5. CONCLUSÕES

- No teste *in vitro* com diferentes isolados de *Trichoderma* spp., mais de 80% dos isolados testados apresentaram eficiência no controle do patógeno, com relação a inibição do crescimento micelial do *S. rolfsii*.
- Dois isolados se destacaram no teste “*in vitro*” com *Trichoderma* spp., se diferenciando estatisticamente de todos os outros isolado apresentando um controle diferenciado e melhor, foram eles o isolado de número 15 (Obtido a partir de solo do DF com cultivo de alho) e o 1642 (Pertencente a coleção micológica da Universidade de Brasília).
- O isolado de *Pseudomonas* sp. mais eficiente, quanto a redução da germinação dos escleródios do patógeno foi o de número 11 obtida a partir de coleta de solo no DF em com cultivo de limão tahiti.
- Os fosfitos que apresentaram maior eficiência no controle da germinação dos escleródios foi o Fitofós K plus nos testes com o isolado 228 de *S. rolfsii* e o Phytogard Ca nos testes com o isolado 193 de *S. rolfsii*.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABAWI, G.S. & PASTOR-CORRALES, M.A. Root rots of beans in Latin America and Africa: diagnoses, research methodologies and management strategies. Colômbia. CIAT. 1990.
- AHMAD, J.S. & BAKER, R. Competitive saprophytic Ability and Celullolytic Activit of Rhizosphere-Compnete Mutants of *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology*, v. 77, p.358, 1987.
- AIDAR, H. Cultivo do feijoeiro comum: Características da cultura. <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/CultivodoFeijoeiro/index.htm>, (11 junho 2007).
- ALI, M.K.; LEPOIVRE, P.; SEMAL, J. Scoparone eliciting activity released by phosphonic acid treatment of *Phytophthora cytophthora* mycelia mimics the incompatible response of phosphonic acid-treated citrus leaves inoculated with this fungus. *Plant Science* v. 93, p. 55-61, 1993.
- ALTOMARE, C. et al. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant growth promoting and biocontrole fungus *Trichoderma harzianum* Rifai. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 65, n. 7, p.2926-2933, 1999.
- ANDREU, A.B.; CALDIZ, D.O. El uso de fosfitos y su contribución al control de tizón tardío y *Fusarium* spp. *Del campo a la fabrica*, 6: 3-6. 2006.
- BARROS, I.B.I., COSTA, C.P. & MELO, I.S. Avaliação do potencial antagônico de *Trichoderma* sp. em relação a *Sclerotinia minor*. *Anais, 3ª Reunião Anual sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas*, São Paulo, SP. 1987.
- BARBOSA FILHO, M.P.; FAGERIA, N.K.; SILVA, O.F. da. **Aplicação de nitrogênio em cobertura no feijoeiro irrigado**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa-CNPAF, 2001. 8p. (Circular Técnica, 49).
- BAKER, F. K.; COOK, R. J.; *Biological control of plant pathogens*. San Francisco, Freeman and Company, 1974. 433p.
- BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A.M.; LIMÓN, M.C. & CODÓN, A.C. Biocontrol, Mechanisms of *Trichoderma* Strains. *International Microbiology*, v. 7, p. 249-260, 2004.
- BELL, D.K., WELLS, H.D., MARKHAM, C.R. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology*, v.72, n.4, p.379-382, 1982.
- BERNARDES, F. S. Rizobactéria na indução de resistência sistêmica em cultivos hidropônicos. Instituto agrônômico. Curso de pós-graduação em agricultura tropical e subtropical. Abril, 2006.
- BIANCHINI, A.; MARINGONI, A.C.; CARNEIRO, S.M.T.P.G. Doenças do feijoeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; FILHO, A.B.; CAMARGO, L.E.A. (Eds.)

Manual de fitopatologia – doenças de plantas cultivadas. São Paulo. v.2, 4a ed., cap.37, p.333-349. **Agrônômica Ceres**. 2005.

BLUM, L.E.B.; CARES, J.E. & UESUGHI, C.H. Fitopatologia: o estudo das doenças de plantas. 1 edição. (Ed) Brasília Otimismo. 2006. 265p.

BLUM, L.E.B.; DIANESE, A.C. O uso de fosfitos no manejo de doenças fúngicas em fruteiras e soja. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa Cerrados. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. Documentos 228. Abril, 2010.

BLUM, L.E.B.; GUIMARÃES, L.S.; PEREIRA, I.M.; GILIOLI, J.L.; SANTOS, P.S.; Redução de ferrugem asiática da soja por aplicações de fosfitos e fungicidas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 39, 2006, Salvador. Fitopatologia Brasileira (suplemento), v. 31, p. 377, 2006.

BLUM, L.E.B. Fosfitos e fungicidas podem incrementar seu lucro. **Campo e negócios**, v. 64, p. 12-18, 2008.

BLUM, L. E. B.; AMARANTE, C. V. T.; ARIOLI, C. J.; GUIMARÃES, L. S.; DEZANET, A.; HACK NETO, P.; SCHEIDT, F. R. Reação de genótipos de *Phaseolus vulgaris* à podridão do colo e ao oídio. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 1, p. 96-100, 2003.

BLUM, L.E.B; AMARANTE, C.V.T do; DEZANET, A.; LIMA, E.B de; HACK NETO, P.; ÁVILA, R.D.; SIEGA, V. Fosfitos aplicados em pós-colheita reduzem o mofo azul em maçãs “Fuji” e “Gala”. Revista Brasileira de Fruticultura, 29:265-68. 2006.

BOER, R.F. et al. Phosphorus acid treatments control *Phytophthora* diseases in Australia. **EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization) Bulletin**, Paris, v.20, n.1, p.193-197, 1990.

BORÉM, A. & CARNEIRO, J.E.S. A cultura. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T.J.; 1998

BUCHANAN, R.E.; GIBBONS, N.E. Gram-negative aerobics rods and cocci. In: BUCHANAN, R.E.; GIBBONS, N.E. (Eds). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Baltimore, 1268p, 1974.

COOK, R.J.; BAKER, K.F. **The nature and practice of biological control of plant pathogens**. St. Paul: The American Phytopathology Society, 1983. 539p.

CARDOSO, J.E. Podridão do colo. In: Sartorato, A. & Rava, C.A. (Eds.). Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle. Brasília. EMBRAPA-SPI. 1994. pp.165-172.

CASTRO, O.M.; VIEIRA, S.R.; MARIA, I.C. Sistema de preparo do solo e disponibilidade de água. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE ÁGUA NA AGRICULTURA, 1987, Campinas. **Anais**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p.27-51.

DAVIS, A.J.; SAY, M.; SNOW, A.J.; GRANT, B.R. Sensitivity of *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense to phosphonate. *Plant Pathology*, Oxford, v. 43, n. 1, p. 200-205, 1994.

DENNIS, C. & WEBSTER, J. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. I. Production of non-volatile antibiotics. *Transactions of the British Mycological Society*, 57:25-39, 1971.

- DIANESE, A.C. et al. Redução da podridão do pé (*Phytophthora palmivora*) do mamoeiro (*Carica papaya*) por fosfitos. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, n.2, p.166, 2007.
- ETHUR, L.Z., CEMBRANEL, C.Z. & SILVA, A.C.F. Seleção de *Trichoderma* spp. visando o controle de *Sclerotinia sclerotiorum*, *in vitro*. *Ciência Rural* 31:885-887. 2001.
- FAGERIA, N. K.; STONE, L. F. Manejo da acidez dos solos de cerrado e de várzea do Brasil. Santo Antônio de Goiás: Embrapa-CNPAP, 1999. 42 p. (Documentos, 92).
- FENN, M.E.; COFFEY, M.D. Quantification of phosphonate and ethyl phosphonate in tobacco and tomato tissues and significance for the mode of action of two phosphonate fungicides. *Phytopathology*, 79:76-82. 1989.
- FERREIRA, L.P.; SALGADO, C.L.; Bactérias. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. (Eds). Manual de fitopatologia. Volume 1: Princípios e conceitos. São Paulo, SP. P. 97-131, 1995.
- FREITAS, S.S.; AGUILAR-VILDOSO, C.I. Rizobactérias e promoção do crescimento de plantas cítricas. *Revista brasileira de ciência do solo*, v. 28, n. 6, p. 987-994, 2004.
- FRIDLENDER, M.; INBAR, J.; CHET, I. Biological control of soilborne plant pathogens by a β -1,3 glucanase producing *Pseudomonas cepacia*. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 25, p. 1211-1221, 1993.
- FREITAS, S. S.; AGUILAR-VILDOSO, C. I.; Rizobactérias e promoção do crescimento de plantas cítricas. *Revista Brasileira de ciência do solo*, v. 28, n. 6, p. 987-994, 2004.
- GANESAN, P.; GNANAMANICKAM, S. S. Biological control of *Sclerotium rolfsii* sacc. in peanut by inoculation with *Pseudomonas fluorescens*. *Soil Biology and Biochemistry*. Volume 19, Issue 1, 1987, Pages 35-38.
- GONÇALVES, João Guilherme Ribeiro. **Estabilidade fenotípica do feijoeiro com o uso de genótipos suplementares em análise AMMI**. 2008. 103f. Dissertação (Mestrado em Genética, Melhoramento Vegetal e Biotecnologia) – Pós Graduação – IAC
- GONZÁLES, M. Metodología para la manipulación y cultivo *in vitro* de *Mycosphaerella fijiensis*. Manejo integrado de plagas. 53i:iv, 1999.
- GHINI, R., BETTIOL, W. & CALDARI JUNIOR, P. Solarização do solo para o controle de *Sclerotium rolfsii* em feijoeiro. *Summa Phytopathology* 19:39. 1993. (Resumo).
- GRIGOLETTI JR, A.; SANTOS, A.F.; AUER, C. G.; Perspectivas do uso de controle biológico contra doenças florestais. *Floresta* 30(1/2): 155-165, 2000.
- HASS, D.; KEEL, C. Regulation of antibiotic production in root-colonizing *Pseudomonas* spp. and relevance for biological control of plant disease. *Annual review of Phytopathology*, v. 41, p. 117-153, 2003.
- IBGE (2004). Previsão e acompanhamento de safra nos estados de São Paulo, Paraná e Santa Catarina e no Distrito Federal. Rio de Janeiro, 2004.
- IBGE. 2010 [Online]. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Homepage: <http://www.sidra.ibge.gov.br>.

JACCOUD FILHO, D.S.; MONFREDINI, M.A. Avaliação da eficiência de Stimulate e Phytogard Zn com indutores de resistência de plantas a ferrugem da soja (*Phakopsora pachyrhizi*) na cultura da soja (*Glicine max* L.). <http://www.planetasoja.com/trabajos/trabajos800.php?>. Setembro de 2008.

KERSHAW, M.J. & TALBOT, N.J. Hydrophobins and repellants: Proterins with Fundamental Roles in Fungal Morphogenesis. *Fungal genetics Biology*, v. 23, p. 8-33. 1998.

KING, E. O.; WARD, M. K.; BANEY, D. E. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *Journal laboratory of clinical medic*, v. 44, p-301-307, 1954.

KLEIFELD, O. & CHET, I. *Trichoderma*: plant interaction and its effects on increased growth response. *Plant Soil*, v. 144, n. 2, p. 267-272. 1992.

KLOEPPER, J.W., SCHROTH, M.N., MILLER, T.D. Effects of rhizosphere colonization by plant growth-promoting rhizobacteria on potato plant development and yield. **Phytopatology**, St. Paul, v. 70, n. 11, p. 1078-1082, 1980.

LOPPER, J.E. Role of fluorescent siderophore production in biological control of *pythium ultimum* by a *Pseudomonas fluorescens* strain. *Phytopathology*, v. 78, p. 166-172, 1988.

LUZ, W.C. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e de bioproteção. Revisão Anual de Patologia de plantas, v. 04, p. 01-49, 1996.

LIAO, C.H. Antagonism of *Pseudomonas putida* strain PP22 to phytopathogenic bacteria and its potential use as a biocontrol agent. **Plant Disease**, v.73, p.223-226, 1989.

LIMA, E.A.; CHAGAS, B.L.; SILVA, V.P.; POMELLA, A.W.V. Efeito de *Trichoderma asperellum* no cultivo do alho, associado ou não com tratamento químico. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.32, p.319, 2007.

MARIANO, R.L.R.; KLOEPPER, J.W. Método alternativo de biocontrole: Resistência sistêmica induzida por rizobactérias. Revisão anual de patologia de plantas, v. 8, p. 121-137, 2000.

McKAY, A.G.; FLOYD, R.M.; BOYD, C.J. Phosphonic acid compounds controls downy mildew (*Peronospora parasitica*) in cauliflower curds. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, Collingwood, v. 32, n. 1, p. 127- 129, 1992.

MEYER, J.M.; ABDALLAH, M.A. The fluorescent pigment of *Pseudomonas fluorescens*: biosynthesis, purification and physicochemical properties. *Journal of General Microbiology*, v. 107, p. 319-328, 1978.

MELO, I.S. de; AZEVEDO, J.L. de. Controle biológico. Jaguariúna: EMBRAPA, 1998.

MELO, I.S. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. Revisão Anual de Patógenos de Plantas 4:261-295. 1996.

MELLO, S.C.M., ÁVILA, Z.R., BRAÚNA, L.M., PÁDUA, R.R. & GOMES, D. 2007. Cepas de *Trichoderma* para el control biológico de *Sclerotium rolfsii* Sacc. *Fitosanidad* 11(1):3-9.

MOREIRA, L. M.; MAY-DE-MIO, L.L.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M. Fungos antagonistas e efeitos de produtos químicos no controle da podridão parda em pomar de pessegueiro. *Summa phytopathol.*, Botucatu, v.34, n. 3, p 272-276, 2008.

NEVES, J.S. Influência de aplicação de fosfito de potássio na severidade da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) na soja (*Glycine max*). 2006. 62 f. Universidade de Brasília. Faculdade de agronomia e veterinária. Brasília, DF.

NEMESTOTHY, G.S.; GUEST, D.I. Phytoalexin accumulation, phenylalanine ammonia lyase activity and ethylene biosynthesis in fosetyl-Al treated resistant and susceptible tobacco cultivars infected with *Phytophthora nicotianae* var. *nicotianae*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.37, n.3, p.207-219, 1990.

NOBRE, S.D.N. Reação de genótipos e efeito de produtos químicos no controle de oídio (*Erysiphe diffusa*) da soja. 2005. 84 f. Universidade de Brasília. Departamento de fitopatologia. Dissertação de mestrado em fitopatologia. 2005.

NOJOSA, GUTEMBERG, B. de A. Uso de silicatos e fosfitos na indução de resistência. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA DE PLANTAS CONTRA FITOPATÓGENOS, 1, 2002, São Pedro, SP. Anais... São Paulo: USP, p. 24-26, 2002.

NOJOSA, G.B.A. Efeito de indutores na resistência de *Coffea arabica* L. à *Hemileia vastatrix* Berk & Br. E *Phoma costarricensis* Echandi. Tese (Doutorado em fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras. 102p. 2003.

PAPAVIZAS, G.C. (1985). *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology and potencial for biocontrol. *Annual Review of Phytopathology*, 23: 23-54.

PATRICIO, F.R.A., KIMATI, H. & BARROS, B.C. Seleção de isolados de *Trichoderma* spp. antagonísticos a *Pythium aphanidermatum* e *Rhizoctonia solani*. *Summa Phytopathologica* 27: 223-229. 2001.

PAULITZ, T. C.; BELANGER, R. R. Biological control in greenhouse systems. *Annual review of phytopathology*, v. 39, p. 103-133, 2001.

PANICKER, S.; GANGADHARAN, K. Controlling downy mildew of maize caused by *Peronosclerospora sorghi* by foliar sprays of phosphonic acid compounds. **Crop Protection**, v.18, n.2, p.115-118, 1999.

PUNJA, Z.K. The biology, ecology and control of *Sclerotium rolfsii*. *Annual Review of Phytopathology* 23:97-127. 1985.

PUNJA, Z.K. & GROGAN, R.G. Basidiocarp induction, nuclear condition, variability, and heterokarion incompatibility in *Athelia* (*Sclerotium rolfsii*). *Phytopathology* 73:1273-1278. 1983.

PUNJA, Z. K. Ecology and infection behavior of *Sclerotium rolfsii* Sacc. In: LYDA, S. D.; KENERLEY, C.M. Biology of sclerotial-forming fungi. Texas: The Texas Agricultural Experiment Station, 1993. p. 131-145.

RAMAMOORTHY, V. et al. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. *Crop Protection*, v.20, p.1-11, 2001.

RIDOUT, C.J.; COLEY-SMITH, J.R.; LYNCH, J.M. (1988). Fractionation of extracellular enzymes from mycoparasitic strain of *Trichoderma harzianum*. *Enzyme and Microbial Technology*, 10: 180-187.

RIBEIRO JUNIOR, P.M.; RESENDE, M.L.V de, PEREIRA JUNIOR, P.M.; PEREIRA, R.B.; CAVALCANTI, F.R.; PÁDUA, M.A. de; Fosfito de potássio na indução de resistência a *Verticillium dahliae* Kleb., em mudas de cacaueteiro (*Theobroma cacao* L.). *Ciências agrotécnicas*, 30:629-636. 2006.

SILVA, A.C.F. Uso de radiação gama para obtenção de mutantes de *Trichoderma harzianum* Rifai. e *T. viride* Pers. Fr. com capacidade melhorada no controle de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. (Tese de Doutorado) São Paulo. Universidade de São Paulo. 1997.

SILVEIRA, P.M.; STONE, L.F. Irrigação. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T.J.; BORÉM, A. (Ed.). **Feijão**: aspectos gerais e cultura no Estado de Minas. Viçosa, MG: UFV, 1998. p.181-220.

SONEGO, A.R.; GARRIDO, L. da R.; CZERMANSKI, A.B.C. Avaliação de fosfitos no controle do míldio da videira. *Boletim de pesquisa e desenvolvimento*, n. 11. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 18p.

SPEISER, B.; BERNER, A.; HASELI, A.; TAMM, L. Control of downy mildew of grapevine with potassium phosphonate: effectivity and phosphonate residues in wine. *Biological Agriculture and Horticulture*, Bicester, v. 17, n. 4, p. 305- 312, 1999.

SANTOS, F.M.L. 1999. Infecções simples e múltiplas de vírus em caupi no Ceará. *Fitopatologia Brasileira*, 24: 518-522.

STANIER, R. Y. Grupos importantes de eubactérias unicelulares. In: *Mundo dos micróbios*. Cap. 18, 1969.

STANIER, R.Y.; PALLERONI, N.J.; DOUDOROFF, M. The aerobic pseudomonads: a taxonomic study. *Journal of General Microbiology*, v. 43, n. 2, p. 159-271. 1996.

TOMASHOW, L.S.; WELLER, D.M.; BONSALE, R.F.; PIERSON, L.S. Production of the antibiotic phenazine-1-carboxylic acid by fluorescent *Pseudomonas* species in the rizosphere of the wheat. *Applied environmental microbiology*, v. 56, p. 908-912, 1990.

TOMASHOW, L.S.; WELLER, D.M. Role of a phenazine antibiotic from *Pseudomonas fluorescens* in biological control of *Gaeumannomyces graminis* var. tritici. *Journal of Bacteriology*, v. 170, p. 3499-3508, 1988.

VALARINI, P.J., MELO, I.S., FRIGHETTO, R.T.S. & FERRACINI, V.L. Avaliação de extratos vegetais no controle de fitopatógenos. Seminário sobre Pragas e Doenças do Feijoeiro. Campinas (SP). Instituto Biológico de São Paulo. 1991. (Resumo)

VAN PEER, R.; NIEMAN, G.J.; SCHIPPERS, B. Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of fusarium wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. Strain WCS417r. *Phytopathology*, v. 81, p. 728-734, 1991.

VARADAJAN, D.K., KARTHIKEYAN, A.S., MATÍLDA, P.D., RAGHOTHAMA, K.G. Phosphite, na analog of phosphate, suppresses the coordinate expression of genes under phosphate starvation. *Plant physiology*, v. 129, p. 1232-1240, 2002

VOISARD, C.; KEEL, C.; HAAS, D.; DEFAGO, G. Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* helps suppress black root-rot of tobacco under gnotobiotic conditions. *Embo Journal*, v. 8, n. 2, p.351-358, 1989.

WEBER, G.F. Blight of carrots caused by *Sclerotium rolfsii*, with geographic distribution and host range of the fungus. *Phytopathology* 21:1129-1140. 1931.

WEINDLING, R. 1932. *Trichoderma lignorum* as a parasite of others soil fungi. *Phytopathology* 22(8):837-845.

WELLER, D.M. Biological control of soil plant pathogens in the rizosphere with bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, v. 26, p.379-400, 1988.

WILD, B.L.; WILSON, C.L.; WINLEY, E.L. Apple host defense reactions as affected by cycloheximide, phosphonate, and citrus green mould, *Penicillium digitatum*. *ACIAR. Proceedings Series*, Collingwood, v. 80, p. 155-161, 1998.

WHIPPS, J.M. Roots and their environment: microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. **Journal of Experimental Botany**, v.52, p.487-511, 2001.

ZAGO, V.C.P.; DE-POLLI, H.; RUMJANEK, N.G. *Pseudomonas* spp. fluorescentes – Bactérias promotoras de crescimento de plantas e biocontroladores de fitopatógenos em sistemas de produção agrícola. Embrapa Agrobiologia. Seropédica. 32p. (Documentos, 127). 2000.

ZAZZERINI, A. & TOSI, L. Antagonistic activity of fungi isolated from sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Pathology* 34:415- 421. 1985.

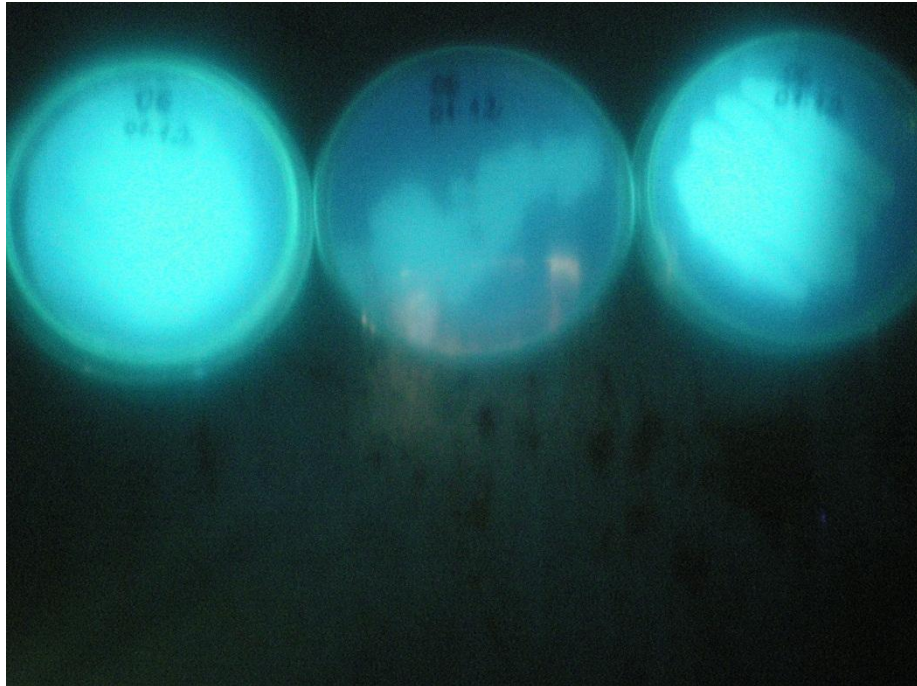


Figura 1. *Pseudomonas* sp. observadas em luz de comprimento de onda próximo ao ultravioleta.

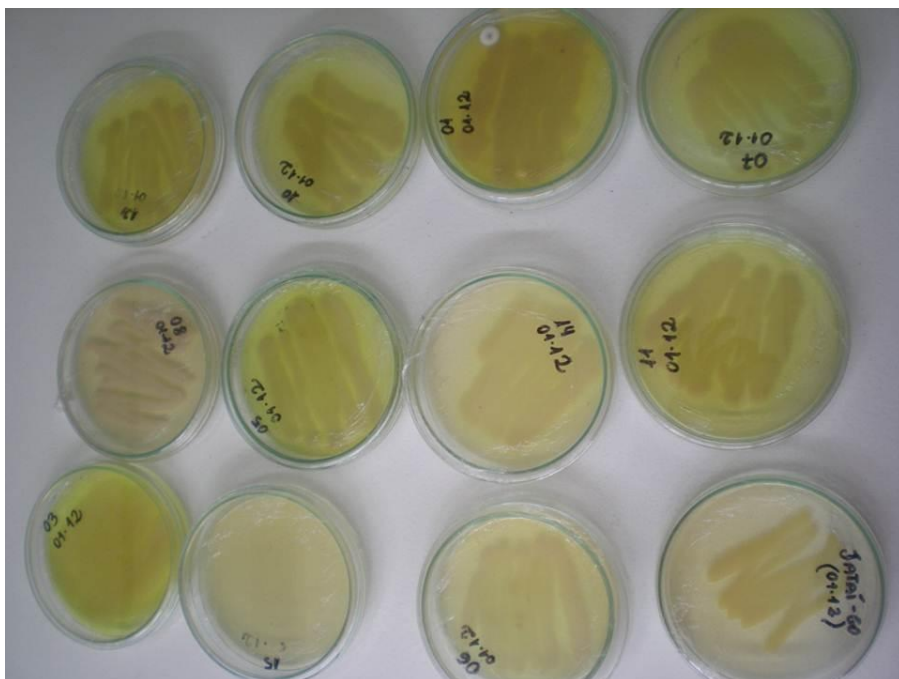


Figura 2. Colônia de *Pseudomonas* sp. em meio de cultura King B.

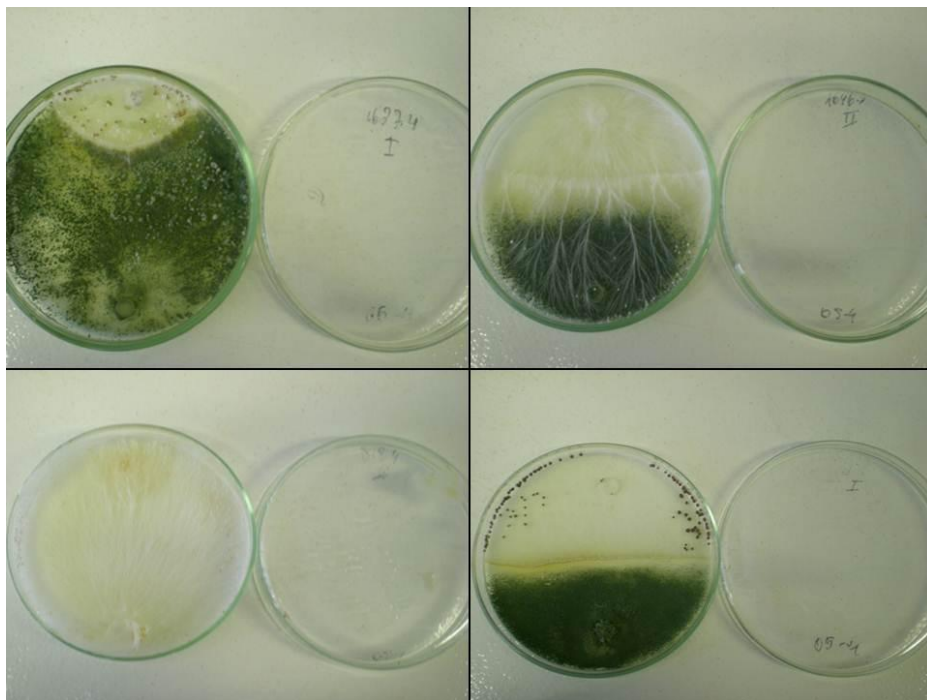


Figura 3. Experimento de pareamento de colônias em placa de petri: *Trichoderma* spp. x *S. rolfsii*.



Figura 4. (1) Pesagem do solo para montagem do experimento em recipiente tipo-gerbox®; (2) Organização dos esclerócios sobre a superfície do solo.

Tabela 1. Isolados de *Pseudomonas* sp. fluorescentes testados e seus locais de coleta.

Código	CULTURA	LOCAL - DF	DATA
Bactéria 01	Jurubeba	Riacho Fundo	05/09/2005
Bactéria 02	Jurubeba	Riacho Fundo	05/09/2005
Bactéria 03	Jurubeba	Riacho Fundo	05/09/2005
Bactéria 05	Pimenta-do-reino	Estação Experimental de Biologia - UnB	12/09/2005
Bactéria 06	Limão Tahiti	Estação Experimental de Biologia - UnB	12/09/2005
Bactéria 07	Banana	Estação Experimental de Biologia - UnB	12/09/2005
Bactéria 08	Banana	Estação Experimental de Biologia - UnB	12/09/2005
Bactéria 10	Limão Tahiti	Estação Experimental de Biologia - UnB	12/09/2005
Bactéria 11	Limão Tahiti	Estação Experimental de Biologia - UnB	12/09/2005
Bactéria 12	Bambu	Riacho Fundo	19/09/2005
Bactéria 13	Jacarandá-do-Cerrado	Riacho Fundo	19/09/2005
Bactéria 14	Jacarandá-do-Cerrado	Riacho Fundo	19/09/2005
Bactéria 15	Jacarandá-do-Cerrado	Riacho Fundo	19/09/2005
Bactéria 16	Banana	Riacho Fundo	21/09/2005

Tabela 2. Isolados (Is) de *Trichoderma* spp. testados e seus respectivos locais de coleta.

Is	Local de coleta	Is	Local de coleta	Is	Local de coleta
5	Solo – DF – Soja	131	Solo – DF – Grama	1639	Universidade de Brasília
7	Solo – DF – Milheto	132	Solo – DF – Grama	1640	Universidade de Brasília
8	Solo – DF – Eucalipto	136	Solo – DF – Soja	1641	Universidade de Brasília
9	Solo – DF – Eucalipto	137	Solo – DF – Pinus	1642	Universidade de Brasília
11	Solo – DF – Cebola	245	Universidade de Brasília	1643	Universidade de Brasília
12	Solo – DF – Cebola	518	Universidade de Brasília	1644	Universidade de Brasília
13	Solo – DF – Cebola	1168	Universidade de Brasília	1645	Universidade de Brasília
15	Solo – DF – Alho	1169	Universidade de Brasília	1646	Universidade de Brasília
23	Solo – DF – Pomar	1330	Universidade de Brasília	1647	Universidade de Brasília
24	Solo – DF – Cerrado	1523	Universidade de Brasília	1649	Universidade de Brasília
25	Solo – DF – Cerrado	1525	Universidade de Brasília	1650	Universidade de Brasília
102	Solo – DF – Soja	1526	Universidade de Brasília	1700	Universidade de Brasília
103	Solo – DF – Soja	1528	Universidade de Brasília	1742	Universidade de Brasília
104	Solo – DF – Cerrado	1529	Universidade de Brasília	1743	Universidade de Brasília
109	Solo – DF – Sorgo	1574	Universidade de Brasília	1744	Universidade de Brasília
112	Universidade de Brasília	1575	Universidade de Brasília	E 2	Solo - Estação biológica - UnB
113	Solo – DF – Milheto	1576	Universidade de Brasília	E 5	Solo - Estação biológica - UnB
116	Solo – DF – Soja	1577	Universidade de Brasília	E 6	Solo - Estação biológica - UnB
118	Solo – DF – Soja	1578	Universidade de Brasília	E 7	Solo - Estação biológica - UnB
122	Solo – DF – Cerrado	1581	Universidade de Brasília	SG	Solo - Fazenda São Geraldo, GO
123	Solo – DF – Cerrado	1637	Universidade de Brasília	UFG	Solo - Reserva natural - UFG
127	Solo – DF – Café	1638	Universidade de Brasília	-	-

Tabela 3. Efeito de isolados de *Trichoderma* (TR) na inibição do desenvolvimento micelial de *Sclerotium rolfsii* (SR) “in vitro”, medido através da escala de Bell (1 a 5) ao 7º dia.

TR	SR 193⁽¹⁾	TR	SR 193	TR	SR 228	TR	SR 228
Testemunha⁽²⁾	5,0a ⁽³⁾	1638	2,5efghi	Testemunha	5,0a	1638	2,8defgh
112	3,0defg	1641	2,5efghi	112	3,0cdefgh	1641	3,0cdefgh
245	2,8efgh	1642	1,8hij	245	3,0cdefgh	1642	1,8h
518	4,5ab	1645	1,5ij	518	4,8ab	1645	5,0a
1168	3,0defg	1649	1,5ij	1168	3cdefgh	1649	2,0gh
1169	2,8efgh	1523	3,3cdef	1169	2,5efgh	1523	4,0abcd
1330	3,3cdef	1525	2,0ghij	1330	3,75abcde	1525	2,3fgh
1526	2,8efgh	1528	2,3fghi	1526	3cdefgh	1528	3,0cdefgh
1529	3,3cdef	15	1,0j	1529	3cdefgh	15	1,8h
1574	2,3fghi	9	2,0ghij	1574	3cdefgh	9	3,5bcdef
1575	3,0defg	5	2,0ghij	1575	3cdefgh	5	2,0gh
1576	3,0defg	11	2,3fghi	1576	3,5bcdef	11	2,0gh
1577	2,8efgh	25	2,0ghij	1577	2,8defgh	25	3,0cdefgh
1578	3,0defg	13	3,5bcde	1578	3,0cdefgh	13	3,0cdefgh
1581	2,3fghi	12	1,8hij	1581	3,0cdefgh	12	2,5efgh
1637	2,0ghij	8	2,5efghi	1637	2,5efgh	8	3,3cdefg
1639	3,0defg	103	2,0ghij	1639	3,3cdefg	103	2,5efgh
1640	4,3abc	113	2,8efgh	1640	5,0a	113	3,0cdefgh
1643	2,0ghij	116	2,8efgh	1643	2,5efgh	116	3,0cdefgh
1644	2,8efgh	122	2,0ghij	1644	3,3cdefg	122	2,8defgh
1646	2,5efghi	127	2,0ghij	1646	3,0cdefgh	127	2,5efgh
1647	3,3cdef	102	2,0ghij	1647	4,0abcd	102	2,0gh
1650	2,8efgh	104	2,8efgh	1650	2,3fgh	104	4,3abc
1700	2,0ghij	109	4,0abcd	1700	2,3fgh	109	5,0a
1742	3,3cdef	118	3,3cdef	1742	3,3cdefg	118	3,8abcde
1743	3,3cdef	123	2,5efghi	1743	2,8defgh	123	3,0cdefgh
1744	2,8efgh	131	2,8efgh	1744	2,8defgh	131	2,8defgh
E. 7	3,0defg	137	2,0ghij	E. 7	2,8defgh	137	2,0gh
SG	3,0defg	136	2,0ghij	SG	3,0cdefgh	136	2,3fgh
UFG	3,0defg	24	2,0ghij	UFG	3,3cdefg	24	3,0cdefgh
E. 2	2,8efgh	132	2,0ghij	E. 2	2,3fgh	132	3,0cdefgh

E. 5	2,0ghij	23	2,8efgh	E. 5	2,0gh	23	3,3cdefg
E. 6	3,0defg	7	3,0defg	E. 6	3,0cdefgh	7	2,8defgh
-	-	D.M.S⁽⁴⁾	1,2	-	-	D.M.S	1,3
-	-	CV(%⁽⁵⁾)	15,6	-	-	CV(%⁽⁵⁾)	14,4

(1) Média de quatro repetições com 25 esclerócios. (2) Aplicação de água esterilizada. (3) Médias na coluna seguidas por letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). (4) Diferença mínima significativa. (5) Coeficiente de Variação.

Tabela 4. Quantidade de esclerócios de *Sclerotium rolfsii* (193 e 228) germinados ao 14º dia após a aplicação de *Pseudomonas* spp. fluorescentes.

TRATAMENTO	<i>S. rolfsii</i> 193	<i>S. rolfsii</i> 228
<i>Pseudomonas</i> spp.	Esclerócio germinado ⁽¹⁾	Esclerócio germinado
Testemunha ⁽²⁾	24,4 a ⁽³⁾	23,5 ab
Bactéria 10	24,9 a	20,8 bc
Bactéria 14	24,9 a	24,8 a
Bactéria 05	24,5 a	12,3 d
Bactéria 15	24,5 a	24,5 ab
Bactéria 07	24,4 a	23,8 ab
Bactéria 01	24,0 ab	23,8 ab
Bactéria 02	23,5 ab	24,0 ab
Bactéria 12	23,5 ab	22,0 ab
Bactéria 06	22,8 abc	23,3 ab
Bactéria 08	21,8 abcd	21,3 ab
Bactéria 16	16,3 bcde	23,8 ab
Bactéria 13	15,3 cde	24,5 ab
Bactéria 03	14,8 de	17,0 c
Bactéria 11	13,3 e	12,3 d
D.M.S. ⁽⁴⁾	7,9	3,9
C.V. (%⁽⁵⁾)	14,5	7,2

(1) Média de quatro repetições com 25 esclerócios. (2) Aplicação de água esterilizada. (3) Médias na coluna seguidas por letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). (4) Diferença mínima significativa. (5) Coeficiente de Variação.

Tabela 5. Quantidade de esclerócios de *Sclerotium rolfii* (193 e 228) germinados ao 14º dia após a aplicação de fosfitos.

TRATAMENTO	<i>S. rolfii</i> 193	<i>S. rolfii</i> 228
Fosfito	Esclerócio germinado ⁽¹⁾	Esclerócio germinado
Testemunha ⁽²⁾	24,7 a ⁽³⁾	24,2 a
Phytogard Mg	19,2 bc	23,5 a
Phytogard Zn	24,2 a	22,5 a
Premium 30 -20	24,5 a	15,5 b
Fitofós Ca	24,2 a	12,0 bc
Fitofós Mg	24,7 a	18,5 ab
Phytogard K	18,5 bc	11,7 bcd
Nutex Premium 20-20	22,7 ab	12,2 bc
Fitofós Cu	15,7 cd	6,2 cde
Fitofós K Plus	13,0 de	4,0 e
Hortifós PK	15,2 cd	5,0 de
Phytogard Ca	10,5 e	7,0 cde
D.M.S. ⁽⁴⁾	4,4	10,2
CV (%) ⁽⁵⁾	9,0	20,4

- (1) Média de quatro repetições com 25 esclerócios. (2) Aplicação de água esterilizada. (3) Médias na coluna seguidas por letras iguais não diferem entre si (Tukey, 5%). (4) Diferença mínima significativa. (5) Coeficiente de Variação.