



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**AVALIAÇÃO DE *TRICHODERMA* E DE FOSFITO NO
CONTROLE DE *SCLEROTIUM ROLFSII* AGENTE DA MURCHA-
DE-ESCLERÓCIO EM FEIJOEIRO**

KLÊNIA RODRIGUES PACHECO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AGRONOMIA

BRASÍLIA/DF

JUNHO/2012



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**AVALIAÇÃO DE *TRICHODERMA* E DE FOSFITO NO
CONTROLE DE *SCLEROTIUM ROLFSII* AGENTE DA MURCHA-
DE-ESCLERÓCIO EM FEIJOEIRO**

KLÊNIA RODRIGUES PACHECO

ORIENTADOR: LUIZ EDUARDO BASSAY BLUM

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AGRONOMIA

PUBLICAÇÃO: 49/2012

BRASÍLIA/DF

JUNHO/2012



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**AVALIAÇÃO DE *TRICHODERMA* E DE FOSFITO NO
CONTROLE DE *SCLEROTIUM ROLFSII* AGENTE DA MURCHA-
DE-ESCLERÓCIO EM FEIJOEIRO**

KLÊNIA RODRIGUES PACHECO

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA, COMO PARTE DOS REQUISITOS
NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM AGRONOMIA.**

APROVADA POR:

Prof. LUIZ EDUARDO BASSAY BLUM, Ph.D (UnB)

E-mail: luizblum@unb.br

Prof. JOSÉ RICARDO PEIXOTO, (UnB)

E-mail: peixoto@unb.br

Prof. CARLOS HIDEMI UESUGI, (UnB)

E-mail: uesugich@unb.br

BRASÍLIA/DF, 06 de JUNHO de 2012

FICHA CATALOGRÁFICA

Pacheco, Klênia Rodrigues

Avaliação de *Trichoderma* e de fosfito no controle de *Sclerotium rolfsii* agente da murcha-de-esclerócio em feijoeiro.

Klênia Rodrigues Pacheco; orientação de Luiz Eduardo Bassay Blum. – Brasília, 2012. 75 p.

Dissertação de Mestrado (M) – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2012.

1. Controle biológico. 2. *Phaseolus vulgaris*. 3. Antagonismo. 4. Fungicida. I. Blum, L. E. B. Ph.D.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

PACHECO, K. R. **Avaliação de *Trichoderma* e de fosfito no controle de *Sclerotium rolfsii* agente da murcha-de-esclerócio em feijoeiro.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2012, 75 p. Dissertação de Mestrado.

CESSÃO DE DIREITOS

NOME DO AUTOR: Klênia Rodrigues Pacheco

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO **Avaliação de *Trichoderma* e de fosfito no controle de *Sclerotium rolfsii* agente da murcha-de-esclerócio em feijoeiro.**

GRAU: MESTRE

ANO: 2012

É concedida à Universidade de Brasília de Brasília permissão para reproduzir cópias desta dissertação de mestrado para única e exclusivamente propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada à fonte.

Klênia Rodrigues Pacheco

Email: kleniarp@hotmail.com

Um tempo para casa coisa

Para tudo há um tempo, para cada coisa há um momento debaixo dos céus:

tempo para nascer,
e tempo para morrer;
tempo para plantar,
e tempo para arrancar
o que foi plantado;
tempo para matar,
e tempo para sarar;
tempo para demolir,
e tempo para construir;
tempo para chorar,
e tempo para rir;
tempo para gemer,
e tempo para dançar;
tempo para atirar pedras,
e tempo para ajuntá-las;
tempo para dar abraços,
e tempo para apartar-se.
Tempo para procurar,
e tempo para perder;
tempo para guardar,
e tempo para jogar fora;
tempo para rasgar,
e tempo para costurar;
tempo para calar,
e tempo para falar;
tempo para amar,
e tempo para odiar;
tempo para a guerra,
e tempo para a paz.

Eclesiastes: 3, 1-8

DEDICATÓRIA

À deus , o criador e fortaleza de todos os caminhos.

À minha família, pelo companheirismo, alicerce, princípios e Amor.

AGRADECIMENTOS

À DEUS, pelo dom da vida, por tantas bênçãos e direcionamento pelos caminhos quanto encontrei tantas incertezas.

Ao meu orientador Ph. Dr. Luiz Eduardo Bassay Blum, pelo otimismo, paciência e disposição em ensinar.

Aos meus pais, Luizmar e Angelita, pelo AMOR incondicional e o apoio recebido nos momentos de dificuldades.

Aos meus irmãos, Luizmar Júnior e César Augusto, pela amizade e incentivo a cada passo.

Ao meu namorado Rui César, pela compreensão, dedicação e pelas palavras de forças.

A Thais Melissa, Juliana Morcelli, Bernardo Viscardi, Nathália de Lima e Natasha Ohanny pelo companheirismo e dedicação na realização desse trabalho.

Aos meus grandes amigos Mades, pelas horas de distração e companhia, e minhas grandes amigas de moradia que tanto compartilhamos momentos alegres e conforto nos momentos mais difíceis, sendo todos considerados como irmãos.

Aos funcionários do departamento de fitopatologia da UnB, principalmente ao meu amigo José Cezar. E aos funcionários da estação experimental de biológica da UnB pela colaboração com a execução de atividades.

A todos os colegas da pós-graduação em agronomia.

A Capes pelo auxílio financeiro concedido

Muito Obrigada.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVO	3
3. REVISÃO DE LITERATURA	3
3.1. CULTURA DO FEIJOEIRO (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	3
3.2. <i>SCLEROTIUM ROLFSII</i>	4
3.3. MURCHA-DE-ESCLERÓCIO	5
3.4. CONTROLE BIOLÓGICO	6
3.5. <i>TRICHODERMA</i>	7
3.6. FOSFITO	10
4. MATERIAL E MÉTODOS	12
4.1. OBTENÇÃO DOS ISOLADOS DE <i>SCLEROTIUM ROLFSII</i>	12
4.2. OBTENÇÃO DOS ISOLADOS DE <i>TRICHODERMA</i> SPP.	12
4.3. AVALIAÇÃO <i>IN VITRO</i> DO ANTAGONISMO DO FUNGO <i>SCLEROTIUM ROLFSII</i> POR ISOLADOS DE <i>TRICHODERMA</i> SPP. EM CULTURA PAREADA .	13
4.4. AVALIAÇÃO DE <i>TRICHODERMA</i> , FOSFITO E FUNGICIDAS TRADICIONAIS PARA O CONTROLE DE <i>SCLEROTIUM ROLFSII</i> EM RECIPIENTES DE PLÁSTICO TRANSPARENTE	15
4.4.1. Avaliação de <i>Trichoderma</i> spp. sobre a germinação de esclerócios de <i>Sclerotium rolfsii</i> testados em recipientes de plástico transparente	16
4.4.2. Avaliação de fosfitos sobre a germinação de esclerócios de <i>Sclerotium rolfsii</i> testados em recipientes de plástico transparente	16
4.4.3. Avaliação de Químicos e <i>Trichoderma</i> comercial sobre a germinação de esclerócios de <i>Sclerotium rolfsii</i> testados em recipientes de plástico transparente .	17
4.5. ENSAIOS EM CASA DE VEGETAÇÃO	18
4.5.1. Avaliação de <i>Trichoderma</i> em casa de vegetação	18
4.5.2. Avaliação de Fosfitos em casa de vegetação	19
4.5.3. Avaliação de Químicos e <i>Trichoderma</i> comercial em casa de vegetação	20
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
5.1. <i>TRICHODERMA</i>	23
5.2. FOSFITO	33
5.3. QUÍMICOS E <i>TRICHODERMA</i> COMERCIAL	40
6. CONCLUSÕES	47
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
8. ANEXO	61

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.(a) Crescimento do <i>Trichoderma</i> sobre o patógeno, ocupando toda a placa. (b) Crescimento do <i>Trichoderma</i> , ocupando aproximadamente metade da superfície do meio.....	14
Figura 2. Organização dos 25 esclerócios sobre a superfície do solo.	15
Figura 3. Visão geral dos experimentos em casa de vegetação.....	22
Figura 4. Podridão no colo da planta de feijoeiro causado por <i>Sclerotium rolfsii</i>	22

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Isolados (Is) de <i>Trichoderma</i> spp. testados e seus respectivos locais de coleta.	21
Tabela 2. Reação antagônica <i>in vitro</i> , através da escala de Bell (1 a 5) aos 7 dias, de <i>Trichoderma</i> spp. (TR) contra <i>Sclerotium rolfsii</i> (UB 193 e UB 288).	27
Tabela 3. Percentual de esclerócios de <i>Sclerotium rolfsii</i> (UB 193) germinados (EG), aos 7° e 14° dia após a aplicação dos tratamentos com <i>Trichoderma</i> spp. e dados estatísticos transformados em porcentagem de esclerócios de <i>Sclerotium rolfsii</i> controlados (% EC).	28
Tabela 4. Percentual de esclerócios de <i>Sclerotium rolfsii</i> (UB 228) germinados (EG), aos 7° e 14° dia após a aplicação dos tratamentos com <i>Trichoderma</i> spp. e dados estatísticos transformados em porcentagem de esclerócios de <i>Sclerotium rolfsii</i> controlados (% EC).	29
Tabela 5. Número de plantas assintomáticas de feijoeiro (Cultivar Pérola) durante seis semanas após a aplicação de isolados de <i>Trichoderma</i> spp. em solo com <i>Sclerotium rolfsii</i> (UB 193).	30
Tabela 6. Número de plantas assintomáticas de feijoeiro (Cultivar Pérola) durante seis semanas após a aplicação de isolados de <i>Trichoderma</i> spp. em solo com <i>Sclerotium rolfsii</i> (UB 228).	31
Tabela 7. Produção de matéria seca (g/planta) da parte aérea e raiz do feijoeiro tratados com isolados de <i>Trichoderma</i> spp., sob casa de vegetação.....	32
Tabela 8. Percentual de esclerócios de <i>Sclerotium rolfsii</i> (UB 193) germinados (EG), aos 7° e 14° dia após a aplicação dos tratamentos com fosfitos e dados estatísticos transformados em porcentagem de esclerócios de <i>Sclerotium rolfsii</i> controlados (% EC).	35
Tabela 9. Percentual de esclerócios de <i>Sclerotium rolfsii</i> (UB 228) germinados (EG), aos 7° e 14° dia após a aplicação dos tratamentos com fosfitos e dados estatísticos transformados em porcentagem de esclerócios de <i>Sclerotium rolfsii</i> controlados (% EC).	36
Tabela 10. Uso ou efeito do fosfito no controle de <i>S. rolfsii</i> (UB 193) em mudas de feijoeiro, sob casa de vegetação... ..	37
Tabela 11. Uso ou efeito do fosfito no controle de <i>S. rolfsii</i> (UB 228) em mudas de feijoeiro, sob casa de vegetação.. ..	38
Tabela 12. Matéria seca (g/planta) da parte aérea do feijoeiro tratados com fosfitos, sob casa de vegetação.....	39
Tabela 13. Percentual de esclerócios de <i>Sclerotium rolfsii</i> (UB 193) germinados (EG), aos 7° e 14° dia após a aplicação dos fungicidas e <i>Trichoderma</i> comercial e dados	

estatísticos transformados em porcentagem de esclerócios de *Sclerotium rolfsii* controlados (% EC). 42

Tabela 14. Percentual de esclerócios de *Sclerotium rolfsii* (UB 228) germinados (EG), aos 7° e 14° dia após a aplicação dos fungicidas e *Trichoderma* comercial e dados estatísticos transformados em porcentagem de esclerócios de *Sclerotium rolfsii* controlados (% EC). 43

Tabela 15. Uso ou efeito de produtos químicos e *Trichoderma* comercial no controle de *S. rolfsii* (UB 193) em mudas de feijoeiro, sob casa de vegetação.. 44

Tabela 16. Uso ou efeito de produtos químicos e *Trichoderma* comercial no controle de *S. rolfsii* (UB 228) em mudas de feijoeiro, sob casa de vegetação. 45

Tabela 17. Matéria seca (g/planta) da parte aérea do feijoeiro tratados com produtos químicos e *Trichoderma* comercial, sob casa de vegetação 46

AVALIAÇÃO DE *TRICHODERMA* E DE FOSFITO NO CONTROLE DA MURCHA-DE-ESCLERÓCIO EM FEIJOEIRO CAUSADA POR *SCLEROTIUM ROLFSII*

KLÊNIA RODRIGUES PACHECO¹, LUIZ EDUARDO BASSAY BLUM²

¹ Aluna do curso de Mestrado em Agronomia, Universidade de Brasília, kleniarp@hotmail.com

² Professor do Departamento de Fitopatologia da UnB, luizblum@unb.br

RESUMO

O feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) é suscetível a muitas doenças, entre elas, se encontra a murcha-de-esclerócio (podridão do colo) causada por *Sclerotium rolfsii*. O controle do *S. rolfsii* ocorre com o auxílio de práticas preventivas e por controle biológico ou químico. O estudo teve como objetivo selecionar e testar isolados de *Trichoderma* oriundos de solos do DF, avaliar e comparar os *Trichoderma* spp. selecionados e fosfitos (Cu, Ca, Mg e K) aos fungicidas no controle da murcha-de-esclerócio. Nos ensaios realizados foram utilizados dois isolados de *S. rolfsii* (UB 193 e UB 228). Dos 65 isolados de *Trichoderma* testados *in vitro* selecionaram-se os seguintes: 5, 11, 12, 15, 102, 103, 127, 136, 137, 1525, 1637, 1642, 1643, 1649, 1700 e EST 5. Esses isolados de *Trichoderma*, bem como os fosfitos [Fosfito: Cu (25% P₂O₅ + 5% Cu); K1 (40% P₂O₅ + 20% K₂O); Mg1 (30% P₂O₅ + 4% Mg); Ca1 (30% P₂O₅ + 7% Ca); Ca2 (10% P₂O₅ + 6% Ca); K2 (40% P₂O₅ + 20% K₂O); K3 (20% P₂O₅ + 20% K₂O); K4 (30% P₂O₅ + 20% K₂O); K5 (27% P₂O₅ + 27% K₂O)] e fungicidas [Tebuconazol (250 g/L); Tiofanato-Metílico (500 g/L); Procimidona (500 g/kg); Carbendazim (500 g/kg)] foram avaliados quanto ao efeito sobre a germinação de esclerócios do patógeno em laboratório e sobre a doença em casa de vegetação. Os isolados de *Trichoderma* 1649, 1525 e 1637 foram os mais eficientes na inibição da germinação de esclerócios de *S. rolfsii* em laboratório. Além disso, os isolados 5, 12, 102, 103, 1525 e 1649 foram eficientes na melhoria do número de plantas sadias de feijoeiro em casa de vegetação. Dos testes realizados com fosfitos, as formulações com Potássio (K2) e Cálcio (Ca1) controlaram o patógeno no teste em casa de vegetação. Dos agentes químicos testados, o produto que reduziu significativamente a doença foi o Tebuconazol.

PALAVRAS-CHAVE: Controle Biológico, *Phaseolus vulgaris*, Antagonismo, Fungicida.

EVALUATION OF *TRICHODERMA* AND PHOSPHITE TO CONTROL THE SCLEROTIAL WILT OF COMMON BEAN CAUSED BY *SCLEROTIUM ROLFSII*

ABSTRACT

Phaseolus vulgaris (Common bean) is susceptible to several diseases, among them there is the sclerotium wilt, also known as stem rot caused by *Sclerotium rolfsii*. The control of the disease could be throughout preventive practices or by biological or chemical control. This study was carried out to evaluate the effects of *Trichoderma* spp., phosphites (Cu, Ca, Mg, and K) and traditional fungicides to control sclerotium wilt of common bean. The experiments were performed with two isolates of *S. rolfsii* (UB 193 and UB 228). Sixty-five *Trichoderma* isolates were tested *in vitro* for inhibition of *S. rolfsii*, and the following ones were selected: 5, 11, 12, 15, 102, 103, 127, 136, 137, 1525, 1637, 1642, 1643, 1649, 1700 and EST 5. These selected *Trichoderma*, phosphites [Phosphite: Cu (25% P₂O₅ + 5% Cu); K1 (40% P₂O₅ + 20% K₂O); Mg1 (30% P₂O₅ + 4% Mg); Ca1 (30% P₂O₅ + 7% Ca); Ca2 (10% P₂O₅ + 6% Ca); K2 (40% P₂O₅ + 20% K₂O); K3 (20% P₂O₅ + 20% K₂O); K4 (30% P₂O₅ + 20% K₂O); K5 (27% P₂O₅ + 27% K₂O)] and fungicides [Tebuconazole (250 g/L); Methyl Thiophanate (500 g/L); Procymidone (500 g/kg); Carbendazim (500 g/kg)] were tested for evaluation of sclerotial germination under laboratory conditions, and to evaluate the effects on disease of bean plants under greenhouse conditions. The *Trichoderma* isolates 1649, 1525 and 1637 were more efficient in reducing sclerotial germination. In addition, the isolates 5, 12, 102, 103, 1525 e 1649 significantly improved the number of non-diseased plants under greenhouse conditions. Phosphites of K (K2) and Ca (Ca1) inhibited sclerotial germination in laboratory and reduced disease in plants grown in greenhouse. Tebuconazole was the product that significantly reduced disease severity on bean under greenhouse condition.

KEY-WORDS: Biological Control, *Phaseolus vulgaris*, Antagonism, Fungicide.

1. INTRODUÇÃO

O feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma planta anual, herbácea, pertencente à família Leguminosa, originária da América Latina, onde são encontradas formas selvagens em diferentes áreas (Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina-EPAGRI, 2006).

O maior consumidor deste produto é verificado nas Américas (41,7%), Ásia (34,2%), África (18,6%), Europa (3,8%) e Oceania (0,1%). Os países em desenvolvimento são responsáveis por 87,1% do consumo mundial e por 89,8% da produção (Food and Agricultural Organization-FAO, 2008).

O cultivo de feijoeiro é de grande importância no contexto socioeconômico nacional. Segundo Bonett et al., (2006) o feijão é um importante constituinte da dieta alimentar dos brasileiros. O feijoeiro é cultivado, praticamente em todo território nacional com um rendimento médio de 904 kg ha⁻¹ (CONAB, 2010), apresentando o Brasil como o maior produtor e consumidor de feijão. A produtividade média é considerada baixa, principalmente pelo fato do pequeno uso de sementes certificadas e pelo manejo inadequado da cultura, no controle de doenças, pragas e colheita mecanizada.

Paraná, Minas Gerais e São Paulo se destacam na produção de feijão da 1ª safra. Na 2ª safra, os maiores produtores são Paraná, Ceará e Minas Gerais e na 3ª safra se destacam Bahia, Minas Gerais e Goiás (RAPASSI et al., 2009). De acordo com os dados do IBGE (2009), a produção nacional de feijão em 2009, considerando as três safras do produto, alcançou 3.478.775 toneladas sendo a participação assim distribuída: 1.642.946 toneladas da 1ª safra (47,2%), 1.430.040 toneladas da 2ª safra (41,1%) e 405.789 toneladas da 3ª safra (11,7%).

Segundo os dados da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2012) para a safra 2011/2012 (1ª safra), a produção de feijão está estimada em 1.371,3 mil toneladas. A produtividade média do feijão primeira safra deverá ficar em 1.078 kg/ha. As melhores médias obtidas são: São Paulo 1.757, Paraná 1.624, Santa Catarina 1.650, Rio Grande do Sul e Minas Gerais 1.215 kg ha⁻¹. O cultivo do feijão irrigado com pivô central têm-se alcançado produtividade de 3.000 kg ha⁻¹ nos Estados de Goiás, São Paulo, Minas Gerais e Distrito Federal (CONAB, 2008).

Com o aumento da população cresce a demanda por alimentos e para satisfazer essa necessidade não basta apenas aumentar a área cultivada, mas principalmente a produtividade e a qualidade dos alimentos. Considerando que as plantas cultivadas representam a principal fonte nutricional do homem, tem-se reduzido a diversidade de espécies de plantas dando lugar ao cultivo de uma só espécie produtora de alimentos. Sendo assim, quanto maior for o cultivo de uma população da mesma espécie e maiores áreas de plantio, maior é o risco de ocorrência de epidemias de doenças de plantas (REIS et al., 2001). E os principais fatores responsáveis pela baixa produtividade em nosso país são a ocorrência de doenças, pragas, deficiências nutricionais e problemas climáticos (FAO, 2008).

O feijoeiro é suscetível a muitas pragas e doenças, dentre as doenças destacam-se o mosaico dourado do feijoeiro, crestamento bacteriano, murcha de *curtobacterium*, antracnose, mancha angular, ferrugem, oídio, mofo branco e a murcha-de-esclerócio, também chamada de podridão do colo é causada por *Sclerotium rolfsii* (BIANCHINI et al., 1997).

Sclerotium rolfsii é um importante patógeno habitante de solo, sendo responsável por podridão de raízes e do colo, murcha e tombamento de plântulas. Apresenta extensa gama de hospedeiros, cerca de 500 espécies botânicas, incluindo dicotiledôneas e monocotiledôneas, distribuindo-se em todas as regiões agrícolas, com predominância nas zonas tropical e subtropical, onde predominam condições de alta umidade e temperatura elevada (AYCOCK, 1966; PUNJA & JENKINS, 1984; PUNJA, 1985; PUNJA & RAHE, 1992).

O controle do *S. rolfsii* ocorre com o auxílio de práticas preventivas, como rotação de culturas, aração profunda, sementes isenta do patógeno, dentre outras e também por controle biológico e controle químico (KIMATI et al., 2005). Os produtos químicos possuem diversos efeitos prejudiciais tanto ao meio ambiente quanto a saúde humana e animal, podendo ocorrer intoxicações, contaminação do solo e da água e a presença de resíduos tóxicos nos alimentos que serão consumidos. (JESUS JÚNIOR et al., 2007).

Com esses efeitos prejudiciais do uso de controle químico, uma das alternativas para o controle de patógenos é a utilização de agentes biológicos, causando menos impacto ao meio ambiente que é bastante afetado pelo uso de agrotóxicos, resultando em nova perspectiva para o manejo de pragas e doenças na área agrícola. Enquanto os fungicidas apresentam um período residual pequeno e usualmente necessitam aplicações

repetidas durante o período de crescimento da lavoura, os agentes de controle biológico são capazes de se estabelecer no ecossistema, reproduzir, colonizar rizosfera, espermosfera, filosfera e rizoplano. Além disso, as estratégias de controle biológico são altamente compatíveis com as práticas de agriculturas sustentáveis necessárias para a conservação dos recursos naturais para a agricultura (SIVAN & CHET, 1992).

Com esse trabalho, o principal objetivo foi encontrar uma forma de controle alternativo ao patógeno *S. rolfsii*, que visa buscar alimentos sem resíduos, com uma agricultura limpa e sustentável.

2. OBJETIVO

Isolar, selecionar e manter isolados de *Trichoderma* oriundos de solos do DF, avaliar e comparar os *Trichoderma* spp. selecionados e o fosfito aos fungicidas no controle da murcha-de-esclerócio causada por *S. rolfsii*.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. CULTURA DO FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.)

O gênero *Phaseolus* possui cerca de 60 espécies, das quais cinco são as mais cultivadas: *P. vulgaris* L., *P. coccineus* L., *P. acutifolius*, *P. lunatus* L. e *P. polyanthus*, contribuindo com 95% da produção mundial de feijão (YOKOYAMA, 2002; BORÉM, 2005). Uma das leguminosas intensamente estudadas na América Latina tem sido o feijoeiro comum (*P. vulgaris* L.), por ser uma das principais fontes de proteína e por fazer parte dos hábitos alimentares da população, sendo sua importância alimentícia, entre outros fatores, devido ao menor custo de produção em relação à proteína animal (QUINTANA et al., 2002).

O feijoeiro-comum é pertencente à família Fabaceae ou Leguminosae, ordem Rosales e gênero *Phaseolus*. Admitem-se dois locais de domesticação a essa cultura sendo um andino e um mesoamericano (GONÇALVES, 2008). Seu ciclo pode variar de 61 a 110 dias, o que facilita o uso da cultura em sistemas agrícolas intensivos irrigados, altamente tecnificados, até aqueles com baixo nível tecnológico, principalmente subsistência (AIDAR, 2007). No Brasil, o feijão é cultivado ao longo do ano, na maioria dos estados, em três safras (das águas, da seca e de inverno). As três safras

proporcionam ao Brasil, uma contribuição de 17,27% da produção mundial (FAO, 2008).

A cultura do feijoeiro juntamente com o arroz tem importância não só econômica, mas também social e cultural estando este grão presente na mesa da maioria dos brasileiros independentemente de sua classe social, sendo um dos grãos mais importante na agricultura brasileira (VIEIRA et al., 2006).

A Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), aponta que a produção mundial de feijão tem se concentrado em países, que são os maiores produtores como são também os maiores consumidores. Os principais produtores mundiais de feijão são o Brasil, a Índia, a China, o Myanmar, o México e os Estados Unidos (FAO, 2008). Além da importância do feijão na alimentação da população brasileira e mundial, a cadeia de produção, beneficiamento e comercialização, geram ocupação e renda, principalmente a classe menos privilegiada (FACHINI et al., 2006).

3.2. *SCLEROTIUM ROLFSII*

O patógeno pertence ao reino fungi, Filo Basidiomycota, classe Agaricomycetes, subclasse Agaricomycetidae, ordem Atheliales e a família Atheliaceae (Índex fungorum, 2010; NCBI, 2010). O fungo predomina em regiões de clima tropical e subtropical do mundo, onde as condições de temperaturas e umidades do ar elevadas favorecem o desenvolvimento e a sobrevivência do patógeno (MARTINS, 2003).

Sclerotium rolfii foi descrito pela primeira vez em 1892 por Rolfs em tomateiro na Flórida (AYCOCK, 1966). Este fungo é polífago e caracteriza-se pela produção de micélio vigoroso e grampos de conexão nas hifas. O fungo produz escleródios globosos, pequenos, de 0,5-1,5 mm de diâmetro (BIANCHINI et al., 1997). Os esclerócios são formados por uma massa compactada e melanizada de micélio (BLUM et al., 2002), que internamente é rico em glicogênio, lipídios e trealose (DEACON, 1997).

A sobrevivência do fungo ocorre através do micélio em matéria orgânica e também por escleródios presentes no solo. A faixa de temperatura para a germinação do escleródio está entre 10-35 °C, mas com o aumento da profundidade do solo, ocorre uma diminuição na germinação e para o pH ideal está entre 2,6 e 4,4, mas pode ocorrer entre 2,6 e 7,7. A germinação dos escleródios é induzida também pela presença de

compostos voláteis, que emanam de restos de cultura no solo, uma vez que o fungo necessita crescer saprofiticamente sobre substrato orgânico antes de atuar como patógeno. Água de irrigação, implementos agrícolas, esterco e sementes podem disseminar o fungo. *S. rolfsii* penetrando diretamente no hospedeiro ou por ferimentos, geralmente próximo à superfície do solo (BIANCHINI et al., 1997).

A forma sexuada de *S. rolfsii* ou teleomorfo é *Athelia rolfsii* (Curzi) Tu & Kimbrough (PUNJA, 1993). Em sua forma sexuada, são produzidos basidiósporos que podem também dar início a uma infecção primária (PUNJA & RAHE, 1992).

Sclerotium rolfsii tem como gama de hospedeiros mais de 500 espécies de plantas cultivadas no mundo (ALMEIDA et al., 2001), onde são hospedeiras tanto monocotiledôneas quanto dicotiledôneas, sendo a grande maioria espécies dicotiledôneas (ADANDONON, 2004). Dentre estes hospedeiros, estão incluídos milho, feijão, batata doce, tomate, melancia, banana, beterraba, repolho, cenoura, café, algodão, alho, alface, manga e abacaxi (FERREIRA & BOLEY, 1992). E essa ampla gama de hospedeiros do fungo se deve, principalmente, ao seu rápido crescimento à produção de ácido oxálico e de enzimas degradadoras de parede celular (ALMEIDA et al., 2001). O ácido oxálico produzido durante o processo de parasitismo se combina com o cálcio, presente no tecido da planta afetada, e propicia a ação de enzimas pectolíticas que degradam os tecidos (DEACON, 1997).

O fungo causa podridão em raízes, colo de plantas jovens e em sementes, danos em plântulas, folhas e frutos. O diagnóstico da doença é feito pelos sintomas na planta hospedeira que apresentam lesões marrons e aquosas no colo, e pelos sinais, que é através do fungo observando um crescimento micelial branco com a formação de esclerócios (AYCOCK, 1966).

3.3. MURCHA-DE-ESCLERÓCIO

Com a infecção de *S. rolfsii* na planta, ocorre uma importante doença conhecida como a murcha-de-esclerócio, ocasionando serias perdas de produção nas plantas infectadas, provocando a redução do número de plantas durante o ciclo da cultura (CHAVES & COSTA, 1999; EMBRAPA RONDÔNIA, 2005).

A murcha-de-esclerócio surge geralmente em pequenas reboleiras ou em plantas isoladas (LOPES & ÁVILA, 2005) e ocorre tanto em mudas como em plantas adultas.

No entanto as mudas são mais suscetíveis ao patógeno e morrem logo após a infecção (FERREIRA & BOLEY, 1992).

Na cultura do feijoeiro os sintomas da murcha-de-esclerócio, iniciam-se com lesões marrons e aquosas sobre o colo. Com o avanço desses sintomas produzem o escurecimento e podridão do caule, resultando em destruição do córtex e da raiz principal. Plantas severamente infectadas apresentam o colo estrangulado, provocando a murcha da parte aérea, seca, queda de folhas e morte da planta. Em condições de alta umidade aparecem um crescimento micelial branco sobre o colo da planta com o aparecimento de escleródios. Plantas em emergências também podem ser afetadas causando tombamento e redução do estande (BIANCHIMI et al., 1997; FANCELLI & DOURADO-NETO, 1998).

3.4. CONTROLE BIOLÓGICO

O controle biológico tem sido apontado como um método para minimizar o uso de agrotóxicos e promover a proteção das culturas, baseando-se em procedimentos ambientalmente corretos que podem fazer parte de um sistema de controle integrado de doenças (GRIGOLETTI JUNIOR et al., 2000; SLININGER et al., 2003).

Controle biológico de patógenos entende-se como a redução da quantidade e da viabilidade do inoculo de um organismo patogênico ou da atividade determinante da doença provocada por um patógeno, induzida por um ou mais organismos antagonistas ou estimuladores de resistência nas plantas (BLUM, 2002). Antagonistas podem ser introduzidos em outro ambiente diferente daquele onde foi isolado, estabelecer e parasitar o patógeno. O controle, no entanto, dependera da natureza das propriedades antagonistas e dos mecanismos de ação (MELO & AZEVEDO, 1998).

Os princípios dos mecanismos de controle biológico baseiam-se em relações antagonicas como: competição, predação, amensalismo, parasitismo, resistência induzida ou pela produção de metabólitos que inibem o desenvolvimento do outro. O parasitismo parece ser o mecanismo mais eficiente de antagonismo no controle biológico, pois os hiperparasitas dependem dos seus hospedeiros para sobrevivência e estão sujeitos as mesmas variações ambientais (GRIGOLETTI, 2000).

O controle biológico de patógenos de plantas possui uma série de vantagens em relação aos pesticidas convencionais. Enquanto os fungicidas apresentam somente um

efeito temporário e necessitam de aplicações repetidas durante o período de crescimento da cultura, os agentes de controle biológico são capazes de se estabelecer, colonizar e de se reproduzir no ecossistema (ÁVILA et al., 2005), além de construírem uma alternativa para diminuir o potencial de inóculo no solo sem trazer danos ao meio ambiente (MELLO et al., 2007).

Por estas razões, o controle biológico é utilizado como uma estratégia viável e promissora para a redução de doenças em plantas, tanto usado individualmente como em combinação com outras medidas fitossanitárias (JACK et al., 1991).

3.5. TRICHODERMA

Segundo Ramirez et al., (1995), o gênero *Trichoderma* Person foi descrito em 1794, considerando quatro espécies de fungos. Em 1969, foi novamente classificado por Rifai. De acordo com Melo (1991), as espécies de *Trichoderma* dentro de um mesmo grupo ou secção apresentam características sobrepostas, o que torna difícil a classificação de isolados. O gênero *Trichoderma* é considerado anamorfo de *Hypocrea* Fr. (CHAVERRI et al., 2000), sendo classificado como imperfeito, e conforme Vera et al. (2007) pertence ao reino Fungi, filo Ascomycota, classe Sordariomycetes, ordem Hypocreales e família Hypocreaceae.

Fungos do gênero *Trichoderma* são conhecidos há mais de 200 anos, sendo estes membros comuns da microflora do solo. Micologistas deram pouca atenção para este fungo durante um longo período, mas o mesmo vem ganhando significativa importância, principalmente na área do controle biológico e manejo integrado de patógenos (TURÓCZI et al., 1994). *Trichoderma* é, sem dúvida, o agente de controle biológico de doenças de plantas mais estudado e utilizado no Brasil e em outros países da América Latina (BETTIOL et al., 2008).

Os fungos do gênero *Trichoderma* vêm sendo utilizados com sucesso no controle de várias doenças de plantas, dentre as quais as podridões de raiz e colo causadas por *S. rolfisii* Sacc. (PAPAVIZAS, 1985). O antagonismo ocorre em resposta a estímulos químicos liberados pelo hospedeiro (CHET, 1992). Os mecanismos utilizados por *Trichoderma* são: (a) produção de antibióticos (DENIS & WEBSTER, 1971); (b) competição, a interação entre dois ou mais organismos empenhados na mesma ação (SCHIPPERS et al., 1987; WELLER, 1988); e (c) micoparasitismo, fenômeno em que

determinado microrganismo obtém nutrientes a partir das células vivas e funcionais do hospedeiro com quem vive em íntima associação. Ele pode fazer isso matando as células daquele para depois se alimentar (parasita necrotrófico) ou absorvendo nutrientes das células vivas (parasita biotrófico), tendo-se então as etapas de quimiotropismo, reconhecimento do patógeno, secreção de enzimas hidrolíticas e, finalmente, lise celular.

Muitos trabalhos relatam o envolvimento de micoparasitas na deterioração de fungos produtores de escleródios, assim como daqueles patógenos habitantes de solo. A ação antagonica entre *Trichoderma* spp. e *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia tuliparum* e *Sclerotinia minor* foram relatados por Huang, 1980; Davet, 1979; Gladders & Coley Smith, 1980 – citados por Elad et al., 1983. Elad et al., (1983) observou a destruição da parede celular dos patógenos de solo *S. rolfsii* e *R. solani*, por meio da excreção das enzimas β -1,3-glucanase e quitinase pelo *T. harzianum*, quando este entrava em contato direto com os patógenos. Segundo Howell (2003), as quitinases e β -1,3-glucanases produzidas por algumas espécies de *Trichoderma*, são as enzimas chave no processo de lise das paredes celulares durante a ação micoparasítica contra fungos patogênicos. Fungos micoparasitas têm mostrado potencial para o controle de doenças de plantas causado por *S. rolfsii* (MAOA et al., 2000, citado por EL-KATATNY et al., 2001).

O processo de seleção de organismos com potencial de controle biológico envolve não só bioensaios em laboratório, mas também em casa de vegetação e, em maior escala no campo. Conduzindo experimento em casa de vegetação com isolados de *Trichoderma* spp., Patricio et al., (2001) conseguiu reduzir o tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativus* L.) e rabanete (*Raphanus sativus* L.), causados respectivamente por *Pythium aphanidermatum* e *R. solani*. Porém, nesse mesmo trabalho, o tratamento químico, usando metalaxyl + mancozeb, foi o mais eficiente para ambos os patógenos. Noronha et al., (1996) citado por Patricio et al., (2001) verificaram redução do ataque de *R. solani* em plântulas de feijão, por meio do uso de alguns isolados de *Trichoderma* spp.

A interação direta de um fungo com outro, conhecida também por micoparasitismo, pode ser afetada por fatores ambientais, como temperatura, pH, umidade, tipo de solo, radiação solar e nutrição. Daí nota-se a importância do isolamento de microrganismos com capacidade de biocontrole de um determinado patógeno, num determinado ecossistema, já que possivelmente essa potencialidade não

seria exibida em outros habitats, com fatores ecológicos diversos (MELO & AZEVEDO, 2000). Essa mesma interação entre o micoparasita e seu potencial hospedeiro pode ser visualizada por meio de bioensaios em culturas pareadas, em meios de cultura ou em solos esterelizados. Tais estudos permitem a seleção de agentes de controle biológico, com elevado potencial antagônico, para serem testados em maior escala, ou seja, em condições de campo (MARIANO, 1993).

Trichoderma pode se associar com raízes de plantas, por mecanismos similares àqueles de fungos micorrízicos. Ao penetrar raízes, induz a produção de substâncias antimicrobianas, às quais ele próprio apresenta tolerância, resultando na indução de resistência da planta (BENÍTEZ et al., 2004). De forma complementar, o fungo simbiote produz enzimas, proteínas, oligossacarídeos e outras substâncias que provocam mudanças metabólicas na planta e aumentam a sua resistência a bactérias, fungos e vírus (HARMAN et al., 2004).

Além de sua atuação como agentes de controle biológico, muitas linhagens de *Trichoderma* são naturalmente tolerantes a agrotóxicos pela capacidade de degradá-los, o que possibilita um manejo integrado com adoção de produtos químicos e biológicos simultaneamente. Nessa estratégia, doses do pesticida reduzidas a níveis sub-letais enfraquecem as estruturas do patógeno, tornando-o mais susceptível a ação do antagonista e, após ter desempenhado sua função, é biodegradado pelo agente de controle biológico (MELO et al., 2001). Esta é uma habilidade interessante de certos fungos do gênero *Trichoderma*, pois além de se possibilitarem a redução no uso de agrotóxicos, podem degradar xenobióticos, atuando dessa forma, na biorremediação de solos poluídos (ESPOSITO & SILVA, 1998).

3.6. FOSFITO

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 apresenta alta solubilidade em água e em solventes orgânicos sendo absorvidos mais rapidamente por raízes e folhas do que os fosfatos (BLUM et al., 2006; BLUM, 2008; NEVES, 2006; RIBEIRO JUNIOR, 2006).

Os estudos sobre a utilização de fosfitos para o controle de doenças causadas por patógenos não pertencentes ao Filo Oomycota são recentes, como, por exemplo, o trabalho de Brackmann et al., (2004) em frutos de maçã (*Malus domestica* Borkh.) para o controle de *Penicillium* Link e de Ribeiro Júnior et al., (2006) para o controle de *Verticillium dahliae* Kleb. em cacauero.

Os fosfitos são originários da neutralização do ácido fosforoso (H_2PO_3) por uma base que pode ser de hidróxido de sódio, de potássio, de amônio, entre outros, sendo mais utilizado o hidróxido de potássio, formando o fosfito de potássio, que possuem excelentes qualidades sanitárias, com atividades fungicidas, atuando diretamente sobre os fungos ou ativando o mecanismo de defesa das plantas (REUVENI, 1997). Estes compostos podem atuar diretamente, inibindo o crescimento micelial e esporulação do patógeno (FENN & COFFEY, 1989) e indiretamente, ativando mecanismo de defesa da planta (fitoalexinas) (JACKSON et al., 2000). Além de favorecer a prevenção e a cura das enfermidades produzidas por fungos, associa-se o uso de fosfito à melhoria do estado nutricional das plantas, sobretudo nos estágios de maior atividade metabólica, quando a aplicação do produto representaria um fornecimento suplementar de nutrientes, favorecendo o equilíbrio nutricional das plantas e o amadurecimento e qualidade dos frutos (NOJOSA et al., 2005).

Os fosfitos apresentam rápida absorção pelas raízes, folhas e córtex do tronco, com menor exigência de energia da planta, são ainda bons complexantes, favorecendo a absorção de K, Ca, B, Zn, Mo, Mn entre outros nutrientes. As misturas permitidas com outros produtos e algumas formulações de fosfitos podem reduzir o pH da solução, melhorando a eficiência de alguns herbicidas (VITTI et al., 2005).

O uso de formulações à base de fosfitos de potássio tem sido alvo de constantes estudos em varias instituições de pesquisa no Brasil, em culturas como uva, nectarina, manga, rosas, pepino, citros, café, hortaliças, algodão, trigo e soja (IRVING & KUC,

1990; MUCHARROMAH & KUC, 1991; REUVENI et al., 1996). Seu efeito no controle de doenças tem sido observado contra espécies de Oomycetes, como *Phytophthora* em pimentão e *Plasmopara viticola* em videira (FOSTER et al., 1998; GALVÃO et al., 2006). Vários trabalhos vêm comprovando a eficiência dos fosfitos no controle do míldio da videira (DALBÓ & SCHUCK, 2003; SONEGO et al., 2003; GALVÃO et al., 2006).

4. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido no Laboratório de Micologia do Departamento de Fitopatologia do Instituto de Ciências Biológicas e casa de vegetação da Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília – Brasília/DF.

4.1. OBTENÇÃO DOS ISOLADOS DE *SCLEROTIUM ROLFSII*

Os isolados de *S. rolfsii* foram obtidos a partir da coleção micológica da Universidade de Brasília. Nos experimentos foram utilizados dois diferentes isolados para posterior comparação sendo eles nomeados UB 193 e UB 228.

Esses isolados foram cultivados em placas com meio de cultura sólido de batata-dextrose-ágar (BDA) e incubado (25 °C), para estimular a produção de esclerócios de acordo com Punja (1985). Após a produção de esclerócios, estes eram retirados com auxílios de pincel e transferidos para outra placa de Petri, sem meio de cultura para inoculações posteriores.

4.2. OBTENÇÃO DOS ISOLADOS DE *TRICHODERMA* SPP.

Os isolados de *Trichoderma* utilizados nos experimentos pertencem à coleção micológica da Universidade de Brasília e outros a partir de amostras de solos coletadas em áreas com cultivo de soja, sorgo, milheto, eucalipto, alho, cebola, pomar, café, grama, pinus, na estação experimental de biologia da Universidade de Brasília, reserva natural da Universidade Federal de Goiás e nas áreas de bioma Cerrado no Distrito Federal (Tabela 1).

Para obter os isolados das amostras de solos, foi utilizado o método de diluição em série de partículas de solo. Foram adicionados 10g de cada amostra em erlenmeyer contendo 90 mL de água destilada e esterilizada. A segunda diluição transferiu-se 1 mL da primeira diluição para um recipiente com 9 mL de água destilada e esterilizada sendo a diluição 10^{-2} e no mesmo método realizou a diluição 10^{-3} . Após a diluição, pipetou-se 0,1 mL das suspensões 10^{-2} e 10^{-3} , foi distribuído e espalhado em placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo o meio BDA com adição de antibiótico. As placas foram

mantidas em câmara incubadora a 25 °C e fotoperíodo de 12 horas, durante 5 dias. Após esse período as colônias características do gênero foram purificadas e transferidas para o meio de cultura sólido BDA e armazenadas para posteriormente serem utilizadas nos tratamentos.

4.3. AVALIAÇÃO *IN VITRO* DO ANTAGONISMO DO FUNGO *SCLEROTIUM. ROLFSII* POR ISOLADOS DE *TRICHODERMA* SPP. EM CULTURA PAREADA

O antagonismo dos isolados de *Trichoderma* spp. contra *S. rolfsii* foram avaliados em teste de pareamentos. Sendo a avaliação de antagonismo *in vitro* um dos pré-requisitos no programa de seleção de organismos utilizados para o controle biológico de patógenos. Utilizou-se o método de pareamento de culturas em placas de Petri, de acordo com Dennis & Webster (1971). Primeiramente realizou a repicagem dos isolados de *Trichoderma* e *S. rolfsii* em placas com meio de cultura sólido de BDA, e foram acondicionados em incubadoras a 25 °C com fotoperíodo de 12 horas, durante 7 dias. Após esse período na periferia de placas de Petri contendo BDA foram inoculados discos de 5 mm de diâmetro com micélio de todos os isolados do patógeno e do antagonista e incubados nas mesmas condições da repicagem. A disposição dos discos em cada placa foi realizada colocando-se simultaneamente em extremidades opostas da placa.

Como testemunhas, utilizou placas de Petri com cultura de BDA contendo apenas os isolados de *S. rolfsii*. As avaliações foram realizadas ao sétimo dia de incubação, utilizando escala de notas segundo a metodologia de Bell et al., (1982). As escalas de notas são atribuídas notas de 1 a 5 de acordo com o grau de antagonismo: 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 (Figura 1 a e b).

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os dados foram submetidos á análise de variância e as médias geradas foram

submetidas para comparação ao teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05\%$) utilizando o programa Assistat 7.6 beta (2011).

Com os isolados de *Trichoderma* que apresentaram melhor antagonismo em relação ao patógeno realizaram-se também testes em recipientes de plástico transparente.

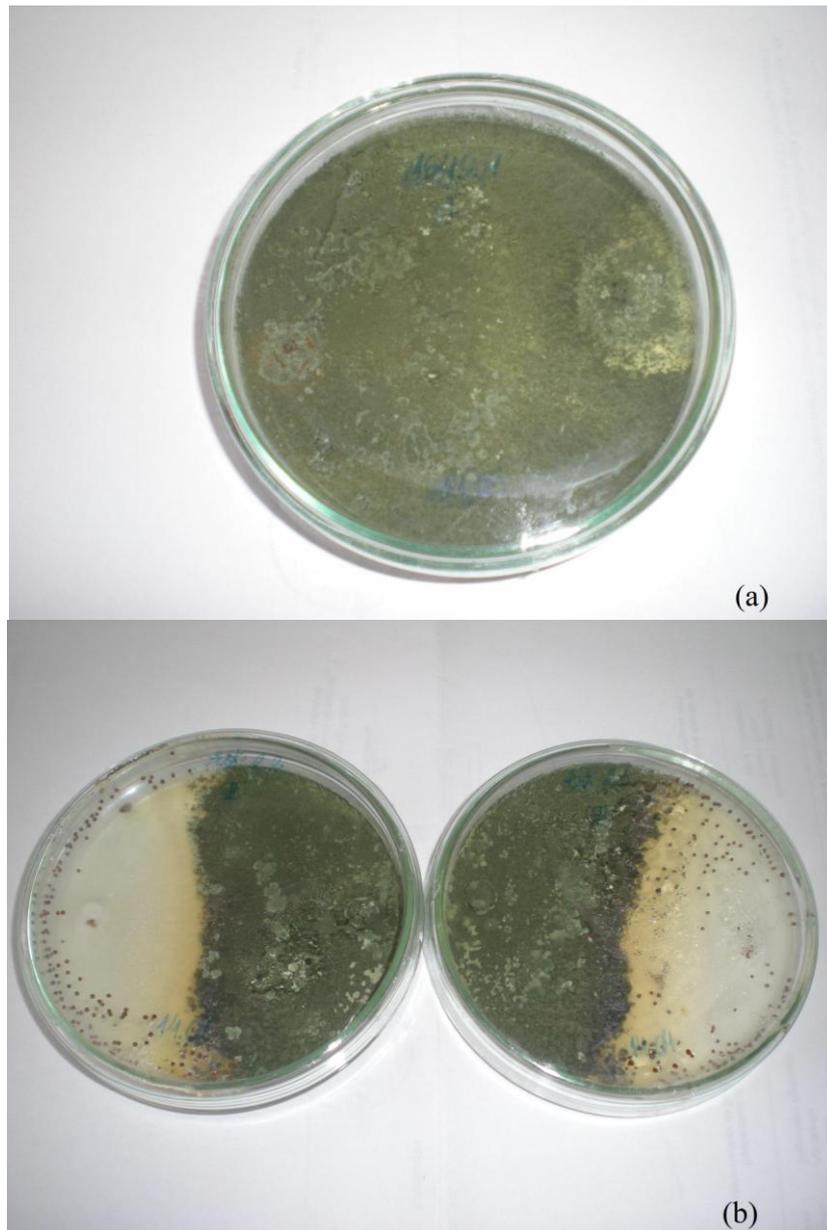


Figura 1. (a) Crescimento do *Trichoderma* sobre o patógeno, ocupando toda a placa. (b) Crescimento do *Trichoderma*, ocupando aproximadamente metade da superfície do meio.

4.4. AVALIAÇÃO DE *TRICHODERMA*, FOSFITO E FUNGICIDAS TRADICIONAIS PARA O CONTROLE DE *SCLEROTIUM ROLFSII* EM RECIPEINTES DE PLÁSTICO TRANSPARENTE

Foram realizados três diferentes experimentos em recipientes de plástico transparente (Tipo-Gerbox®; 11,5 x 11,5 x 3,5 cm) no controle de *S. rolf sii*. Esse experimento foi realizado em teste padrão, onde se avaliou a interação patógeno-antagonista, não realizando plantios.

Utilizaram-se caixas recipientes de plástico transparente, onde primeiramente foi realizada a assepsia dos recipientes com álcool 70%, em seguida adicionou-se 200 g de solo peneirado e autoclavado, acrescido de 70 mL de água destilada e esterilizada. Em cada recipientes de plástico transparente, colocou-se 25 esclerócios de *S. rolf sii* organizados em cinco fileiras de cinco, utilizando pinça de relojoeiro flambada (Figura 2).



Figura 2. Organização dos 25 esclerócios sobre a superfície do solo.

4.4.1. Avaliação de *Trichoderma* spp. sobre a germinação de esclerócios de *Sclerotium rolfii* testados em recipientes de plástico transparente

Nesse experimento foram utilizados 15 isolados de *Trichoderma* que apresentaram melhores resultados no teste de pareamento. Esses isolados foram repicados em meio BDA e armazenados em incubadora a 25 °C com fotoperíodo de 12 horas.

Após 7 dias de incubação, os esporos de casa isolado de *Trichoderma* foram extraídos do substrato com adição de 10 mL de água destilada e esterilizada na placa de Petri, a suspensão conidial foi filtrada em camada dupla de gaze e a concentração de conídios na suspensão foi padronizada a 10^7 conídios/mL, com base em leitura sob lente de 40x, através da contagem de conídios com auxílio de câmera de Neubauer.

O tratamento foi aplicado sobre cada um dos esclerócios na dosagem de 20 µl da suspensão de 10^7 conídios/mL. A suspensão preparada foi agitada frequentemente quando aplicada para evitar acúmulo de material ao fundo. Os recipientes de plástico transparente apenas com estruturas de resistência dos isolados de *S. rolfii* foram utilizados como testemunha.

Em seguida os recipientes de plástico transparente foram incubados em incubadora a 25 °C com fotoperíodo de 12 h. As avaliações foram realizadas, aos sétimo e decimo-quarto dia, anotando o número de esclerócios germinados.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizados, com quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias geradas foram submetidas para comparação pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05\%$) utilizando o programa “ASSISTAT Versão” 7.6 beta (2011).

4.4.2. Avaliação de fosfitos sobre a germinação de esclerócios de *Sclerotium rolfii* testados em recipientes de plástico transparente

No experimento em recipientes de plástico transparente com fosfito, utilizaram-se 11 diferentes doses recomendadas pelos fabricantes para utilização destes produtos [Fosfito Cu (25% P_2O_5 + 5% Cu; Fitofós Cu) - 2,5 mL/L; Fosfito Zn (40% P_2O_5 + 10% Zn; Phytogard Zn) - 2,5 mL/L; Fosfito K1 (40% P_2O_5 + 20% K_2O ; Phytogard K) 2,50 mL/L; Fosfito Mg1 (30% P_2O_5 + 4% Mg; Phytogard Mg) 3,0 mL/L; Fosfito Ca1 (30% P_2O_5 + 7% Ca; Phytogard Ca) - 3,0 mL/L; Fosfito Ca2 (10% P_2O_5 + 6% Ca; Fitofós Ca)

- 4,0 mL/L; Fosfito K2 (40% P₂O₅ + 20% K₂O; Fitofós K Plus) 1,50 mL/L; Fosfito Mg2 (40% P₂O₅ + 6% Mg; 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] e Fosfito K5 (27% P₂O₅ + 27% K₂O; Hortifós PK) 3,00 mL/L].

Os tratamentos foram aplicados sobre cada um dos esclerócios na dose de 20 µl na concentração recomendada para cada fosfito. Os recipientes de plástico transparente apenas com estruturas de resistência dos isolados de *S. rolfsii* foram utilizados como testemunhas. Em seguida os recipientes de plástico transparente foram incubados em incubador a 25 °C com fotoperíodo de 12 h. As avaliações foram realizadas, aos sétimo e decimo-quarto dia, anotando o número de esclerócios germinados.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizados, com quatro repetições de 25 esclerócios. Os dados foram submetidos á análise de variância e as médias geradas foram submetidas para comparação pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05%) utilizando o programa “ASSISTAT Versão” 7.6 beta (2011).

4.4.3. Avaliação de Químicos e *Trichoderma* comercial sobre a germinação de esclerócios de *Sclerotium rolfsii* testados em recipientes de plástico transparente

Neste experimento utilizaram-se tratamentos químicos tradicionais e *Trichoderma* comercial. As doses dos produtos utilizados foram de acordo com a recomendação dos fabricantes descritos nos rótulos comerciais.

Os produtos químicos utilizados foram: Tebuconazol (250 g/L; Folicur) – 1L/ha; Tiofanato-Metílico (500 g/L; Support) – 1L/ha; Procimidona (500 g/kg; Sumilex 500 WP) – 2 kg/ha; Carbendazim (500 g/Kg; Derosal 500 WP) – 1 L/ha. E os *Trichoderma* comercial foram: *Trichoderma* WG (*T. asperellum* 1x10¹⁰ ufc/g; Quality WG) – 100g/ha; *Trichoderma* PM (*T. harzianum* 1,5x10¹⁰ ufc/g; Trichodermax PM) – 100 g/ha; *Trichoderma* SP (*T. harzianum* 4x10¹⁰ ufc/g; Trichodermil SP organic) – 40 g/ha.

Os tratamentos foram aplicados sobre cada um dos esclerócios na dose de 20 µl na concentração recomendada para cada produto. Os recipientes de plástico transparente apenas com estruturas de resistência dos isolados de *S. rolfsii* foram utilizados como testemunhas. Em seguida os recipientes de plástico transparente foram incubados em incubador a 25°C com fotoperíodo de 12 h. As avaliações foram realizadas, aos sétimo e decimo-quarto dia, anotando o número de esclerócios germinados.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizados, com quatro repetições de 25 esclerócios. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias geradas foram submetidas para comparação ao teste de Tukey ($P \leq 0,05\%$) utilizando o programa “ASSISTAT Versão” 7.6 beta (2011).

4.5. ENSAIOS EM CASA DE VEGETAÇÃO

Os ensaios em casa de vegetação foram conduzidos na Estação Biológica da Universidade de Brasília, com a cultura do feijoeiro (cultivar Pérola), em vasos plásticos com capacidade de 3 kg, contendo solo autoclavado (121°C/1 hora), cuja fertilidade foi previamente corrigida de acordo com a recomendação para a cultura do feijoeiro (Figura 3).

4.5.1. Avaliação de *Trichoderma* em casa de vegetação

No experimento em casa de vegetação, foram utilizados os 15 isolados de *Trichoderma* testados no experimento em recipientes de plástico transparente. Os propágulos do patógeno e do antagonista foram cultivados em erlenmeyer com grãos de arroz que foram submersos em água destilada por duas horas e em seguida autoclavados a 120 °C durante 20 minutos (SERRA & SILVA, 2005). Após a autoclavagem adicionaram-se discos de micélio de 0,5 cm de colônias com *Trichoderma* em BDA e dos isolados de *S. rolfsii* com sete dias de idade. Os frascos foram mantidos em incubadora a 25 °C, com fotoperíodo de 12 horas, durante sete dias. Após este período, os grãos já se encontravam colonizados em sua totalidade.

As inoculações do solo com o *Trichoderma* e o patógeno foram feitas simultaneamente, utilizando 10 g de arroz colonizado por kg de solo e a semeadura em seguida, utilizando 8 sementes de feijão por vaso. A testemunha não foi inoculada, realizando apenas o plantio das sementes. E para melhor comparação, aplicou-se um tratamento somente com a inoculação do *S. rolfsii* seguido da semeadura.

As avaliações foram realizadas a cada 7 dias, durante 42 dias. Avaliando a porcentagem de plantas vivas. Ao final do experimento realizou a pesagem da matéria seca da parte aérea e raiz.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizados, com cinco repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias geradas foram submetidas para comparação pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05\%$) utilizando o programa “ASSISTAT Versão” 7.6 beta (2011).

4.5.2. Avaliação de Fosfitos em casa de vegetação

No experimento em casa de vegetação com fosfito, utilizaram-se 9 diferentes doses recomendadas pelos fabricantes para utilização destes produtos [Fosfito Cu (25% P_2O_5 + 5% Cu; Fitofós Cu) - 2,5 mL/L; Fosfito K1 (40% P_2O_5 + 20% K_2O ; Phytogard K) 2,50 mL/L; Fosfito Mg1 (30% P_2O_5 + 4% Mg; Phytogard Mg) 3,0 mL/L; Fosfito Ca1 (30% P_2O_5 + 7% Ca; Phytogard Ca) - 3,0 mL/L; Fosfito Ca2 (10% P_2O_5 + 6% Ca; Fitofós Ca) - 4,0 mL/L; Fosfito K2 (40% P_2O_5 + 20% K_2O ; Fitofós K Plus) 1,50 mL/L; Fosfito K3 (20% P_2O_5 + 20% K_2O ; Nutex Premium 00-20- 20) 1,75 mL/L; Fosfito K4 (30% P_2O_5 + 20% K_2O ; Nutex Preminum 00-30-20) 1,75 mL/L e Fosfito K5 (27% P_2O_5 + 27% K_2O ; Hortifós PK) 3,00 mL/L].

Foram semeadas 4 sementes de feijão por vaso, após 20 dias de emergência das plantas foi realizada a inoculação colocando 2 esclerócios próximos ao colo em cada planta de feijão com auxílio de uma pinça de relojoeiro. A aplicação dos tratamentos foi realizada pipetando 20 μ l da solução de fosfito, diluída de acordo com a recomendação, em cima de cada esclerócio e como testemunha realizou-se apenas a inoculação do patógeno com 2 esclerócios, sem aplicação de nenhum produto.

As plantas foram avaliadas quanto a severidade a cada 7 dias, durante 5 semanas. Para a avaliação utilizou-se escala de notas: (0) Plantas livres da doença; (1) Crescimento micelial próximo ao colo; (2) Crescimento micelial próximo ao colo e início de lesão; (3) Lesão no colo; (4) Lesão e murcha; (5) Murcha severa; (6) Planta morta. Ao final do experimento realizou-se a pesagem da matéria seca da parte aérea

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias geradas foram submetidas para comparação pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05\%$) utilizando o programa “ASSISTAT Versão” 7.6 beta (2011).

4.5.3. Avaliação de Químicos e *Trichoderma* comercial em casa de vegetação

Os produtos químicos utilizados foram: Tebuconazol (250 g/L; Folicur) – 1L/ha; Tiofanato-Metílico (500 g/L; Support) – 1 L/ha; Procimidona (500 g/kg; Sumilex 500 WP) – 2 kg/ha; Carbendazim (500 g/kg; Derosal 500 WP) – 1 L/ha. E os produtos à base de *Trichoderma* foram: *Trichoderma* WG (*T. asperellum* 1×10^{10} ufc/g; Quality WG) – 100 g/ha; *Trichoderma* PM (*T. harzianum* $1,5 \times 10^{10}$ ufc/g; Trichodermax PM) – 100 g/ha; *Trichoderma* SP (*T. harzianum* 4×10^{10} ufc/g; Trichodermil SP organic) – 40 g/ha. As doses dos produtos utilizados foram de acordo com a recomendação dos fabricantes descritos nos rótulos comerciais.

Foram semeadas 4 sementes de feijão por vaso, após 20 dias de emergência das plantas foi realizada a inoculação colocando 2 esclerócios próximos ao colo em cada planta de feijão com auxílio de uma pinça de relojoeiro. A aplicação dos tratamentos foi realizada pipetando 20 µl da solução de fosfito, diluída de acordo com a recomendação, em cima de cada esclerócio e como testemunha realizou-se apenas a inoculação do patógeno com 2 esclerócios, sem aplicação de nenhum produto.

As plantas foram avaliadas quanto a severidade a cada 7 dias, durante 5 semanas. Para a avaliação utilizou-se escala de notas: (0) Plantas livres da doença; (1) Crescimento micelial próximo ao colo; (2) Crescimento micelial próximo ao colo e início de lesão; (3) Lesão no colo; (4) Lesão e murcha; (5) Murcha severa; (6) Planta morta (Figura 4). Final do experimento realizou a pesagem da matéria seca da parte aérea.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias geradas foram submetidas para comparação pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05\%$) utilizando o programa “ASSISTAT Versão” 7.6 beta (2011).

Tabela 1. 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	<i>Trichoderma</i> sp. Solo – DF – Soja	131	<i>Trichoderma</i> sp. Solo – DF – Grama	1639	<i>T. viride</i> UB
7	<i>Trichoderma</i> sp. Solo – DF – Milheto	132	<i>Trichoderma</i> sp. Solo – DF – Grama	1640	<i>T. pilluliferum</i> UB
8	<i>Trichoderma</i> sp. Solo – DF – Eucalipto	136	<i>Trichoderma</i> sp. Solo – DF – Soja	1641	<i>T. harzianum</i> UB
9	<i>Trichoderma</i> sp. Solo – DF – Eucalipto	137	<i>Trichoderma</i> sp. Solo – DF – Pinus	1642	<i>Trichoderma</i> sp. UB
11	<i>Trichoderma</i> sp. Solo – DF – Cebola	245	<i>Trichoderma</i> sp. UB	1643	<i>Trichoderma</i> sp. UB
12	<i>Trichoderma</i> sp. Solo – DF – Cebola	518	<i>Trichoderma</i> sp. UB	1644	<i>Trichoderma</i> sp. UB
13	<i>Trichoderma</i> sp. Solo – DF – Cebola	1168	<i>T. reesei.</i> UB	1645	<i>Trichoderma</i> sp. UB
15	<i>Trichoderma</i> sp. Solo – DF – Alho	1169	<i>Trichoderma</i> sp. UB	1646	<i>Trichoderma</i> sp. UB
23	<i>Trichoderma</i> sp. Solo – DF – Pomar	1330	<i>Trichoderma</i> sp. UnB	1647	<i>Trichoderma</i> sp. UB
24	<i>Trichoderma</i> sp. Solo – DF – Cerrado	1523	<i>Trichoderma</i> sp. UB	1649	<i>Trichoderma</i> sp. UB
25	<i>Trichoderma</i> sp. Solo – DF – Cerrado	1525	<i>Trichoderma</i> sp. UB	1650	<i>Trichoderma</i> sp. UB
102	<i>Trichoderma</i> sp. Solo – DF – Soja	1526	<i>Trichoderma</i> sp. UB	1700	<i>Trichoderma</i> sp. UB
103	<i>Trichoderma</i> sp. Solo – DF – Soja	1528	<i>Trichoderma</i> sp. UB	1742	<i>T. harzianum</i> UB
104	<i>Trichoderma</i> sp. Solo – DF – Cerrado	1529	<i>Trichoderma</i> sp. UB	1743	<i>T. koningii</i> UB
109	<i>Trichoderma</i> sp. Solo – DF – Sorgo	1574	<i>T. viride</i> UB	1744	<i>T. longibrachiatum</i> UB
112	<i>Trichoderma</i> sp. UB	1575	<i>T. koningii</i> UB	E 2	<i>Trichoderma</i> sp. EEB-UnB
113	<i>Trichoderma</i> sp. Solo – DF – Milheto	1576	<i>T. pseudokoningii</i> UB	E 5	<i>Trichoderma</i> sp. EEB-UnB
116	<i>Trichoderma</i> sp. Solo – DF – Soja	1577	<i>T. harzianum</i> UB	E 6	<i>Trichoderma</i> sp. EEB-UnB
118	<i>Trichoderma</i> sp. Solo – DF – Soja	1578	<i>T. koningii</i> UB	E 7	<i>Trichoderma</i> sp. EEB-UnB
122	<i>Trichoderma</i> sp. Solo – DF – Cerrado	1581	<i>Trichoderma</i> sp. UB	SG	<i>Trichoderma</i> sp. Solo - Faz. S. G.
123	<i>Trichoderma</i> sp. Solo – DF – Cerrado	1637	<i>T. longibrachiatum</i> UB	UFG	<i>Trichoderma</i> sp. Solo - R. N. UFG
127	<i>Trichoderma</i> sp. Solo – DF – Café	1638	<i>T. aureoviride</i> UB	-	-

UB = Universidade de Brasília; EEB-UnB = Estação Experimental de Biologia da UnB; R. N. = Reserva natural.



Figura 3. Visão geral dos experimentos em casa de vegetação.



Figura 4. Podridão no colo da planta de feijoeiro causado por *Sclerotium rolfsii*.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. TRICHODERMA

No experimento *in vitro* utilizando pareamento (Tabela 2), foram testados 65 isolados de *Trichoderma* spp. No pareamento com isolado de *S. rolfsii* UB 193 observou-se que 54 isolados de *Trichoderma* spp. testados apresentaram controle sobre o crescimento do patógeno. Com relação ao isolado de *S. rolfsii* UB 228, os números de *Trichoderma* spp. que apresentaram melhores controles foram 49 isolados, menor em relação ao isolado UB 193. Esses isolados receberam notas menores ou iguais a 3, onde o crescimento de *Trichoderma* ocupa aproximadamente metade da superfície do meio.

No teste de pareamento mostraram que 16 isolados de *Trichoderma* testados apresentaram melhores níveis de antagonismo ao *S. rolfsii*, os isolados foram: 5, 11, 12, 15, 102, 103, 127, 136, 137, 1525, 1637, 1642, 1643, 1649, 1700 e Est 5, tanto para o isolado UB 193 quanto ao isolado UB 228. O isolado de *Trichoderma* sp. que apresentou maior capacidade de inibição do crescimento micelial dos dois isolados *S. rolfsii* foi o número 15, coletado em solo do Distrito Federal com cultivo de alho e os isolados 5, 102, 137, 1642, 1649 e Estação 5, também apresentaram resultados de redução, com a escala de nota menor do que 2, onde o crescimento de *Trichoderma* ocupa mais de 2/3 da superfície do meio. Resultado semelhante foi observado no trabalho realizado por Ávila et al. (2005), para isolado CEN 219 (Itaforte) apresentou nota 2 de acordo com a classificação de Bell et al. (1982), classificado como altamente antagonico, sendo um isolado usado comercialmente no controle biológico. Silveira et al. (1994) relatou a capacidade variável dos isolados de *Trichoderma* spp. de inibir o crescimento micelial e a produção de esclerócio de *S. rolfsii* em feijão e caupi.

O primeiro trabalho que relatou *Trichoderma* como agente de controle biológico foi descrito por Weindling (1932). Desde então vem se relatando vários trabalhos com uso de *Trichoderma* como agente de controle de diversos patógenos. Segundo Melo (1996) as interações do antagonismo de *Trichoderma* pode atuar pela via parasitismo, antibiose e competição. Elad et al., (1982), relata que as enzimas como quitinase e glucanase, excretadas pelo *Trichoderma*, estão envolvidas na lise de células dos patógenos *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*. No trabalho realizado por Melo &

Faull (2000) mostraram que diferentes isolados de *Trichoderma*, inibiram o crescimento de *Rhizoctonia solani*, chegando a reduzir em mais de 60% seu crescimento.

No teste em recipientes de plásticos realizados com os *Trichoderma* spp. foram testados os isolados que apresentaram melhores resultados no teste de pareamento, tanto para o isolado UB 193 quanto ao UB 228. Não foi testado o isolado 1642, por não apresentar esporulação para a preparação da suspensão e contagem dos esporos em câmara de Neubauer. Com o isolado UB 193 (Tabela 3), apenas dois isolados de *Trichoderma* dos 15 testados apresentaram controle acima de 50 % na germinação dos esclerócios no décimo-quarto dia de avaliação, sendo o *Trichoderma* 1649 com o melhor resultado de eficiência de controle, com 68% no sétimo dia e 77% no décimo quarto dia, e o isolado 1525 com 47% no sétimo dia e 53% no décimo quarto dia. Quanto ao isolado de UB 228 (Tabela 4), oito isolados de *Trichoderma* apresentaram controle acima de 50 % no decimo-quarto dia, foram os isolados 5 (67%), 12 (63%), 15 (60%), 102 (56%), 1525 (67%), 1637 (58%), 1649 (75%) e Est 5 (54%), todos apresentaram diferenças estatística da testemunha.

O uso de ensaios *in vitro* apresenta uma importância na pesquisa por analisar o controle do *Trichoderma* sobre o patógeno *S. rolfisii*, devido à rapidez e praticidade dos ensaios. De acordo com Michereff (2005) um bom programa de controle biológico deve basear em experimentos *in vitro* e *in vivo*. Mas tem relatos que os excelentes resultados com antagonistas obtidos *in vitro* podem não ser confirmados *in vivo*, sendo que esses organismos estão sujeitos às reações diferenciais do hospedeiro e do ambiente (HARMAN, 1991). Esses resultados do uso de controle biológico com *Trichoderma* spp. mostra a importância e viabilidade do uso de antagonismos no controle de patógenos que produzem esclerócios, sendo que o uso de produtos químicos ainda não apresentam bons resultados de controle.

No experimento realizado em casa de vegetação com os 15 isolados de *Trichoderma* testados em recipientes plásticos, contra o isolado UB 193 de *S. rolfisii* (Tabela 5), pode-se destacar no final das avaliações 6 isolados de *Trichoderma* spp. apresentaram maior taxa na germinação de sementes (5, 102, 103, 127, 1525 e 1649), não diferindo significativamente da testemunha, tratamento sem inoculação do patógeno ou *Trichoderma* apenas com plantio das sementes de feijão. O isolado 1643 apresentou o menor número de plantas com uma média de 0,40 plantas seguido do isolado 15 com uma média de 2 plantas por vaso, não apresentando diferença estatística do tratamento com apenas a inoculação do *S. rolfisii*. No experimento com o isolado UB 228 em casa

de vegetação (Tabela 6) pode-se destacar 4 isolados de *Trichoderma* (12, 102, 103 e 1649), com maior número de plantas germinadas, não diferindo significativamente da testemunha. O isolado 15 e 1643 mostrou baixo potencial de controle, igual ou menor de uma planta de feijão germinada por vaso, não diferindo significativamente do tratamento inoculado apenas com o patógeno.

Os resultados obtidos nos testes *in vitro*, não coincidem exatamente com os obtidos no teste *in vivo* que foram testados os isolados que apresentaram grande potencial antagonico, onde dos 15 testados, sete isolados de diferentes áreas cultivadas apresentaram controle sobre o patógeno, fato que de acordo com Mariano (1993) relata que tal ocorrência pode gerar uma rejeição quanto às seleções realizadas *in vitro*. Lousada et al., (2009) mostrou que bons antagonistas de isolados de *Trichoderma* estão dispersos por diferentes regiões e cultivos onde a maioria dos isolados foram submetidos ao contato com o patógenos e distúrbios como preparo do solo e aplicação de insumos.

Observando os dados obtidos no teste *in vivo*, pode afirmar que o controle biológico, com o uso de *Trichoderma*, pode ser considerado uma alternativa no controle de patógenos, podendo adicionar o uso de outras estratégias de controle, para ter sucesso no manejo da doença. Blum & Rodrigues-Kabana (2004), relataram que a adição de resíduos orgânicos ao solo, favoreceu a colonização de esclerócios pelo *Trichoderma* spp., reduziu a quantidade de plantas mortas e doenças de soja (*Glycine max*) e Pereira Neto & Blum, (2010) observou que a adição de palha de milho ao solo favoreceu a redução da podridão do colo (*Sclerotium rolfsii*) em feijoeiro e estimulou o aumento da população natural de *Pseudomonas* do grupo fluorescentes. Gørgen et al., (2009) observou que a aplicação do *T. harzianum* 1306 em tratamentos com *B. ruziziensis* aumentou o número de esclerócios de *S. sclerotiorum* parasitados por *Trichoderma* na soja em áreas do cerrado.

Quanto ao peso da matéria seca da parte aérea e da raiz contra os isolados 193 e 228 de *S. rolfsii* (Tabela 7), observou-se com o isolado 193, que o peso seco da parte aérea foram significativamente mais elevados quando tratados os isolados 5, 102, 103, 127 e 1649, sendo esses os que apresentaram melhores resultados na avaliação do número de plantas germinadas realizados em vaso, com exceção do isolado 1525. Os isolados não apresentaram diferença significativa em relação à testemunha no peso seco da raiz, com exceção do isolado 1643 que apresentou diferença significativa observando o menor peso de raiz dos isolados testados. O peso da parte aérea com o isolado 228 foram

significamente mais elevados quando tratados com os isolados 12, 102, 103, 136, 137, 1525 e 1649, o tratamento que apresentou o melhor resultado foi o isolado 1649, podendo observar que o mesmo foi o que apresentou melhor controle tanto para o isolado UB 193 quanto ao UB 228 em casa de vegetação. O peso seco da raiz não foi observado diferenças em relação à testemunha. Carvalho et al., (2011) observaram que o uso de *Trichoderma harzianum* apresentou valores médios de comprimento da parte aérea superiores aos outros tratamentos, revelando que o *Trichoderma* foi capaz de influenciar o desenvolvimento de parte aérea de feijoeiro.

Observando os dados com o uso de *Trichoderma* pode-se constatar que é uma alternativa viável para o controle do fungo *S. rolfsii* e outros e possuem a vantagem de serem inócuos ao ser humano (MELO, 1996) e não causarem impacto negativo no meio ambiente (PATRICIO et al., 2001).

Tabela 2- Reação antagonista *in vitro*, através da escala de Bell (1 a 5) aos 7 dias, de *Trichoderma* spp. (TR) contra *Sclerotium rolfisii* (UB 193 e UB 288).

TR	UB 193	UB 288	TR	UB 193	UB 288	TR	UB 193	UB 288
Test	5,00 ⁽¹⁾ a	5,00 a	UFG	3,00 c	3,25 c	1581	2,25 d	3,00 c
518	4,50 b ⁽²⁾	4,75 a	23	2,75 c	3,25 c	5	2,00 d	2,00 d
1640	4,25 b	5,00 a	104	2,75 c	4,25 b	9	2,00 d	3,50 c
109	4,00 b	5,00 a	113	2,75 c	3,00 c	24	2,00 d	3,00 c
13	3,50 c	3,00 c	116	2,75 c	3,00 c	25	2,00 d	3,00 c
118	3,25 c	3,75 b	131	2,75 c	2,75 c	102	2,00 d	2,00 d
1330	3,25 c	3,75 b	245	2,75 c	3,00 c	103	2,00 d	2,50 d
1523	3,25 c	4,00 b	1169	2,75 c	2,50 d	122	2,00 d	2,75 c
1529	3,25 c	3,00 c	1526	2,75 c	3,00 c	127	2,00 d	2,50 d
1647	3,25 c	4,00 b	1577	2,75 c	2,75 c	132	2,00 d	3,00 c
1742	3,25 c	3,25 c	1644	2,75 c	3,25 c	136	2,00 d	2,25 d
1743	3,25 c	2,75 c	1650	2,75 c	2,25 d	137	2,00 d	2,00 d
7	3,00 c	2,75 c	1744	2,75 c	2,75 c	1525	2,00 d	2,25 d
112	3,00 c	3,00 c	Est 02	2,75 c	2,25 d	1637	2,00 d	2,50 d
1168	3,00 c	3,00 c	8	2,50 d	3,25 c	1643	2,00 d	2,50 d
1575	3,00 c	3,00 c	123	2,50 d	3,00 c	1700	2,00 d	2,25 d
1576	3,00 c	3,50 c	1638	2,50 d	2,75 c	Est 05	2,00 d	2,00 d
1578	3,00 c	3,00 c	1641	2,50 d	3,00 c	12	1,75 e	2,5 d
1639	3,00 c	3,25 c	1646	2,50 d	3,00 c	1642	1,75 e	1,75 d
Est 06	3,00 c	3,00 c	11	2,25 d	2,00 d	1645	1,50 e	5,00 a
Est 07	3,00 c	2,75 c	1528	2,25 d	3,00 c	1649	1,50 e	2,00 d
S. G	3,00 c	3,00 c	1574	2,25 d	3,00 c	15	1,00 e	1,75 d
-	-	-	-	-	-	CV(%) ⁽³⁾	15,56	14,17

- (1) Escala de notas: 1 = *Trichoderma* cresce completamente sobre o patógeno, ocupando toda a placa; 2 = *Trichoderma* ocupa pelo menos 2/3 da superfície do meio; 3 = tanto o *Trichoderma* como o patógeno ocupam metade da superfície do meio (mais de 1/3 e menos de 2/3) e aparentemente não ocorre domínio de nenhum; 4 = o patógeno ocupa pelo menos 2/3 da superfície do meio e parece resistir à competição com o *Trichoderma*; 5 = o patógeno cresce completamente sobre o *Trichoderma*, ocupando toda a placa. (2) Médias na coluna seguidas por letras iguais não diferem entre si (Scott-Knott, $P \leq 5\%$). (3) Coeficiente de variação.

Tabela 3- Percentual de esclerócios de *Sclerotium rolfii* (UB 193) germinados (EG), aos 7° e 14° dia após a aplicação dos tratamentos com *Trichoderma* spp. e dados estatísticos transformados em porcentagem de esclerócios de *Sclerotium rolfii* controlados (% EC).

TRATAMENTO	<i>S. rolfii</i> UB 193			
	% EG ⁽¹⁾ 7 dias	% EC	% EG 14 dias	% EC
Testemunha	100 a ⁽²⁾	0 ⁽³⁾	100 a	0
5	85 ab	15	76 ab	24
11	91 ab	9	86 ab	14
12	82 ab	18	78 ab	22
15	89 ab	11	81 ab	19
102	82 ab	18	67 bc	33
103	90 ab	10	91 ab	9
127	86 ab	14	86 ab	14
136	75 bc	25	77 ab	23
137	70 bc	30	68 bc	32
1525	53 cd	47	47 cd	53
1637	69 bc	31	67 bc	33
1643	83 ab	17	63 bc	37
1649	32 d	68	23 d	77
1700	85 ab	15	81 ab	19
Est 05	90 ab	10	77 ab	23
D.M. S⁽⁴⁾	5,88	-	7,14	-
CV(%⁽⁵⁾	11,67	-	15,31	-

(1) Média de quatro repetições com 25 esclerócios.

(2) Médias na coluna seguidas por letras iguais não diferem entre si (Tukey, $P \leq 5\%$).

(3) Dados estatísticos transformados em porcentagem de esclerócios controlados.

(4) Diferença mínima significativa (Tukey, $P \leq 5\%$).

(5) Coeficiente de variação.

Tabela 4- Percentual de esclerócios de *Sclerotium rolfsii* (UB 228) germinados (EG), aos 7º e 14º dia após a aplicação dos tratamentos com *Trichoderma* spp. e dados estatísticos transformados em porcentagem de esclerócios de *Sclerotium rolfsii* controlados (% EC).

TRATAMENTO	<i>S. rolfsii</i> UB 228			
	% EG ⁽¹⁾ 7 dias	% EC	% EG 14 dias	% EC
Testemunha	100 a ⁽²⁾	0 ⁽³⁾	100 a	0%
5	46 bc	54	33 c	67
11	89 a	11	86 ab	14
12	46 bc	54	37 c	63
15	53 bc	47	40 c	60
102	52 bc	48	44 c	56
103	83 a	17	83 ab	17
127	90 a	10	91 ab	9
136	88 a	11	86 ab	14
137	83 a	17	75 b	25
1525	36 c	64	33 c	67
1637	41 c	59	42 c	58
1643	86 a	14	81 ab	19
1649	27 c	73	25 c	75
1700	73 ab	27	75 b	25
Est 05	38 c	62	46 c	54
D.M. S⁽⁴⁾	5,81		5,07	-
CV(%)⁽⁵⁾	17,44		15,98	-

(1) Média de quatro repetições com 25 esclerócios.

(2) Médias na coluna seguidas por letras iguais não diferem entre si (Tukey, $P \leq 5\%$).

(3) Dados estatísticos transformados em porcentagem de esclerócios controlados.

(4) Diferença mínima significativa (Tukey, $P \leq 5\%$).

(5) Coeficiente de variação.

Tabela 5. Número de plantas assintomáticas de feijoeiro (Cultivar Pérola) durante seis semanas após a aplicação de isolados de *Trichoderma* spp. em solo com *Sclerotium rolfsii* (UB 193).

TRATAMENTO	<i>S. rolfsii</i> UB 193					
	1°	2°	3°	4°	5°	6°
Testemunha ⁽¹⁾	5,6 ⁽²⁾ a ⁽³⁾	6,2 a	6,6 a	6,6 a	6,6 a	6,6 a
<i>S. rolfsii</i> ⁽⁴⁾	0,0 b	0,2 b	0,0 d	0,0 d	0,0 d	0,0 d
5	3,2 ab	4,8 a	5,2 ab	5,2 ab	5,0 ab	5,0 ab
11	1,4 ab	3,0 ab	3,6 a-d	3,8 a-d	3,6 a-d	3,4 a-d
12	2,8 ab	4,2 ab	4,2 abc	4,2 abc	4,2 abc	4,2 abc
15	2,8 ab	2,8 ab	2,0 bcd	2,0 bcd	2,0 bcd	2,0 bcd
102	3,8 ab	6,6 a	6,6 a	6,6 a	6,6 a	6,4 a
103	4,2 ab	5,8 a	6,0 ab	6,0 ab	6,0 ab	6,0 a
127	3,2 ab	5,0 a	5,0 ab	5,0 ab	4,6 ab	4,8 ab
136	3,0 ab	3,4 ab	3,4 a-d	3,4 a-d	3,2 a-d	3,2 a-d
137	2,4 ab	3,0 ab	2,8 a-d	2,8 a-d	2,6 a-d	3,0 a-d
1525	2,6 ab	6,0 a	6,2 a	6,0 ab	6,0 ab	6,0 a
1637	3,2 ab	4,2 ab	4,4 abc	4,2 abc	4,4 abc	4,0 abc
1643	0,6 b	0,6 b	0,4 cd	0,4 cd	0,4 cd	0,4 cd
1649	3,4 ab	5,8 a	6,0 ab	5,6 ab	6,0 ab	5,8 ab
1700	3,2 ab	4,2 ab	4,2 abc	4,4 abc	4,2 abc	4,2 abc
EST 5	2,2 ab	4,0 ab	3,8 a-d	3,80 a-d	3,8 a-d	3,6 a-d
D.M.S. ⁽⁵⁾	4,36	4,07	4,01	4,03	4,08	3,95

(1) Testemunha sem *Sclerotium rolfsii* e sem antagonista;

(2) Média de cinco repetições de oito plantas;

(3) Médias na coluna seguidas por letras iguais não diferem entre si (Tukey, $P \leq 5\%$);

(4) *Sclerotium rolfsii* sem antagonista.

(5) Diferença mínima significativa (Tukey, $P \leq 5\%$).

Tabela 6. Número de plantas assintomáticas de feijoeiro (Cultivar Pérola) durante seis semanas após a aplicação de isolados de *Trichoderma* spp. em solo com *Sclerotium rolfii* (UB 228).

TRATAMENTO	<i>S. rolfii</i> UB 228					
	1°	2°	3°	4°	5°	6°
Testemunha ⁽¹⁾	6,6 ⁽²⁾ a ⁽³⁾	6,8 ab	6,6 abc	6,6 a-d	6,4 abc	6,4 a-d
<i>S. rolfii</i> ⁽⁴⁾	0,0 e	0,0 f	0,0 e	0,0 g	0,0 f	0,0 g
5	3,2 a-e	4,4 a-e	4,4 a-d	4,4 a-f	4,6 a-e	4,4 a-f
11	1,0 de	2,6 c-f	2,6 cde	2,4 efg	2,4 def	2,6 d-g
12	5,4 ab	6,8 ab	6,6 abc	6,8 abc	6,6 ab	6,6 abc
15	1,8 b-e	1,8 def	0,8 de	0,8 fg	0,8 ef	0,8 fg
102	5,4 ab	7,8 a	7,8 a	7,6 a	7,4 a	7,8 a
103	4,4 a-d	6,6 ab	7,0 ab	6,8 abc	6,6 ab	6,8 abc
127	1,4 cde	2,6 c-f	2,6 cde	2,6 d-g	2,4 def	2,6 d-g
136	4,4 a-d	5,0 a-d	4,0 a-e	3,8 a-g	3,8 a-f	3,8 b-g
137	3,6 a-e	4,4 a-e	4,4 a-d	4,4 a-f	4,4 a-e	4,4 a-f
1525	5,2 abc	6,0 abc	5,0 abc	5,2 a-e	5,0 a-d	5,0 a-f
1637	3,2 a-e	3,0 b-f	3,0 b-e	2,8 cdefg	2,4 def	2,4 efg
1643	1,0 de	1,0 ef	0,8 de	0,8 fg	1,0 ef	1,0 fg
1649	6,4 a	7,2 a	7,2 a	7,2 ab	7,2 a	7,2 ab
1700	1,6 b-e	2,6 c-f	2,8 cde	2,8 c-g	2,6 c-f	2,6 d-g
EST 5	2,4 b-e	4,0 a-e	3,8 a-e	3,2 b-g	3,2 b-f	3,2 c-g
D.M.S. ⁽⁵⁾	3,93	3,98	4,07	4,00	3,87	3,88

(1) Testemunha sem *Sclerotium rolfii* e sem antagonista;

(2) Média de cinco repetições de oito plantas;

(3) Médias na coluna seguidas por letras iguais não diferem entre si (Tukey, $P \leq 5\%$).

(4) *Sclerotium rolfii* sem antagonista.

(5) Diferença mínima significativa (Tukey, $P \leq 5\%$).

Tabela 7. Produção de matéria seca (g/planta) da parte aérea e raiz do feijoeiro tratados com isolados de *Trichoderma* spp., sob casa de vegetação.

TRATAMENTO	<i>S. rolfii</i> UB 193		<i>S. rolfii</i> UB 228	
	Parte aérea	Raiz	Parte aérea	Raiz
Testemunha ⁽¹⁾	7,81 a ⁽²⁾	1,89 a	8,61 a	1,25 ab
<i>S. rolfii</i> ⁽³⁾	0,00 d	0,00 c	0,00 d	0,00 b
5	4,68 abc	1,45 abc	3,87 bcd	1,31 ab
127	4,51 abc	1,62 ab	2,92 cd	0,86 ab
11	3,16 bcd	1,04 abc	2,96 cd	0,90 ab
12	4,12 a-d	0,89 abc	5,00 abc	2,39 ab
15	2,72 bcd	0,79 abc	1,20 cd	1,42 ab
102	5,23 ab	1,01 abc	5,62 abc	3,42 a
103	4,53 abc	1,06 abc	4,28 a-d	1,60 ab
136	3,86 a-d	0,62 abc	4,07 a-d	0,91 ab
137	3,80 a-d	0,91 abc	5,33 abc	1,08 ab
1525	2,98 bcd	0,61 abc	4,33 a-d	1,11 ab
1637	3,58 bcd	1,32 abc	3,29 bcd	0,86 ab
1643	0,62 cd	0,17 bc	1,74 cd	0,51 ab
1649	6,41 ab	1,02 abc	7,79 ab	1,43 ab
1700	3,37 bcd	1,11 abc	2,56 cd	0,90 ab
EST 5	2,83 bcd	1,39 abc	3,43 bcd	1,05 ab
D.M.S. ⁽⁴⁾	4,19	1,49	4,65	3,08

(1) Testemunha sem *Sclerotium rolfii* e sem antagonista;

(2) Médias na coluna seguidas por letras iguais não diferem entre si (Tukey, $P \leq 5\%$).

(3) *Sclerotium rolfii* sem antagonista.

(4) Diferença mínima significativa (Tukey, $P \leq 5\%$).

5.2. FOSFITO

No experimento realizado em recipientes plásticos com fosfito, foram testadas onze diferentes formulações com os dois isolados de *S. rolfsii*, UB 193 e UB 228. Com o isolado UB 193 (Tabela 8), no décimo quarto dia de avaliação, seis formulações de fosfitos apresentaram redução na germinação do *S. rolfsii* em relação à testemunha, sendo os fosfitos: Fosfito Mg1 (30% P₂O₅ + 4% Mg Phytogard Mg) 3,0 mL/L; Fosfito K1 (40% P₂O₅ + 20% K₂O Phytogard K) 2,50 mL/L; Fosfito Cu (25% P₂O₅ + 5% Cu Fitofós Cu) - 2,5 mL/L; ; Fosfito K2 (40% P₂O₅ + 20% K₂O Fitofós K Plus) 1,50 mL/L; Fosfito K5 (27% P₂O₅ + 27% K₂O Hortifós PK) 3,0 mL/L; Fosfito Ca1 (30% P₂O₅ + 7% Ca Phytogard Ca) - 3,0 mL/L. O Fosfito Ca1 (30% P₂O₅ + 7% Ca Phytogard Ca) - 3,0 mL/L foi o único que apresentou maior controle com diferença em relação a todos os tratamentos aplicados e a testemunha, com um controle de 57% dos esclerócios. Quanto ao isolado UB 228 (Tabela 9), oito formulações de fosfitos testados demonstraram controle na germinação dos esclerócios por apresentarem diferença estatística em relação à testemunha sendo o Fosfito K4 (30% P₂O₅ + 20% K₂O; Nutex Premium 00-30-20) 1,75 mL/L; Fosfito Ca2 (10% P₂O₅ + 6% Ca; Fitofós Ca) - 4,0 mL/L; Fosfito K1 (40% P₂O₅ + 20% K₂O; Phytogard K) 2,50 mL/L; Fosfito K3 (20% P₂O₅ + 20% K₂O; Nutex Premium 00-20- 20) 1,75mL/L; Fosfito Cu (25% P₂O₅ + 5% Cu; Fitofós Cu) - 2,5 mL/L; Fosfito K2 (40% P₂O₅ + 20% K₂O; Fitofós K Plus) 1,50 mL/L; Fosfito K5 (27% P₂O₅ + 27% K₂O; Hortifós PK) 3,00 mL/L; Fosfito Ca1 (30% P₂O₅ + 7% Ca; Phytogard Ca) 3, 00 mL/L. O Fosfito K2 (40% P₂O₅ + 20% K₂O; Fitofós K Plus) 1,50 mL/L foi o que apresentou maior controle na germinação de esclerócio, com 84 % de eficiência. Trabalho realizado por Moreira & May-De Mio (2006) no controle da podridão parda do pessegueiro (*Prunus pérsica* (L.) Batsch) mostrou que o fosfito K foi mais efetivo que o de Ca, sendo que quando fosfito de Ca não controlou a doença quando comparado com a testemunha contrário ao isolado UB 193 com o Fosfito Ca1 apresentou melhor controle do que os Fosfitos K. De acordo com Soyes (2002), o uso de fosfito tem a propriedade de estimular a defesas da planta e apresentam uma característica com efeito fungicida, atuando diretamente sobre o patógeno.

No experimento em casa de vegetação, com o isolado UB 193 (Tabela 10) mostrou que o tratamento Fosfito Ca 1 apresentou diferença significativa da testemunha o qual foi inoculada somente com *S. rolfsii*, a partir da terceira semana e na quinta semana de avaliação os tratamentos que destacaram apresentando diferença significativa

da testemunha foram: Fosfito K2 (40% P₂O₅ + 20% K₂O; Fitofós K Plus) 1,50 mL/L; Fosfito Ca1 (30% P₂O₅ + 7% Ca; Phytogard Ca) - 3,0 mL/L; Fosfito Mg1 (30% P₂O₅ + 4% Mg; Phytogard Mg) 3,0 mL/L. Andreu & Caldiz (2006), observou que o desenvolvimento de lesões causadas por *Phytophthora infestans* em tubérculos de batata apresentaram diminuição dos diâmetros das colônias dos patógenos que foram tratados com fosfitos de K do fosfito Ca.

Com o isolado UB 228 (tabela 11), nenhum tratamento no final da avaliação apresentou diferença significativa da testemunha, observando que o isolado UB 228, apresenta pouca patogenicidade quando se compara ao isolado UB 193. A testemunha que é apenas com a inoculação do *S. rolfsii* apresentou baixa taxa de severidade, por isso que os tratamentos não apresentaram diferença significativa. Quanto à produção de matéria seca da parte aérea do isolado UB 193, foi observada maior produção com diferença significativa, entre os tratamentos Fosfito K5 (27% P₂O₅ + 27% K₂O; Hortifós PK) 3,00 mL/L) e Fosfito Ca2 (10% P₂O₅ + 6% Ca; Fitofós Ca) - 4,0 mL/L. Quanto à produção de matéria seca da parte aérea do isolado 228 não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 12).

Trabalho realizado por Matiello et al., (2002), observou com aplicação de fosfito de potássio ocorreu a redução na severidade da ferrugem (*Hemileia vastatrix*) do cafeeiro na Zona da Mata de Minas e Boneti et al., (2002) verificaram redução na severidade da sarna (*Venturia inaequalis*) da macieira em folhas e frutos com a aplicação de fosfito de cálcio. De acordo com Dianese et al., (2009) verificaram uma maior redução da podridão-do-pé (*Phytophthora palmivora*) do mamoeiro, com o uso do fosfito (40% P₂O₅ + 20% K₂O). Os derivados de ácido fosforoso possuem propriedades indutoras de resistência nos vegetais (WILD et al., 1998) podendo reduzir a esporulação dos patógenos, possibilitando com isso a redução na intensidade das doenças (PANICKER & GANGADHARAN, 1999).

O uso de fosfito apresentou como uma alternativa junto aos fungicidas e *Trichoderma*, buscando o fosfito a uma atuação quanto à indução de substâncias de autodefesa, as fitoalexinas. E estão sendo empregados para o controle de doenças em pessegueiro contra *M. frutícola* (MOREIRA, 1999), em macieira (*Malus domestica* Borkh) contra *Phytophthora* spp. Butler, *Venturia inaequalis* (Cooke) Winter e *Colletotrichum* spp. (Penz.) (BONETI; KATSURAYAMA, 2002), e em videira (*Vitis vinifera* L.) contra *Plasmopara viticola* (Berk. et Curtis) (DALBÓ; SCHUCK, 2003; SÔNEGO et al., 2003).

Tabela 8- Percentual de esclerócios de *Sclerotium rolfsii* (UB 193) germinados (EG), aos 7° e 14° dia após a aplicação dos tratamentos com fosfitos e dados estatísticos transformados em porcentagem de esclerócios de *Sclerotium rolfsii* controlados (% EC).

TRATAMENTO	<i>S. rolfsii</i> UB 193			
	% EG ⁽¹⁾ 7 dias	% EC	% EG 14 dias	% EC
1- Testemunha	100 a ⁽²⁾	0 ⁽³⁾	100 a	0
2- Fosfito K 1 ⁽⁶⁾	83 bc	17	75 cd	25
3- Fosfito K 2	55 e	45	53 ef	47
4- Fosfito K3	98 a	2	92 a	8
5- Fosfito K 4	100 a	0	99 a	1
6- Fosfito K 5	63 de	37	62 de	38
7- Fosfito Ca 1	41 f	59	43 f	57
8- Fosfito Ca 2	100 a	0	98 a	2
9- Fosfito Mg 1	78 c	22	78 bc	22
10- Fosfito Mg 2	99 a	1	100 a	0
11- Fosfito Zn	92 ab	8	89 ab	11
12- Fosfito Cu	74 cd	26	64 de	36
D.M.S. ⁽⁴⁾	3,44	-	3,44	-
CV (%) ⁽⁵⁾	6,8	-	7,13	-

(1) Média de quatro repetições com 25 esclerócios.

(2) Médias na coluna seguidas por letras iguais não diferem entre si (Tukey, $P \leq 5\%$)

(3) Dados estatísticos transformados em porcentagem de esclerócios controlados.

(4) Diferença mínima significativa (Tukey, $P \leq 5\%$).

(5) Coeficiente de variação.

(6) Fosfito Cu (25% P_2O_5 + 5% Cu; Fitofôs Cu) - 2,5 mL/L; Fosfito Zn (40% P_2O_5 + 10% Zn; Phytogard Zn) - 2,5 mL/L; Fosfito K1 (40% P_2O_5 + 20% K_2O ; Phytogard K) 2,50 mL/L; Fosfito Mg1 (30% P_2O_5 + 4% Mg; Phytogard Mg) 3,0 mL/L; Fosfito Ca1 (30% P_2O_5 + 7% Ca; Phytogard Ca) - 3,0 mL/L; Fosfito Ca2 (10% P_2O_5 + 6% Ca; Fitofôs Ca) - 4,0 mL/L; Fosfito K2 (40% P_2O_5 + 20% K_2O ; Fitofôs K Plus) 1,50 mL/L; Fosfito Mg2 (40% P_2O_5 + 6% Mg; Fitofôs Mg) - 1,5 mL/L, Fosfito K3 (20% P_2O_5 + 20% K_2O ; Nutex Premium 00-20- 20) 1,75 mL/L; Fosfito K4 (30% P_2O_5 + 20% K_2O ; Nutex Preminum 00-30-20) 1,75 mL/L e Fosfito K5 (27% P_2O_5 + 27% K_2O ; Hortifôs PK) 3,00 mL/L).

Tabela 9- Percentual de esclerócios de *Sclerotium rolfsii* (UB 228) germinados (EG), aos 7º e 14º dia após a aplicação dos tratamentos com fosfitos e dados estatísticos transformados em porcentagem de esclerócios de *Sclerotium rolfsii* controlados (% EC).

TRATAMENTO	<i>S. rolfsii</i> UB 228			
	% EG ⁽¹⁾ 7 dias	% EC	EG 14 dias	% EC
Testemunha	100 a ⁽²⁾	0 ⁽³⁾	100 a	0
Fosfito K 1 ⁽⁶⁾	48 c	52	48 bcd	52
Fosfito K 2	14 d	86	16 e	84
Fosfito K3	54 c	46	50 bc	50
Fosfito K 4	58 bc	42	64 b	36
Fosfito K 5	20 d	80	21 de	79
Fosfito Ca 1	33 cd	67	29 cde	71
Fosfito Ca 2	52 c	48	50 bc	50
Fosfito Mg 1	96 a	4	97 a	3
Fosfito Mg 2	83 ab	17	76 ab	24
Fosfito Zn	93 a	7	93 a	7
Fosfito Cu	42 cd	58	26 cde	74
D.M.S. ⁽⁴⁾	6,92	-	6,84	-
CV (%) ⁽⁵⁾	19,89	-	20,48	-

(1) Média de quatro repetições com 25 esclerócios.

(2) Médias na coluna seguidas por letras iguais não diferem entre si (Tukey, $P \leq 5\%$).

(3) Dados estatísticos transformados em porcentagem de esclerócios controlados.

(4) Diferença mínima significativa (Tukey, $P \leq 5\%$).

(5) Coeficiente de variação.

(6) Fosfito Cu (25% P_2O_5 + 5% Cu; Fitofôs Cu) - 2,5 mL/L; Fosfito Zn (40% P_2O_5 + 10% Zn; Phytogard Zn) - 2,5 mL/L; Fosfito K1 (40% P_2O_5 + 20% K_2O ; Phytogard K) 2,50 mL/L; Fosfito Mg1 (30% P_2O_5 + 4% Mg; Phytogard Mg) 3,0 mL/L; Fosfito Ca1 (30% P_2O_5 + 7% Ca; Phytogard Ca) - 3,0 mL/L; Fosfito Ca2 (10% P_2O_5 + 6% Ca; Fitofôs Ca) - 4,0 mL/L; Fosfito K2 (40% P_2O_5 + 20% K_2O ; Fitofôs K Plus) 1,50 mL/L; Fosfito Mg2 (40% P_2O_5 + 6% Mg; Fitofôs Mg) - 1,5 mL/L, Fosfito K3 (20% P_2O_5 + 20% K_2O ; Nutex Premium 00-20- 20) 1,75 mL/L; Fosfito K4 (30% P_2O_5 + 20% K_2O ; Nutex Premium 00-30-20) 1,75 mL/L] e Fosfito K5 (27% P_2O_5 + 27% K_2O ; Hortifôs PK) 3,00 mL/L).

Tabela 10. Uso ou efeito do fosfito no controle de *S. rolfsii* (UB 193) em mudas de feijoeiro, sob casa de vegetação.

TRATAMENTO	<i>S. rolfsii</i> UB 193				
	Semana				
	1°	2°	3°	4°	5°
Testemunha	1,10 ⁽²⁾ a ⁽¹⁾	1,75 a	2,15 a	2,25 a	2,50 a
Fosfito K 1⁽⁴⁾	1,50 a	2,00 a	1,90 ab	1,90 ab	1,75 ab
Fosfito K 2	0,65 a	1,00 a	1,30 ab	1,00 ab	0,90 b
Fosfito K3	1,55 a	1,80 a	2,20 a	2,00 a	1,50 ab
Fosfito K 4	0,50 a	1,00 a	1,10 ab	1,00 ab	1,00 ab
Fosfito K 5	0,70 a	0,75 a	0,85 ab	0,90 ab	1,20 ab
Fosfito Ca 1	0,55 a	0,55 a	0,55 b	0,45 b	0,55 b
Fosfito Ca 2	0,95 a	1,20 a	1,25 ab	1,10 ab	1,00 ab
Fosfito Mg 1	0,70 a	0,85 a	0,90 ab	0,85 ab	0,70 b
Fosfito Cu	0,85 a	0,90 a	1,20 ab	0,95 ab	0,95 ab
D.M.S.⁽³⁾	1,26 ^{n.s.}	1,55 ^{n.s.}	1,56	1,49	1,47

- (1) Médias na coluna seguidas por letras iguais não diferem entre si (Tukey, $P \leq 5\%$), ns não significativo ($P \leq 5\%$).
- (2) Escala de notas: 0 = Plantas livres da doença; 1 = Crescimento micelial próximo ao colo; 2 = Crescimento micelial próximo ao colo e início de lesão; 3 = Lesão no colo; 4 = Lesão e murcha; 5 = Murcha severa; 6 = Planta morta.
- (3) Diferença mínima significativa (Tukey, $P \leq 5\%$).
- (4) Fosfito Cu (25% P_2O_5 + 5% Cu; Fitofós Cu) - 2,5 mL/L; Fosfito K1 (40% P_2O_5 + 20% K_2O ; Phytogard K) 2,50 mL/L; Fosfito Mg1 (30% P_2O_5 + 4% Mg; Phytogard Mg) 3,0 mL/L; Fosfito Ca1 (30% P_2O_5 + 7% Ca; Phytogard Ca) - 3,0 mL/L; Fosfito Ca2 (10% P_2O_5 + 6% Ca; Fitofós Ca) - 4,0 mL/L; Fosfito K2 (40% P_2O_5 + 20% K_2O ; Fitofós K Plus) 1,50 mL/L; Fosfito K3 (20% P_2O_5 + 20% K_2O ; Nutex Premium 00-20- 20) 1,75 mL/L; Fosfito K4 (30% P_2O_5 + 20% K_2O ; Nutex Preminum 00-30-20) 1,75 mL/L e Fosfito K5 (27% P_2O_5 + 27% K_2O ; Hortifós PK) 3,00 mL/L).

Tabela 11. Uso ou efeito do fosfito no controle de *S. rolfsii* (UB 228) em mudas de feijoeiro, sob casa de vegetação.

TRATAMENTO	<i>S. rolfsii</i> UB 228				
	Semana				
	1°	2°	3°	4°	5°
Testemunha	0,80 ⁽²⁾ a ⁽¹⁾	1,30 a	1,45 a	1,45 a	1,50 a
Fosfito K 1⁽⁴⁾	0,85 a	1,25 a	1,15 ab	1,15 a	1,15 a
Fosfito K 2	0,45 a	0,55 a	0,50 ab	0,65 a	0,65 a
Fosfito K3	0,05 a	0,30 a	0,10 b	0,45 a	0,45 a
Fosfito K 4	0,40 a	0,80 a	0,95 ab	0,70 a	0,70 a
Fosfito K 5	0,75 a	0,80 a	0,85 ab	0,95 a	0,95 a
Fosfito Ca 1	0,75 a	0,50 a	1,05 ab	0,90 a	1,05 a
Fosfito Ca 2	0,50 a	1,20 a	0,95 ab	1,00 a	1,05 a
Fosfito Mg 1	0,60 a	1,00 a	1,20 ab	1,35 a	1,35 a
Fosfito Cu	0,10 a	0,45 a	0,40 ab	0,55 a	0,60 a
D.M.S. ⁽³⁾	1,14 ^{n.s.}	1,15 ^{n.s.}	1,25	1,31 ^{n.s.}	1,22 ^{n.s.}

(1) Médias na coluna seguidas por letras iguais não diferem entre si (Tukey, $P \leq 5\%$), ns não significativo ($P \leq 5\%$).

(1) Escala de notas: 0 = Plantas livres da doença; 1 = Crescimento micelial próximo ao colo; 2 = Crescimento micelial próximo ao colo e início de lesão; 3 = Lesão no colo; 4 = Lesão e murcha; 5 = Murcha severa; 6 = Planta morta.

(2) Diferença mínima significativa (Tukey, $P \leq 5\%$).

(3) Fosfito Cu (25% P_2O_5 + 5% Cu; Fitofós Cu) - 2,5 mL/L; Fosfito K1 (40% P_2O_5 + 20% K_2O ; Phytogard K) 2,50 mL/L; Fosfito Mg1 (30% P_2O_5 + 4% Mg; Phytogard Mg) 3,0 mL/L; Fosfito Ca1 (30% P_2O_5 + 7% Ca; Phytogard Ca) - 3,0 mL/L; Fosfito Ca2 (10% P_2O_5 + 6% Ca; Fitofós Ca) - 4,0 mL/L; Fosfito K2 (40% P_2O_5 + 20% K_2O ; Fitofós K Plus) 1,50 mL/L; Fosfito K3 (20% P_2O_5 + 20% K_2O ; Nutex Premium 00-20- 20) 1,75 mL/L; Fosfito K4 (30% P_2O_5 + 20% K_2O ; Nutex Preminum 00-30-20) 1,75 mL/L e Fosfito K5 (27% P_2O_5 + 27% K_2O ; Hortifós PK) 3,00 mL/L).

Tabela 12. Matéria seca (g/planta) da parte aérea do feijoeiro tratados com fosfitos, sob casa de vegetação.

TRATAMENTO	<i>S. rolfsii</i> UB 193	<i>S. rolfsii</i> UB 228
	Parte aérea	Parte aérea
Testemunha	2,43 b ⁽¹⁾	4,21 a
Fosfito K 1 ⁽³⁾	6,52 ab	9,46 a
Fosfito K 2	7,33 ab	7,01 a
Fosfito K3	6,61 ab	6,65 a
Fosfito K 4	7,63 ab	8,78 a
Fosfito K 5	8,19 a	7,79 a
Fosfito Ca 1	5,45 ab	7,69 a
Fosfito Ca 2	8,17 a	6,91 a
Fosfito Mg 1	6,65 ab	5,58 a
Fosfito Cu	5,59 ab	6,73 a
Planta	6,43 ab	6,43 a
D.M.S. ⁽²⁾	5,72	5,46 ^{n.s.}

(1) Médias na coluna seguidas por letras iguais não diferem entre si (Tukey, $P \leq 5\%$), ns não significativo ($P \leq 5\%$).

(2) Diferença mínima significativa (Tukey, $P \leq 5\%$).

(3) Fosfito Cu (25% P_2O_5 + 5% Cu; Fitofôs Cu) - 2,5 mL/L; Fosfito K1 (40% P_2O_5 + 20% K_2O ; Phytogard K) 2,50 mL/L; Fosfito Mg1 (30% P_2O_5 + 4% Mg; Phytogard Mg) 3,0 mL/L; Fosfito Ca1 (30% P_2O_5 + 7% Ca; Phytogard Ca) - 3,0 mL/L; Fosfito Ca2 (10% P_2O_5 + 6% Ca; Fitofôs Ca) - 4,0 mL/L; Fosfito K2 (40% P_2O_5 + 20% K_2O ; Fitofôs K Plus) 1,50 mL/L; Fosfito K3 (20% P_2O_5 + 20% K_2O ; Nutex Premium 00-20- 20) 1,75 mL/L; Fosfito K4 (30% P_2O_5 + 20% K_2O ; Nutex Preminum 00-30-20) 1,75 mL/L e Fosfito K5 (27% P_2O_5 + 27% K_2O ; Hortifôs PK) 3,00 mL/L.

5.3. Químicos e *Trichoderma* comercial

Nesse experimento em recipiente de plástico, foram testados quatro diferentes produtos químicos e três *Trichoderma* comercial. No teste com inoculação do isolado UB 193 (Tabela 13), no décimo quarto dia de avaliação, dois tratamentos diferiram significativamente da testemunha apresentando uma redução na germinação do esclerócio de *S. rolfsii*. Os tratamentos foram o *Trichoderma* comercial Trichodermil SP organic, com 51% de controle e o químico Carbendazim com 19 % de controle, apresentando uma baixa porcentagem de controle em relação aos experimentos anteriores utilizando os tratamentos de fosfitos e isolados de *Trichoderma* spp.

Quanto ao isolado UB 228 (Tabela 14), no décimo quarto dia de avaliação, três tratamentos diferiram significativamente da testemunha, apresentando melhores resultado de controle do esclerócio do que com o isolado UB 193, observado com a execução dos outros experimentos que o isolado UB 228 apresenta uma menor severidade na doença do que o isolado UB 193. Os tratamentos que apresentaram melhores resultados foram Trichodermil Sp Organic (71%), Tebuconazol (61%) e Carbendazim (34%).

No experimento em casa de vegetação nas 5 avaliações semanais, tanto o isolado UB 193 (Tabela 15) e UB 228 (Tabela 16), apenas um tratamento diferiu significativamente da testemunha, o tratamento com produto químico Tebuconazole. Sendo que no experimento em recipientes de plásticos apenas o isolado UB 228 apresentou controle eficiente sobre o esclerócio com o tratamento Tebuconazol. Quanto ao peso da matéria seca da parte aérea (Tabela 17), apenas o tratamento Quality WG diferiu significativamente da testemunha no isolado UB 193, os outros tratamentos tanto com o isolado UB 193 e UB 228 não apresentaram diferença significativa em relação à testemunha, cujo tratamento é apenas com a inoculação do *S. rolfsii*.

Duarte et al., (2006) no controle químico da podridão-das-estacas (*Sclerotium rolfsii*) onde os ensaios confirmaram a eficácia do fungicida Tebuconazol na cultura da pimenteira-do-reino na inibição do crescimento de colônias e na germinação de escleródios, e outros resultados com eficiência do fungicida obtidos com algodão (PRAHBU & HIRAMOTH, 2003) e com amendoim (BRANCH & BRENNEMAN, 1996).

De acordo com Venegas et al., (2008) o fungicida Procimidone foi eficiente no controle do mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) do feijoeiro, observado que no

controle de *Sclerotium rolfsii* o produto Procimidona não apresentou controle da doenças na dose utilizada.

Segundo Luz (2003), com intuito de tratar sementes de trigo foi misturados um fungicida com um antagonista, foi observado que o fungicida realiza o controle inicial do patógeno e o antagonista provoca o efeito residual se desenvolvendo e persistindo nas raízes, reduzindo futura infecção dos patógenos e atrasando o desenvolvimento da resistência dos patógenos ao fungicida, e para a eficiência do tratamento observou se o fungicida é compatível ao antagonista. O mesmo autor informou que, com a integração do controle biológico e químico, os efeitos na emergência do rendimento foram maiores quando houve a integração das duas formas de controle, mesmo quando as doses foram reduzidas pela metade. McLean et al. (2001) mostraram que *Trichoderma harzianum* menos sensível a Procimidona e Captan do que Mancozeb, Tebuconazole e Thiram mas que inibia a germinação dos esporos do *Trichoderma*.

Tabela 13- Percentual de esclerócios de *Sclerotium rolfii* (UB 193) germinados (EG), aos 7º e 14º dia após a aplicação dos fungicidas e *Trichoderma* comercial e dados estatísticos transformados em porcentagem de esclerócios de *Sclerotium rolfii* controlados (% EC).

TRATAMENTO	<i>S. rolfii</i> UB 193			
	% EG ⁽¹⁾ 7 dias	% EC	% EG 14 dias	% EC
Testemunha	100 a ⁽²⁾	0 ⁽³⁾	100 a	0
Tebuconazol ⁽⁶⁾	95 ab	5	95 ab	5
<i>Trichoderma</i> WG	99 a	1	99 a	1
Tiofanato metílico	100 a	0	100 a	0
Procimidona	99 a	1	99 a	1
<i>Trichoderma</i> PM	98 a	2	98 a	2
<i>Trichoderma</i> SP Org.	50 c	50	50 c	51
Carbendazim	81 b	19	81 b	19
D.M.S. ⁽⁴⁾	3,74	-	3,74	-
C.V (%) ⁽⁵⁾	7,15	-	7,15	-

(1) Média de quatro repetições com 25 esclerócios.

(2) Médias na coluna seguidas por letras iguais não diferem entre si (Tukey, P≤ 5%).

(3) Dados estatísticos transformados em porcentagem de esclerócios controlados.

(4) Diferença mínima significativa (Tukey, P≤ 5%).

(5) Coeficiente de variação.

(6) Tebuconazol (250 g/L; Folicur) – 1L/ha; Tiofanato-Metílico (500g/L; Support) – 1L/ha; Procimidona (500g/kg; Sumilex 500 WP) – 2kg/ha; Carbendazim (500g/kg; Derosal 500 WP) – 1L/ha. E os *Trichoderma* comercial foram: *Trichoderma* WG (*Trichoderma asperellum* 1x10¹⁰ ufc/g; Quality WG) – 100g/ha; *Trichoderma* PM (*Trichoderma harzianum* 1,5x10¹⁰ ufc/g; Trichodermax PM) – 100g/ha; *Trichoderma* SP (*Trichoderma harzianum* 4x10¹⁰ ufc/g; Trichodermil SP organic) – 40g/ha

Tabela 14- Percentual de esclerócios de *Sclerotium rolfii* (UB 228) germinados (EG), aos 7º e 14º dia após a aplicação dos fungidas e *Trichoderma* comercial e dados estatísticos transformados em porcentagem de esclerócios de *Sclerotium rolfii* controlados (% EC).

TRATAMENTO	<i>S. rolfii</i> UB 228			
	% EG ⁽¹⁾ 7 dias	% EC	% EG 14 dias	% EC
Testemunha	100 a ⁽²⁾	0 ⁽³⁾	100 a	0
Tebuconazol ⁽⁶⁾	40 bc	60	39 c	61
<i>Trichoderma</i> WG	71 ab	29	94 a	6
Tiofanato metílico	98 a	2	97 a	3
Procimidona	100 a	0	100 a	0
<i>Trichoderma</i> PM	100 a	0	100 a	0
<i>Trichoderma</i> SP Org.	33 c	67	29 c	71
Carbendazim	76 a	24	66 b	34
D.M.S. ⁽⁴⁾	8,56	-	2,65	-
C.V (%) ⁽⁵⁾	19,42	-	6	-

(1) Média de quatro repetições com 25 esclerócios.

(2) Médias na coluna seguidas por letras iguais não diferem entre (Tukey, P ≤ 5%).

(3) Dados estatísticos transformados em porcentagem de esclerócios controlados.

(4) Diferença mínima significativa (Tukey, P ≤ 5%).

(5) Coeficiente de variação.

(6) Tebuconazol (250 g/L; Folicur) – 1L/ha; Tiofanato-Metílico (500g/L; Support) – 1L/ha; Procimidona (500g/kg; Sumilex 500 WP) – 2kg/ha; Carbendazim (500g/kg; Derosal 500 WP) – 1L/ha. E os *Trichoderma* comercial foram: *Trichoderma* WG (*Trichoderma asperellum* 1x10¹⁰ ufc/g; Quality WG) – 100g/ha; *Trichoderma* PM (*Trichoderma harzianum* 1,5x10¹⁰ ufc/g; Trichodermax PM) – 100g/ha; *Trichoderma* SP (*Trichoderma harzianum* 4x10¹⁰ ufc/g; Trichodermil SP organic) – 40g/ha

Tabela 15. Uso ou efeito de produtos químicos e *Trichoderma* comercial no controle de *S. rolfsii* (UB 193) em mudas de feijoeiro, sob casa de vegetação.

TRATAMENTO	<i>S. rolfsii</i> UB 193				
	Semana				
	1°	2°	3°	4°	5°
Testemunha	1,10 ⁽²⁾ a ⁽¹⁾	1,75 a	2,15 ab	2,25 ab	2,40 ab
Tebuconazol ⁽⁴⁾	0,05 b	0,00 b	0,10 c	0,10 c	0,10 c
<i>Trichoderma</i> WG	1,65 a	1,70 a	1,80 ab	2,05 ab	2,35 ab
Tiofanato metílico	1,15 a	1,60 a	1,75 ab	2,00 ab	2,25 ab
Procimidona	0,65 ab	0,85 ab	0,90 bc	1,20 bc	1,15 bc
<i>Trichoderma</i> PM	1,10 a	1,40 ab	1,60 ab	1,70 ab	1,85 ab
<i>Trichoderma</i> SP Org.	1,10 a	1,80 a	2,30 a	2,60 a	2,65 a
Carbendazim	0,90 ab	1,10 ab	1,40 abc	1,45 abc	1,70 ab
D.M.S. ⁽³⁾	1	1,42	1,34	1,38	1,49

(1) Médias na coluna seguidas por letras iguais não diferem entre si (Tukey, $P \leq 5\%$).

(2) Escala de notas: 0 = Plantas livres da doença; 1 = Crescimento micelial próximo ao colo; 2 = Crescimento micelial próximo ao colo e início de lesão; 3 = Lesão no colo; 4 = Lesão e murcha; 5 = Murcha severa; 6 = Planta morta.

(3) Diferença mínima significativa (Tukey, $P \leq 5\%$).

(4) Tebuconazol (250 g/L; Folicur) – 1L/ha; Tiofanato-Metílico (500g/L; Support) – 1L/ha; Procimidona (500g/kg; Sumilex 500 WP) – 2kg/ha; Carbendazim (500g/kg; Derosal 500 WP) – 1L/ha. E os *Trichoderma* comercial foram: *Trichoderma* WG (*Trichoderma asperellum* 1×10^{10} ufc/g; Quality WG) – 100g/ha; *Trichoderma* PM (*Trichoderma harzianum* $1,5 \times 10^{10}$ ufc/g; Trichodermax PM) – 100g/ha; *Trichoderma* SP (*Trichoderma harzianum* 4×10^{10} ufc/g; Trichodermil SP organic) – 40g/ha

Tabela 16. Uso ou efeito de produtos químicos e *Trichoderma* comercial no controle de *S. rolfsii* (UB 228) em mudas de feijoeiro, sob casa de vegetação.

TRATAMENTO	<i>S. rolfsii</i> UB 228				
	Semana				
	1°	2°	3°	4°	5°
Testemunha	0,80 ⁽²⁾ a ⁽¹⁾	1,60 a	1,80 a	1,80 a	1,90 ab
Tebuconazol ⁽⁴⁾	0,05 a	0,05 b	0,25 b	0,25 b	0,25 c
<i>Trichoderma</i> WG	0,75 a	0,85 ab	1,35 ab	1,30 ab	1,40 abc
Tiofanato metílico	1,15 a	1,40 a	1,80 a	1,70 a	2,05 ab
Procimidona	1,05 a	1,10 ab	1,55 ab	1,60 a	1,60 abc
<i>Trichoderma</i> PM	1,05 a	1,15 ab	1,15 ab	1,45 ab	1,60 abc
<i>Trichoderma</i> SP Org.	0,55 a	0,70 ab	0,80 a	0,75 ab	0,65 bc
Carbendazim	1,25 a	1,75 a	2,05 a	2,00 a	2,20 a
Planta ⁽⁵⁾	0	0	0	0	0
D.M.S. ⁽³⁾	1,34 ^{n.s.}	1,18	1,37	1,34	1,44

- (1) Médias na coluna seguidas por letras iguais não diferem entre si (Tukey, $P \leq 5\%$), ns não significativo ($P \leq 5\%$).
- (2) Escala de notas: 0 = Plantas livres da doença; 1 = Crescimento micelial próximo ao colo; 2 = Crescimento micelial próximo ao colo e início de lesão; 3 = Lesão no colo; 4 = Lesão e murcha; 5 = Murcha severa; 6 = Planta morta.
- (3) Diferença mínima significativa (Tukey, $P \leq 5\%$).
- (4) Tebuconazol (250 g/L; Folicur) – 1L/ha; Tiofanato-Metílico (500g/L; Support) – 1L/ha; Procimidona (500g/kg; Sumilex 500 WP) – 2kg/ha; Carbendazim (500g/kg; Derosal 500 WP) – 1L/ha. E os *Trichoderma* comercial foram: *Trichoderma* WG (*Trichoderma asperellum* 1×10^{10} ufc/g; Quality WG) – 100g/ha; *Trichoderma* PM (*Trichoderma harzianum* $1,5 \times 10^{10}$ ufc/g; Trichodermax PM) – 100g/ha; *Trichoderma* SP (*Trichoderma harzianum* 4×10^{10} ufc/g; Trichodermil SP organic) – 40g/há.
- (5) Tratamento sem patógeno não foi utilizado na análise de variância.

Tabela 17. Matéria seca (g/planta) da parte aérea do feijoeiro tratados com produtos químicos e *Trichoderma* comercial, sob casa de vegetação.

TRATAMENTO	<i>S. rolfsii</i> UB 193	<i>S. rolfsii</i> UB 228
	Parte aérea	Parte aérea
Testemunha	2,43 b ⁽¹⁾	4,21 a
Tebuconazol ⁽³⁾	5,74 ab	5,53 a
<i>Trichoderma</i> WG	10,32 a	5,99 a
Tiofanato metílico	5,39 ab	5,80 a
Procimidona	7,52 ab	7,36 a
<i>Trichoderma</i> PM	7,50 ab	8,41 a
<i>Trichoderma</i> SP Org.	5,96 ab	7,02 a
Carbendazim	6,64 ab	5,65 a
Planta	6,43 ab	6,43 a
D.M.S. ⁽²⁾	5,18	6,59 ^{n.s.}

(1) Médias na coluna seguidas por letras iguais não diferem entre si (Tukey, $P \leq 5\%$), ns não significativo ($P \leq 5\%$).

(2) Diferença mínima significativa (Tukey, $P \leq 5\%$).

(3) Tebuconazol (250 g/L; Folicur) – 1L/ha; Tiofanato-Metílico (500g/L; Support) – 1L/ha; Procimidona (500g/kg; Sumilex 500 WP) – 2kg/ha; Carbendazim (500g/kg; Derosal 500 WP) – 1L/ha. E os *Trichoderma* comercial foram: *Trichoderma* WG (*Trichoderma asperellum* 1×10^{10} ufc/g; Quality WG) – 100g/ha; *Trichoderma* PM (*Trichoderma harzianum* $1,5 \times 10^{10}$ ufc/g; Trichodermax PM) – 100g/ha; *Trichoderma* SP (*Trichoderma harzianum* 4×10^{10} ufc/g; Trichodermil SP organic) – 40g/ha

6. CONCLUSÕES

Os isolados de *Trichoderma* 1649, 1525 e 1637 foram os mais eficientes na inibição da germinação de esclerócios de *S. rolfsii* em laboratório. Além disso, os isolados 5, 12, 102, 103, 1525 e 1649 foram eficientes na melhoria do número de plantas de feijoeiro sadias, proporcionando menores índices de mortalidade em casa de vegetação. Realizando outros testes podem apresentar potencial para tornarem produtos biofungicidas no controle de *S. rolfsii*.

O uso de fosfito apresentou controle do patógeno, principalmente os fosfitos de Potássio e Cálcio.

O tratamento químico com Tebuconazol apresentou eficiência no controle do patógeno nos testes *in vivo*. Os produtos comerciais a base de *Trichoderma* não promoveram controle eficiente nas concentrações utilizadas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADANDONON, A. **Damping-off and stem rot of cowpea in Benin caused by *Sclerotium rolfsii***. Pretoria, 2004, 154 f. Tese (Doutorado em Filosofia) – University of Pretoria.

AIDAR, H. **Cultivo do feijoeiro comum: Características da cultura**. <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/CultivodoFeijoeiro/index.htm>, 2007.

ALMEIDA, A. M. R.; ABDELNOOR, R. V.; CALVO, E. S.; TESSNMAN, D.; YORINORI, J. T. Genotypic diversity among brazilian isolates of *Sclerotium rolfsii*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 149, 2001, p.493-502.

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.

ÁVILA, Z. R.; CARVALHO, S. S.; BRAÚNA, L. M.; GOMES, D. M. P. A.; MELLO, S. C. M. **Seleção de isolados de *Trichodermas* spp. antagonísticos a *Sclerotium rolfsii* e *Sclerotinia sclerotiorum***. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005. 30 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 117).

AYCOCK, R. Stem rot and other diseases caused by *Sclerotium rolfsii*. **North Carolina Agricultural Experimental Station Technical Bulletin**, Raleigh, n.174, 1966. 202 p.

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.

BENÍTEZ, T.; RINCÓM, A. M.; LIMON, M. C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology**, Madrid, v. 7, n. 4, p. 249-260, 2004.

BIANCHINI, A., MARINGONI, A. C. & CARNEIRO, S.M.T.P.G. **Doenças do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)**. In: KIMATI, H., AMORIM, L., BERGAMIN FILHO, A., CAMARGO, L.E.A. & REZENDE, J.A.M. São Paulo. Editora Ceres. 1997. P 376-399.

BLUM, L. E. B. **Doenças de plantas: conceitos básicos**. UDESC. Florianópolis. 2002.

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. & RODRIGUES-KÁBANA, R. Effect of organic, amendments on sclerotial germination, mycelial growth, and *Sclerotium rolfsii*-induced diseases. **Fitopatologia Brasileira** 29: 66-74. 2004.

BLUM, L. E. B.; PRADA, A.; MEDEIROS, E. A. A.; AMARANTE, C. V. T. do. Temperatura, luminosidade e meio de cultura afetando a produção de esclerócios de *Sclerotium rolfsii* e *Sclerotinia sclerotiorum*. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, n. 1, 2002, p. 1-7.

BONETI, J.I.S.; KATSURAYAMA, Y. Viabilidade do uso de fosfitos no manejo de doenças da macieira. In: ENFRUTE, 5., 2002, Fraiburgo, SC. **Anais....** Florianópolis: EPAGRI, 2002. 271p. p.125-139.

BONETT, L. P. et al. **Divergência genética em germoplasma de feijoeiro comum coletado no estado do Paraná, Brasil**. Semina: Ciências Agrárias, v. 27, n. 04, p. 547-560, 2006.

BORÉM, A. **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: UFV, 2005. 969p.

BRANCH, W. D.; BRENNEMAN, T. B. Pod yield and stem rot evaluation of peanut cultivars treated with tebuconazole. **Agronomy Journal**, v. 88, n. 6, p. 933-936, 1996.

CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C. M.; LOBO JÚNIOR, M.; SILVA, M. C. Controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* in vitro e em sementes, e promoção do crescimento inicial do feijoeiro comum por *Trichoderma harzianum*. **Tropical Plant Pathology**, v. 36, 1, 028-034, 2011.

CHAVERRI, P., SAMUELS, G. J. & STEWART, E. L. Convergent evolution of *Gliocladium* morphology in *Hypocrea*. Abstratct. Inoculum. **Newsletter of the Mycological Society of America**. Mycologia, p. 15-24, 2000.

CHAVES, K. C.; COSTA, J. L. da S. Influência do método de inoculação e da quantidade de inóculo de *Sclerotium rolfsii* na severidade de podridão do colo do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 25, n. 4, p. 298-302, 1999.

CHET, I. **Microbial control of plant diseases**. In: ENVIRONMENTAL Microbiology. New York: Wley-Liss, 1992. p. 335-354.

CONAB - **Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de grãos 2009/2010**. 2010. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conabweb>. Acesso em: 21 de abril de 2010.

CONAB - **Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de grãos 2011/2012**. 2012. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1253&t=>. Acesso em: 08 de fevereiro de 2012.

CONAB. **Levantamento safra 2008/2009**. Disponível em: http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/estudo_safra.pdf>. Acesso em: 06, Abril, 2010.

DALBÓ, M. A.; SCHUCK, E. Avaliação do uso de fosfitos para o controle do mildio da videira. **Agropecuária Catarinense**. Florianópolis, v.16, n.3, p.33-35, out. 2003.

DEACON, J. W. **Modern mycology**. 3. Ed. Cambridge: Blackwell Science, 1997. 303p.

DENNIS, C. & WEBSTER, J. **Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma***. III. Hyphal interactions. Transactions of the British Mycological Society, Cambridge, v. 57, p. 363-369. 1971.

DENNIS, C.; WEBSTER, J. Production of non-volatile antibiotics. **Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma***. I. Transactions / British Mycological Society, Cambridge, GB, v. 57, p. 25-48, 1971.

DIANESE, A. C.; BLUM, L. E. B.; DUTRA, J. B.; LOPES, L. F. Aplicação de fosfito de potássio, cálcio ou magnésio na redução da podridão-do-pé do mamoeiro em casa de vegetação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 8, p. 2309-2314, 2009.

DUARTE, M. L. R.; TABARANA, M. G. F.; ALBURQUERQUE, F. A. B.; MORAES, A. J. G. **Controle químico de podridão-das-estacas (*Sclerotium rolfsii*) da Pimenteira-do-reino**. Belém: Embrapa Amazonia Oriental, 2006.

EMBRAPA RONDÔNIA. **Doenças do feijoeiro**. In: EMBRAPA RONDÔNIA. Cultivo do feijão comum em Rondônia. Porto Velho: Embrapa Rondônia, Sistema de Produção, 8, 2005.

EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E EXTENSÃO RURAL DE SANTA CATARINA. **Produção de feijão**. Disponível em <<http://www.epagri.rct-sc.br/epagri/index.jsp>>. Acesso em: 2 set. 2008.

ELAD, Y., CHET, I. & HEMIS, Y. Degradation of plant pathogenic fungi by *Trichoderma harzianum*. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 28, p. 719-725. 1982.

ELAD, Y., CHET, I., BOYLE, P. & HENIS, Y. Parasitism of *Trichoderma* spp. on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* electron microscopy and fluorescence microscopy. **Phytopathology**, 73: 85-88. 1983.

EL-KATATNY, M. H., GUDELJ, M., ROBRA, K. H., ELNAGHY, M. A. & GUBITZ, G. M. Characterization of a chitinase and an endo- β -1,3-glucanase from *Trichoderma harzianum* Rifai T24 involved in control of the phytopathogen *Sclerotium rolfsii*. **Applied Microbiology and Biotechnology** 56: 137-143. 2001.

ESPOSITO, E.; SILVA, M. Systematics and environmental application of the genus *Trichoderma*. **Critical Reviews in Microbiology**, Boca Raton, US, v. 24, n. 2, p. 89-98, 1998.

FACHINI, C.; BARROS, V.L.N.P.; RAMOS JUNIOR, E.U.; ITO, M.A.; CASTRO, J.L. Importância do feijão no agronegócio brasileiro. In: 22º DIA DE CAMPO DE FEIJÃO. **Resumos...** Capão Bonito: IAC. 2006, p.1-57.

FANCELLI, A. L. & DOURADO-NETO, D. **Tecnologia da produção de feijão**. Piracicaba. Editora Publique. 1998.

FAO – **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Faostat database. Disponível em: <http://faostat.fao.org/>.

FERREIRA, S. A.; BOLEY, R. A. *Sclerotium rolfsii*. University of Hawaii at Manoa, Department of Plant Pathology, CTARH, 1992.

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**, Saint Paul, v.79, n.3, p.76-82, Apr. 1989.

FORSTER, H.; ADASKAVEG, J. E.; KIM, D. H.; STANGHELLINI, M. E. Effect of Phosphite on Tomato and Pepper Plants and on Susceptibility of Pepper to *Phytophthora* Root and Crown Rot in Hydroponic Culture. **Plant Disease**, v.82, n.10, p.1165-1170, 1998.

GALVÃO, S.; STADNIK, M. J.; PERUCH, L. A. M.; BRUNA, E. D. Avaliação da eficiência de produtos alternativos para o controle do míldio e da antracnose em videira, cultivar Niágara branca. **Revista Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v.19, n.2, p.91-93, jul. 2006.

GONÇALVES, J. G. R. **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.

GÖRGEN, C. A.; SILVEIRA NETO, A. N.; CARNEIRO, L. C.; RAGAGNIN, V.; LOBO JÚNIOR, M. Controle do mofo-branco com palhada e *Trichoderma harzianum* 1306 em soja. **Pesquisa Agropecuária brasileira**, v. 44, n. 12, p. 1583-1590, 2009.

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.

HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species: opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, London, v. 2, n. 1, p. 43-56, 2004.

HARMAN, G.E. 1991. Seed treatment for biological control of plant disease. **Crop Protection**. 10(3):166-171.

HOWELL, C. R. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. **Plant Disease** 87: 4-10. 2003.

IBGE. **Indicadores**. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_200912comentarios.pdf>. Acesso em: 07, maio, 2010.

INDEX FUNGORUM: disponível em: <http://www.indexfungorum.org/names/namesrecord.asp?recordID=309351>> Acesso: 24/novembro, 2011.

IRVING, H. R.; KUC, J. Local and Systemic induction of peroxidase, chitinase and resistance in cucumber plants by K_2HPO_4 . **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.37, n.4, p.355-366, May 1990.

JACK, A.; LEWIS ; PAPAVIDAS, G. C. Biocontrol of plant diseases: the approach for tomorrow. **Crop Protection**, Guildford, GB, n. 10, p. 95-105, 1991.

JACKSON, T. J.; BURGESS, T.; COLQUHOUN, I.; HARDY, G. E. S. (2000). Action of the fungicide phosphate on *Eucalyptus marginata* inoculated with *Phytophthora cinnamomi*, **Plant Pathology**, 49. p.147-154.

JESUS JUNIOR, W. C. de; POLANCZYK, R. A.; PRATISSOLI, D.; PEZZOPANE, J. E. M.; SANTIAGO, T. **Atualidades em Defesa Fitossanitária**, Alegre: Universidade Federal do Espírito Santo, p. 338-385, 2007.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; RESENDE, J. A. M. **Manual de fitopatologia: doenças de plantas**. 4. ed. Piracicaba: Ceres, 2005. v.2, 663 p.

LOPES, C. A.; ÁVILA, A. C. de. Murcha-de-esclerócio (*Sclerotium rolfsii*). In: LOPES, C. A.; ÁVILA, A. C. de. **Doenças em tomateiro**. Brasília: Embrapa Hortaliças, p.39-40, 2005.

LOUZADA, G. A. S.; CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C. M. Potencial antagônico de *Trichoderma* spp. originários de diferentes agroecossistemas contra *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium solani*. **Biota Neotropical**, v. 9, n. 3, 2009.

LUZ, W. C. Avaliação dos tratamentos biológicos e químico na redução de patógenos em sementes de trigo. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n.1, p.93-95, 2003.

MC LEAN, K. L.; HUNT, J.; STEWART, A. Compatibility of the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* C52 with selected fungicides. **New Zealand Plant Protection** 54:84-88, 2001.

MARIANO, R. L. R. Métodos de seleção in vitro para o controle microbiológico de patógenos de plantas. Recife, UFRPE, **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v.1. 1993.

MARTINS, M. V. V.; SILVEIRA, S. F.; CARVALHO, A. J. C.; SOUZA, E. F. Erradicação de esclerócios de *sclerotium rolfsii* em substrato tratados em coletores solares, em Campos dos Goytacazes – RJ. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 3, p. 421-424, Dez. 2003.

MATIELLO, J. B.; FREITAS J. L.; MENDONÇA, S. M.; LOUBACK, A. & FILHO S. S. Competição de híbridos de café resistentes à ferrugem do cafeeiro, no sul de Minas. In: **Anais do 28º CBPC**, Mapa/Procafé, 2002. P. 27-29.

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

MELLO, I. S. Isolamento de agentes de biocontrole da rizosfera. In: MELLO, I. S. & AZEVEDO, J. L. **Controle biológico**, Jaguariúna: EMBRAPA, vol.3. 2000.

MELO, I. S.; LEVANTEZI, K.; SPESSOTO, A. M.; FEICHTENBERGER, E. Degradação do fungicida metalaxial por linhagens de *Trichodermas* spp. isoladas de solos rizosféricos. In: MELO, I. S.; SILVA, C. M. M. S.; SCRAMIN, S.; SPESSOTO, A. (Org.). **Biodegradação**. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2001.

MELO, I. S. & FAULL, J. L. Parasitism of *Rhizoctonia solani* by strains of *Trichoderma* sp. **Scientia Agricola** 57: 55-59. 2000.

MELO, I. S. Potencialidades de utilização de *Trichoderma* spp. no controle biológica de doenças de plantas. In; BETTIOL, W. (Org.). **Controle biológico de doenças de plantas**, EMBRAPA-CNPDA, p. 135-156, 1991.

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

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.

MICHEREFF, S. J. **Controle Biológico de Doenças de Plantas**. Disponível em: <http://www.ufrpe.br>. 2005.

MOREIRA, L. M.; MAY-DE MIO, L. L. Efeitos de fungos antagonistas e produtos químicos no controle da podridão parda em pomares de pessegueiro. **Floresta**, Curitiba, PR, v. 36, n. 2, 2006.

MOREIRA, L. M. **Controle químico e biológico de *monilinia fruticola* (Wint) Honey e monitoramento de infecções latentes em frutos**. 76f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1999.

MUCHARROMAH, E.; KUC, J. Oxalatos and phosphates induce systemic resistance against diseases caused by fungi, bacteria and viruses in cucumber, **Crop Protection**, Guildford, v.10, n.4, p.265-270, Aug. 1991.

NCBI - < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi>> acesso: 04/Março, 2010.

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.

NOJOSA, G. B. A.; RESENDE, M. L. V.; RESENDE, A. V. (2005). Uso de fosfitos e silicatos na indução de resistência. In: CAVALCANTE, L. S. (Ed.) **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, p.139-153.

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.

PAPAVIZAS, G. C. Trichoderma and Gliocladium: biology, ecology, and potential for biocontrol. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, US, v. 23, p. 23-54, 1985.

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

PEREIRA NETO, J. V.; BLUM, L. E. B. Adição de palhada de milho ao solo para redução da podridão do colo em feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.40, n.3, p. 354-361, 2010.

PRAHBU, H. V.; HIRAMOTH, P. C. Bioefficacy of fungicides against collar rot of cotton caused by *Sclerotium rolfsii* Sacc. **Karnataka Journal of Agricultural Sciences**, v. 16, n. 4, p. 576-579, 2003.

.

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

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

PUNJA, Z. K.; RAHE, J. E. *Sclerotium*. In: SINGLE TON, L. L.; MIHAIL, J. D.; RUSH, C. M. **Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi**. St. Paul: Minnesota APS Press, 1992. p. 166-170.

QUINTANA, H.C.; BRAVO, C.G.; NOVOA, J.D.; MAYTA, F.C. Evaluación de la calidad de la proteína de 4 variedades mejoradas de frijol. **Revista Cubana de**

Hematología, Inmunología y Hemoterapia, 14:22 -27, 2002.

RAMIREZ, I. S. et al. **Trichoderma harzianum (Cepa A34): un biopreparado de amplio espectro para micopatologías del tomati y del pimiento.** (CID-INISAV, Boletí técnico, 4), 36p., 1995.

RAPASSI, R.M.A.; KANEKO, F.H.; ALVES NETO, V.M.; TARSITANO, R.A.; ARAUJO, D.C. Análise econômica da cultura do feijão de inverno não irrigado, na região oeste do estado de São Paulo: um estudo de caso. In: XLVII CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL. Porto Alegre, 2009. **Resumos Expandidos...** Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural, 2009.

REIS, E. M.; FORCELINI, C. A.; **Manual de fungicidas:** guia para o controle químico de doenças de plantas. 4 ed. Florianópolis: Editora Insular, 2001. P. 16-17.

REUVENI, R.; REUVENI, M.; AGAPOV, V. Foliar sprays of NPK fertilizer induce systemic protection against *Puccinia sorghi* and *Exserohilum turcicum* and growth response in maize. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v.102, n.2, p.339-348, Apr. 1996.

REUVENI, M. Post-infection applications of K_3PO_3 , phosphorous acid and dimethomorph inhibit development of downy mildew caused by *Plasmopara viticola* on grapes. **Journal of Small Fruit & Viticulture**, Binghamton, v.5, n.2, p.27-38, Apr. 1997.

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.

SERRA, I. M. R. S.; SILVA, G. S. Caracterização biológica e fisiológica de isolados de *Sclerotium rolfsii* obtidos de pimentão no Estado do Maranhão. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, p. 61-66, 2005.

SCHIPPER, B.; LUGTENBERG, B.; WEISBEEK, P. J. **Plant growth control by fluorescent pseudomonas**. In: INNOVATIVE Approaches to Plant Disease Control. New York: Wiley & Sons, 1987. p. 19-39.

SILVEIRA, N. S.S.; MICHEREFFI, S. J.; MENEZES, M.; TAKAKI, G. M. C.; Potencial de isolados de *Trichoderma* spp. no controle de *Sclerotium rolfsii* em feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, v. 20, n. 1, p. 22-25, 1994.

SLININGER, P.J.; BEHLE, R.W.; JACKSON, M.A.; SCHILER, D.A. Discovery and development of biological agents to control crop pests. **Neotropical Entomology**, v.32, p.183-195, 2003.

SIVAN, A.; CHET, I. **Environmental microbiology: microbial control of plant diseases**. New York: Wiley-Liss, 1992. p. 335-354.

SONEGO, O. R.; GARRIDO, L. DA R.; CZERMAINSKI, A. B. C. **Avaliação do fosfito de potássio (Fitofos K) no controle do míldio da videira**. Bento Gonçalves: EMBRAPA Uva e Vinho, 2003. P.18.

SOYEZ, J. L.: «Lês enseignements de la Campagne 2002 sur lê Phosphonate de Potassium PK2 em viticulture», **Progès Agricole et Viticole** 119:511-514, 2002.

VENEGAS, F. SAAD, J. C. C. Fungigação no controle do mofo branco e produtividade do feijoeiro em condições em cerrado brasileiro. **Irriga**, Botucatu, v. 15, n. 2, p. 159-172, 2010.

VERA D. PENÃ VENEGAS, C., CARDONA VANEGAS G. 2007. *Trichoderma* spp. Persoon 1794.

VIEIRA, C.; JÚNIOR, T.J.P.; BORÉM, A. **Feijão**. Viçosa: UFV, 2006. 600p.

VITTI, G. C.; LUZ, P. H. C.; OTTO, R.; QUEIROS, F. E. C.; PACKER, L. A. Utilização de fosfito em cana-de-açúcar. In: SIMPÓSIO DE TECNOLOGIA DE PRODUÇÃO DE CANA-DE-AÇUCAR, 1., 2005, Piracicaba. **Resumos...** Campinas: Intercif, 2005. p.17.

YOKOYAMA, L.P. Tendências de mercado e alternativas de comercialização do feijão. Santo Antonio de Goiás: **Embrapa Arroz e Feijão**, 2002. 3p. (Comunicado Técnico, 43).

WELLER, D. M. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, US, v. 26, p. 379-407, 1988.

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

WILD, B. L. et al. Apple host defense reactions as affected by cycloheximide, phosphonate, and citrus green mould, *Penicillium digitatum*. **ACIAR Proceedings Series**, v. 80, p. 155-161, 1998.

8. ANEXO

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DE *PSEUDOMONAS* SPP. NO CONTROLE DE *SCLEROTIUM ROLFSII* SACC. AGENTE DA MURCHA-DE-ESCLERÓCIO EM FEIJOEIRO (*PHASEOLUS VULGARIS* L.)

Resumo - Podridão do colo do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) é causada por *Sclerotium rolfsii*. Esta importante doença é frequentemente observada em áreas quentes, subtropicais e tropicais. Muitas espécies de microrganismos foram testadas como agentes potenciais para biocontrole de doenças, inclusive as bactérias fluorescentes do gênero *Pseudomonas* spp. O estudo teve como objetivo avaliar o efeito de isolados de *Pseudomonas* sp. sobre a germinação de esclerócios de *S. rolfsii*. O experimento foi realizado com caixas plásticas transparentes em quatro repetições de 25 organizados sobre solo esterilizado, para cada tratamento. Foram utilizados dois isolados de *S. rolfsii* (UB 193 e UB 228) e 14 isolados de *Pseudomonas* spp. em um delineamento inteiramente casualizado. Os tratamentos com *Pseudomonas* foram aplicados sobre cada um dos esclerócios na dose de 20 µl [10^8 células bacterianas/mL]. No isolado UB 193, quatro *Pseudomonas* sp. Reduziram (% de esclerócios germinados) a germinação esclerocical: as bactérias 03 (39%), 11 (45%), 13 (37%) e 16 (33%). Já para o isolado UB 228, as bactérias 03 (28%), 5 (48%) e 11 (48%) reduziram a germinação dos esclerócios. O isolado bacteriano mais eficiente na redução da germinação esclerocical foi o 11.

Palavras-chave: Bactérias, Podridão do colo, Controle Biológico.

IN VITRO EVALUATION OF *PSEUDOMONAS* SPP. TO CONTROL *SCLEROTIUM ROLFSII*, CAUSAL AGENT OF THE STEM ROT OF COMMON BEAN

Abstract - The stem rot of common bean (*Phaseolus vulgaris*) is caused by *Sclerotium rolfsii*. This important disease is often observed in warm climates of the sub-tropical and tropical regions. Many species of microorganisms have been tested as potential biocontrol agents of diseases, including the fluorescent species of *Pseudomonas* spp. The study aimed to evaluate effects of isolates of fluorescent *Pseudomonas* sp. on the germination of sclerotia of *S. rolfsii*. The experiment was conducted in a complete randomized design with four replications of 25 sclerotia placed in transparent plastic boxes with sterilized soil. Two strains of *S. rolfsii* (UB 193 and UB 228) and 14 strains of *Pseudomonas* spp. were tested. Treatments with *Pseudomonas* sp. were applied to each of sclerotia at a dosage of 20 μ l [10^8 bacterial cells / ml]. Against isolated UB 193, four *Pseudomonas* sp. significantly reduced sclerotial germination (% of germinated sclerotium): 03 (39%), 11 (45%), 13 (37%) and 16 (33%). With the UB 228 isolate the results of sclerotial germination were: 03 (28%), 5 (48%) and 11 (48%). The most efficient fluorescent *Pseudomonas* isolate in reducing sclerotial germination was the 11.

Key-Words: Bacteria, Collar rot, Biological Control.

INTRODUÇÃO

Podridão do colo é uma doença causada pelo patógeno *Sclerotium rolfsii*, sendo uma doença importante e frequentemente observada em áreas quentes, sub-tropicais e tropicais. Essa doença foi relatada em vários países como Brasil, Bolívia, Equador, Colômbia, Venezuela, Costa Rica, México, EUA, Austrália, Japão, Ceilão, Cuba, Havaí e Filipinas (ABAWI & PASTOR-CORRALES, 1990; WEBER, 1931). É observada em diferentes plantas cultivadas como milho, feijão, batata doce, tomate, melancia, banana, beterraba, repolho, cenoura, café, algodão, alho, alface, manga e abacaxi (FERREIRA & BOLEY, 1992). E essa ampla gama de hospedeiros do fungo se deve ao seu rápido crescimento à produção de ácido oxálico e de enzimas degradadoras de parede celular (ALMEIDA et al., 2001).

Muitas espécies de microrganismos têm sido testadas como agentes potenciais para biocontrole de doenças, inclusive as bactérias dos gêneros *Pseudomonas* spp. e *Bacillus* spp. (CHANWAY et al., 2000; CHEN et al., 2000; RAMAMOORTHY et al., 2001; FREITAS & AGUIAR VILDOSO, 2004; ORHAN et al., 2006). 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, 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 a animais.

São bastante estudadas as bactérias isoladas da rizosfera e rizoplano de plantas, porque promovem o crescimento das plantas e controlam patógenos de solo, sendo capazes de crescer e colonizar rapidamente o sistema radicular (PAL & MC SPADDEN GARDENER, 2006). Os efeitos benéficos, exercidos pelas rizobactérias promotoras de crescimento de plantas podem ser conseguidos de forma direta através do estímulo ao crescimento da planta, principalmente na ausência dos microrganismos patogênicos, ou forma indireta, através da proteção microbiológica (BERNARDES, 2006).

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).

O patógeno *Thielaviopsis basicola*, causador da podridão preta das raízes em fumo, foi controlado por *P. fluorescens* devido a produção de composto volátil ácido hidrocianico (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).

OBJETIVO

Avaliar a eficiência dos isolados de *Pseudomonas* sp. no controle da murcha-de-esclerócio causada por *Sclerotium rolfsii*.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no laboratório de micologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília.

Os isolados de *S. rolfsii* foram obtidos a partir da coleção micológica da Universidade de Brasília. Nos experimentos foram utilizados dois diferentes isolados nomeados UB 193 e UB 228. Esses isolados foram cultivados em placas com meio de cultura sólido de batata-dextrose-ágar (BDA) e acondicionados em incubador (25 °C), para estimular a produção de esclerócios de acordo com Punja (1985). Após a produção de esclerócios, estes foram retirados com auxílios de pincel e transferidos para outra placa de Petri, sem meio de cultura para inoculações posteriores.

Os isolados de *Pseudomonas* spp. utilizados, pertencem à coleção de bactérias fitopatogênicas da Universidade de Brasília e foram isoladas de diferentes culturas e também de diferentes locais no Distrito Federal (Tabela 1). Esses isolados foram plaqueados em meio B de King (KING et al., 1954) e as placas foram mantidas em câmara incubadora a 28 °C e fotoperíodo de 12 horas, durante 48 horas. Após a incubação a diluição foi realizada com extração da colônia da placa de petri, sendo diluída em 10 mL de água destilada e autoclavada. A concentração das diluições das *Pseudomonas* spp. foram ajustadas a 10^8 células bacterianas/mL de água destilada e esterilizada (GANESAN & GNANAMANICKAM, 1987), a qual foi ajustada em espectrofotômetro, onde a concentração de trabalho equivalia ao intervalo entre 0,1 e 0,2 ABS.

O experimento foi realizado em recipientes de plástico transparente (Tipo-Gerbox®; 11,5 x 11,5 x 3,5 cm) no controle de *S. rolfsii*. Neste experimento realizou-se teste padrão, onde se avaliou a interação patógeno-antagonista, não realizando plantios. Utilizaram-se caixas recipientes de plástico transparente, onde primeiramente foi realizada a assepsia dos recipientes com álcool 70%, em seguida adicionou-se 200 g de solo peneirado e autoclavado, acrescido de 70 mL de água esterilizada. Em cada recipiente de plástico transparente, colocou-se 25 esclerócios de *S. rolfsii* organizados em cinco fileiras de cinco, utilizando pinça de relojoeiro flambada.

O tratamento foi aplicado sobre cada um dos esclerócios na dosagem de 20 µl na concentração de 10^8 células bacterianas/mL. A suspensão preparada era agitada frequentemente quando aplicada para evitar acúmulo de material ao fundo. Os recipientes de plástico transparente apenas com estruturas de resistência dos isolados de *S. rolfsii* foram utilizados como testemunha. Em seguida os recipientes de plástico

transparente foram incubados em incubador a 25 °C com fotoperíodo de 12 h. A avaliação foi realizada no décimo-quarto dia, anotando o número de esclerócios germinados.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizados, com quatro repetições. Os dados foram submetidos á análise de variância e as médias geradas foram submetidas para comparação pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05\%$) utilizando o programa “ASSISTAT Versão” 7.6 beta (2011).

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

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesse experimento foram testadas quatorze isolados *Pseudomonas* sp. de diferentes culturas e locais no Distrito Federal com o isolado de *S. rolfsii* UB 193 e UB 228. Com o isolado UB 193, quatro *Pseudomonas* sp. apresentaram controle na germinação dos esclerócios, foram as bactérias 03 (39%), 11 (45%), 13 (37%) e 16 (33%), com diferença significativa da testemunha. Com o isolado UB 228 das quatorze bactérias testadas, três apresentaram diferença significativa da testemunha, sendo as bactérias 3 (28%), 5 (48%) e 11 (48%) demonstrando controle sobre a germinação dos esclerócios. Analisando-se os resultados sobre os dois isolados de *S. rolfsii*, a bactéria de número 11 apresentou maior eficiência no controle tanto do isolado UB 193 (45%) quanto do UB 228 (48%) que foi o isolado da cultura do limão tahiti (Tabela 2). Esses resultados mostram que as *Pseudomonas* spp. que apresentaram controle foram isolados de diferentes culturas, como limão, jurubeba, pimenta-do-reino e outros confirmando o trabalho feito por Queiroz et al., (2006), que testaram sete isolados de *Pseudomonas*, *Chryseobacterium*, *Paenobacillus* e *Serratia*, obtidos da rizosfera de feijoeiro, cenoura e citrus, em sementes de limoeiro-cravo, e constataram que todos os isolados colonizaram o sistema radicular de forma abundante ou intermediária, independente da cultura de onde foram obtidos.

Estudos realizados por Shiomi et al., (2008) mostraram que rizobactérias inibiram o crescimento micelial *in vitro* dos patógenos *R. solani*, *S. rolfsii*, *Fusarium moniliforme* Sheldon e *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard & Suggs. Em questão da inibição de crescimento de patógenos podemos observar que de acordo com Liao (1989), isolados de *Pseudomonas putida* inibiram o crescimento de um largo espectro de bactérias patogênicas em meio de cultura.

Resultados promissores de controle biológico foram obtidos por Chen et al., (1995), os quais mostraram que, de 170 isolados endofíticos, 40 possuíam atividade de biocontrole contra *Rhizoctonia solani*, em algodão. Da mesma forma, Brooks et al., (1994) selecionaram isolados antagônicos a *Ceratocystis fagacearum*, agente causal da murcha do carvalho, conseguindo uma redução de 39% de plantas doentes em condições de casa de vegetação.

Gravel et al., (2005), que realizaram seleção de isolados de *Pseudomonas* spp. com potencial para controle de *Pythium aphanidermatum* e *Pythium ultimum*, na germinação de sementes e no tombamento de plântulas de tomate. Dos 237 isolados

testados, 40 apresentaram potencial para controle dos patógenos, *in vitro* e as espécies *P. corrugata*, *P. fluorescens*, *P. marginalis*, *P. putida*, *P. syringae* e *P. viridiflava* reduziram significativamente o tombamento de plântulas causado pelos patógenos.

Segundo trabalho realizado por Barbosa et al., (2009) o isolado 38291 foi capaz de restringir o desenvolvimento do patógeno *S. rolfsii* causador da murcha-de-esclerócio no teste *in vitro*, reduzindo a severidade da doença, observando que *S. rolfsii* nem sempre está fisicamente em contato com o tecido hospedeiro na fase de pré-penetração, logo, possivelmente, os compostos microbianos produzidos por essa rizobactéria *in vitro* podem suprimir o crescimento do patógeno no solo, impedindo ou retardando o processo de infecção.

Susilo (2004) avaliando o potencial de rizobactérias como promotoras de crescimento do tomateiro e agentes de controle biológico da murcha bacteriana (*Ralstonia solanacearum*), verificou que cinco rizobactérias demonstraram atividades antagonicas contra o patógeno através da produção de antibióticos e sideróforos. Também reduziram significativamente a severidade e a incidência da doença quando comparados à testemunha, demonstrando que rizobactérias com antagonismo detectado *in vitro* podem ser consideradas como agentes potenciais para supressão de patógenos.

O potencial antagonico de isolados de *Pseudomonas fluorescens* 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 de tubérculos, pelo isolado C-21 (MARIANO et al., 1992). Esses valores comprovam o potencial de indução de crescimento e controle de patógenos dessas bactérias.

Tabela 2- Percentual de esclerócios de *Sclerotium rolfsii* (UB 193 e UB 228) germinados (EG), ao 14º dia após a aplicação dos tratamentos com *Pseudomonas* sp. e dados estatísticos transformados em porcentagem de esclerócios de *Sclerotium rolfsii* controlados (% EC).

TRATAMENTO	<i>S. rolfsii</i> UB 193		<i>S. rolfsii</i> UB 228	
	% EG ⁽¹⁾	% EC	% EG ⁽¹⁾	% EC
Testemunha ⁽²⁾	100 a ⁽²⁾	0 ⁽³⁾	100 ab	0
Bactéria 10	100 a	0	89 bc	11
Bactéria 14	100 a	0	100 a	0
Bactéria 05	100 a	0	52 d	48
Bactéria 15	100 a	0	100 ab	0
Bactéria 07	100 a	0	100 ab	0
Bactéria 01	98 ab	2	100 ab	0
Bactéria 02	98 ab	4	100 ab	0
Bactéria 12	96 ab	4	94 ab	6
Bactéria 06	93 abc	7	99 ab	1
Bactéria 08	89 abcd	11	91 ab	9
Bactéria 16	67 bcde	33	100 ab	0
Bactéria 13	63 cde	37	100 ab	0
Bactéria 03	61 de	39	72 c	28
Bactéria 11	55 e	45	52 d	48
D.M.S. ⁽⁴⁾	7,9	-	3,9	-
C.V. (%) ⁽⁵⁾	14,5	-	7,2	-

(1) Média de quatro repetições com 25 esclerócios.

(2) Médias na coluna seguidas por letras iguais não diferem entre si (Tukey, $P \leq 5\%$).

(3) Dados estatísticos transformados em porcentagem de esclerócios controlados.

(4) Diferença mínima significativa (Tukey, $P \leq 5\%$).

(5) Coeficiente de variação

CONCLUSÕES

O isolado 11 de *Pseudomonas* sp. foi o mais eficiente isolado, obtido a partir de coleta de solo no DF em com cultivo de limão tahiti, apresentando redução da germinação dos escleródios do patógeno.

Isolados de rizobactérias do grupo fluorescente de *Pseudomonas* spp. possuem potencial para controle biológico de *Sclerotium rolfsii*, sendo necessário novos isolados e realização de testes *in vivo*.

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.

BARBOSA, R. N. T. **Seleção de rizobactérias visando o controle biológico da murcha-de-esclerócio em tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.).** Universidade Federal de Roraima, 2009, 56p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Roraima.

BERNARDES, F. S. **Rizobactéria na indução de resistência sistêmica em cultivos hidropônicos.** Instituto agrônomo. Curso de pós-graduação em agricultura tropical e subtropical. Abril, 2006.

BROOKS, D. S.; GONZALEZ, C. F.; APPEL, D. N.; FILER, T. H. Evaluation of endophytic bacteria as potential biological control agents for oak wilt. **Biological Control**, San Diego, v. 4, p. 373-381, 1994.

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.

CHANWAY, C.P.; SHISHIDO, M.; NAIRN, J.; JUNGWIRTH, S.; MARKHAM, J.; XIAO, G.; HOLL, F.B. Endophytic colonization and field responses of hybrid spruce seedlings after inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria. **Forest Ecology and Management**, v.133, p.81-88, 2000.

CHEN, C.; BÉLANGER, R.R.; BENHAMOU, N.; PAULITZ, T.C. Defense enzymes induced in cucumber roots by treatment with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and *Pythium aphanidermatum*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.56, p.13-23, 2000.

CHEN, C.; BAUSK, E. M.; MUSSON, G.; RODRÍGUEZ KÁBANA, R.; KLOEPPER, J. W. Biological control of *Fusarium* wilt on cotton by use of endophytic bacteria. **Biological Control**, San Diego, v. 5, p. 83-91, 1995.

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, 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.

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.

GRAVEL, V.; MARTINEZ, C.; ANTOUN, H.; TWEDDELL, R.J. Antagonist microorganisms with the ability to control *Pythium* damping-off of tomato seeds in rockwool. **Biocontrol**, v. 50, p. 771-786, 2005.

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

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.

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.

MARIANO, R.L.R., BARROS, S.T., MENEZES, D., et al. Potencial antagônico de *Trichoderma* spp. e *Pseudomonas* spp. fluorescentes contra *Streptomyces scabies*, agente causal da sarna comum da batata. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 3. **Anais...** Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1992.p. 280.

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.

ORHAN, E.; ESITKEN, A.; ERCISLI, S.; TURAN, M.; SAHIN, F. Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient contents in organically growing raspberry. **Scientia Horticulturae**, v.111, p.38-43, 2006.

PAL, K.K.; McSPADDEN GARDENER, B. **Biological control of plant pathogens**. 2006.

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

QUEIROZ, B.P.V.; AGUILAR-VILDOSO, C.I.; MELO, I. Visualização in vitro da colonização de raízes por rizobactérias. **Summa Phytopathologica**, v.32, p.95-97, 2006.

RAMAMOORTHY, V.; VISWANATHAN, R.; RAGUCHANDER, T.; PRAKASAM, V.; SAMIYAPPAN, R. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. **Crop Protection**, v.20, p.1-11, 2001.

SHIOMI H. F., MELO I. S. MINHONI M. T. A. (2008) Seleção de bactérias endofíticas com ação antagônica a fitopatogenos. **Scientia Agraria**. 9: 535-538.

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.

SUSILO, B. H. **Isolation e screening of rhizobacteria and their potencial as plant growth promoters and biological contro agentsfor bacterial wilt of tomate.** Universiti Putra Malaysia, 2004, 126p. Dissertação (Mestrado em Ciência Agrícola) – Universiti Putra Malaysia.

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.

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.