



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA**

**ÉRIKA DE PAULA RAMOS DAS MERCÊS**  
**LAÍS CARVALHO MACAMBIRA**

**POTENCIAL ANTAGÔNICO *in vitro* DE ISOLADOS DE *Trichoderma* spp.,  
*Pseudomonas* spp. E *Bacillus* spp. NO BIOCONTROLE DE *Rhizoctonia solani*,  
AGENTE CAUSAL DA MELA DO FEIJÃO-CAUPI**

**BELÉM**

**2017**



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA**

**ÉRIKA DE PAULA RAMOS DAS MERCÊS**  
**LAÍS CARVALHO MACAMBIRA**

**POTENCIAL ANTAGÔNICO *in vitro* DE ISOLADOS DE *Trichoderma* spp.,  
*Pseudomonas* spp. E *Bacillus* spp. NO BIOCONTROLE DE *Rhizoctonia solani*,  
AGENTE CAUSAL DA MELA DO FEIJÃO-CAUPI**

**Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de  
Engenharia Agrônômica da Universidade Federal Rural  
da Amazônia como requisito para obtenção de grau de  
Bacharel em Engenharia Agrônômica.**

**Orientador:** Profa. Adélia Benedita Coelho dos Santos

**Co-orientador:** Dra. Ruth Linda Benchimol

**BELÉM**

**2017**



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA - UFRA**

**ÉRIKA DE PAULA RAMOS DAS MERCÊS  
LAÍS CARVALHO MACAMBIRA**

**POTENCIAL ANTAGÔNICO *in vitro* DE ISOLADOS DE *Trichoderma spp.*,  
*Pseudomonas spp.* E *Bacillus spp.* NO BIOCONTROLE DE *Rhizoctonia solani*,  
AGENTE CAUSAL DA MELA DO FEIJÃO-CAUPI**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Engenharia Agrônômica da Universidade Federal Rural da Amazônia como requisito para obtenção de grau de Bacharel em Engenharia Agrônômica.

Data da Aprovação:            /            /

**Banca Examinadora**

---

**Profa. Adélia Benedita Coelho dos Santos**  
**Universidade Federal Rural da Amazônia - UFRA**  
**Orientador**

---

**Dra. Carina Melo da Silva**  
**Universidade Federal Rural da Amazônia - UFRA**

---

**Eng. Agrônomo Francisco Carlos de Oliveira**  
**Universidade Federal Rural da Amazônia - UFRA**

## **DEDICATÓRIA**

À Deus e a nossa família.

## **AGRADECIMENTOS ÉRIKA MERCÊS**

À Deus, pela força e sabedoria durante todos esses anos.

Aos meus pais, Julio e Andréa Mercês, pela criação, incentivo, amor, cuidados e conselhos nas horas mais difíceis.

Ao meu irmão, Matheus Mercês, pelo amor e carinho todos os dias.

Aos meus Tios, Adilson Diniz e Leila Dias, por não medirem esforços para que eu pudesse ter a melhor educação.

À minha avó e tia, Isabel e Adriana Dias, que foram além dos seus papéis familiares e me criaram como filha.

À Universidade Federal Rural da Amazônia, pela estrutura e apoio técnico responsável pelo sucesso adquirido na graduação.

À Embrapa Amazônia Oriental, que viabilizou a concretização desta pesquisa.

À Dr.<sup>a</sup> Ruth Linda Benchimol, por toda paciência e aprendizado durante sua orientação.

À Técnica Lisias Aline Faria Viana, por toda ajuda durante a condução do experimento.

Ao Dr. Eudes de Arruda Carvalho, por toda dedicação e ensinamentos na minha iniciação científica em Fitopatologia.

À Prof.<sup>a</sup> Adélia Benedita Coelho dos Santos, pelo apoio.

À Carina Melo da Silva, pelos ensinamentos durante todo tempo de trabalho.

As estagiarias, Cássia Pinheiro, Karoliny Alves e Alana Ieda pela ajuda e amizade dentro e fora do laboratório.

As minhas amigas, Laís Macambira, Laura Reis e Ana Carolina, por toda parceria, amizade, carinho e suporte durante todos os anos de graduação.

À minha amiga de infância, Dalila Albuquerque, pelos anos de dedicação e por não me abandonar em nenhum momento.

Ao futuro Médico Veterinário, Iago Rodrigues, por me ajudar na hora em que eu mais precisei.

Aos amigos, Daniel Silva, Miller de Sousa, Itallo Michel, Antonio Gomes, Gustavo Seribeli e Leonardo Salbego, por todos os momentos de descontração durante os últimos semestres.

À todos aqueles que passaram pela minha vida e me influenciaram de forma positiva e me ajudando na formação do meu caráter .

## **AGRADECIMENTOS LAIS MACAMBIRA**

À Deus, pela força durante todos esses anos pois sem ele nada seria possível.

Aos meus pais Alcides Macambira e Ione Carvalho por todo amor e carinho e por não medirem esforços pela nossa família.

Aos meus irmãos Larissa Macambira, Elizandra Macambira e Alcides Junior por todo apoio ao longo dessa caminhada, aos meus sobrinhos Pedro e Benicio por trazerem grandes alegrias para as nossas vidas.

À minha avó e tia, Maria e Ivone Carvalho por sempre nos ajudar e ser uma segunda mãe em minha vida.

À minha prima Ana Paula Pinheiro por toda amizade e carinho.

À Universidade Federal Rural da Amazônia, pela estrutura e apoio técnico responsável pelo sucesso adquirido na graduação.

À Embrapa Amazônia Oriental, que viabilizou a concretização desta pesquisa.

À Dr.<sup>a</sup> Ruth Linda Benchimol, pelos ensinamentos e a oportunidade de integrar a equipe do laboratório de Fitopatologia e por todo aprendizado durante sua orientação.

À Técnica Lisias Aline Faria Viana, por toda ajuda durante a condução do experimento.

À Prof.<sup>a</sup> Adélia Benedita Coelho dos Santos, pelo apoio.

À Carina Melo da Silva, pelos ensinamentos durante todo tempo de trabalho.

Ao Dr. Eudes de Arruda Carvalho, por toda paciência, compreensão e ensinamentos passados durante minha graduação.

As estagiárias, Cássia Pinheiro, Karoliny Alves e Alana Ieda pela ajuda e amizade dentro e fora do laboratório.

As minhas amigas de trabalho em grupo Erika Mercês, Laura Reis e Ana Carolina, pelos grandes momentos que pude compartilhar com vocês.

E a todos que de certa forma, contribuíram para minha formação profissional.

## RESUMO

O cultivo do feijão-caupi no Brasil tem sido limitado por diversos patógenos, dentre os quais encontra-se *Rhizoctonia solani*, agente causal da mela, que constitui-se em uma das principais razões da sua baixa produtividade, causando manchas e desfolha na planta. O controle da mela preconizado para cultura do feijão-caupi é a prevenção, com a rotação de culturas, uma vez que não há fungicidas registrados especificamente para uso nessa cultura. O interesse por métodos alternativos de controle de doenças de plantas vem aumentando ao longo dos anos, principalmente pelo controle biológico com microorganismos antagonísticos, por ser menos danoso ao ambiente. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial antagonístico *in vitro* de isolados de *Trichoderma*, *Pseudomonas* e *Bacillus* contra *R. solani*. Foi utilizado o método de pareamento de colônias, onde discos de cultura do patógeno e do antagonista ( $\varnothing=9$  mm) cultivados por sete dias em BDA foram pareados de forma equidistante em placas de Petri contendo o mesmo meio de cultura, em pólos opostos das placas, a 5mm de distância da borda. Para as rizobactérias, foram colocados discos de micélio do patógeno em pólos opostos a placa e traçado um risco da cultura bacteriana no centro da placa. Os tratamentos foram incubados a  $28 \pm 2^\circ\text{C}$ , com fotoperíodo de 12h claro/escuro. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, com o total de 79 tratamentos (24 de *Pseudomonas*, 27 de *Bacillus* e 28 de *Trichoderma*). Foram feitas avaliações diárias do crescimento radial (mm) das colônias, pelo período de quatro dias, e calculado o Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM). A análise de variância foi feita pelo teste F (p-valor  $\leq 0.05$ ), com as médias de crescimento sendo comparadas pelo teste de Scott-Knott (p-valor  $\leq 0.05$ ), utilizando-se o programa SISVAR, versão 5.6. Observou-se diferença estatística significativa no IVCM entre o crescimento de *R. solani* pareado com os antagonistas e o tratamento testemunha. O crescimento micelial de *R. solani* foi de 28,48 mm, 20,68 mm e 26,88 mm na presença dos isolados P26 (*Pseudomonas*), B21 (*Bacillus*) e T2 (*Trichoderma*), respectivamente, enquanto que no tratamento controle o crescimento do patógeno variou entre 86,94 e 44,49 mm, sendo superior, portanto, àquele na presença dos antagonistas, indicando a inibição do crescimento micelial na presença dos mesmos. Foi detectada diferença estatística significativa entre os isolados testados e concluiu-se, portanto, que os isolados T2, P26 e B21 apresentaram potencial para o biocontrole do agente causal da mela do feijão-caupi.

**Palavras-chave:** Controle biológico, *Vigna unguiculata*, rizobactérias,

## ABSTRACT

The cultivation of cowpea in Brazil has been limited by several pathogens, among which is *Rhizoctonia solani*, causal agent of thread blight, which is one of the main reasons for its low productivity, causing spots and defoliation in the plant. The recommended control for web blight is prevention, with crop rotation or resistant crop material, since there are no fungicides registered specifically for use in that crop. The interest in alternative methods of controlling plant diseases has been increasing over the years, mainly due to biological control with antagonistic microorganisms, because it is less damaging to the environment. The objective of this work was to evaluate the *in vitro* antagonistic potential of *Trichoderma*, *Pseudomonas* and *Bacillus* isolates against *R. solani*. The colony pairing method was used, where culture disks of the pathogen and the antagonist ( $\varnothing = 9$  mm) grown for seven days in BDA were equidistantly paired in Petri dishes containing the same culture medium, at opposite poles of the plate, five millimeters away from the edge. For the rhizobacteria, pathogen mycelium discs were placed in opposite poles of the plate and a line of bacterial culture was traced in the center of the plate. The plates were incubated at  $28 \pm 2^\circ\text{C}$ , with photoperiod of 12h light / dark. The experimental design was entirely randomized, with 79 treatments (24 *Pseudomonas*, 27 *Bacillus* and 28 *Trichoderma*). Daily evaluations of the radial growth (mm) of the colonies were made for a period of four days, and the Mycelial Growth Rate Index (IVCM) was calculated. The analysis of variance was performed by the F-test (p-value  $\leq 0.05$ ), with the growth averages being compared by the Scott-Knott test (p-value  $\leq 0.05$ ), using the SISVAR program, version 5.6. A significant statistical difference was observed for the IVCM between the growth of *R. solani* paired with the antagonists and the control treatment. The mycelial growth of *R. solani* was 28.48 mm, 20.68 mm and 26.88 mm in the presence of the isolates P26 (*Pseudomonas*), B21 (*Bacillus*) and T2 (*Trichoderma*), respectively, whereas in the control treatment the growth of the pathogen varied between 86.94 and 44.49 mm, being higher, therefore, than that in the presence of the antagonists, indicating the inhibition of the mycelial growth in the presence of the same ones. A significant statistical difference was detected between the tested isolates and it was concluded that the isolates T2, P26 and B21 have potential for the biocontrol of the causal agent of cowpea thread blight.

**Key words:** Biological control, *Vigna unguiculata*, rhizobacteria.

## SUMÁRIO

### LISTA DE FIGURAS

### LISTA DE TABELAS

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	12
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b>	13
2.1 <i>Rhizoctonia solani</i>	13
<b>2.2. AGENTES DE BIOCONTROLE</b>	14
2.2.1 <i>Trichoderma</i> spp.	14
2.2.2 Rizobactérias	16
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b>	17
<b>3.1. Localização da Área de Estudo</b>	17
<b>3.2 Antagonismo “in vitro” com Rizobactérias.</b>	17
<b>3.3 Antagonismo ‘in vitro’ com <i>Trichoderma</i> spp. contra <i>Rhizoctonia solani</i>.</b>	18
<b>4 . RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	19
<b>4.1 Antagonismo “in vitro” de Rizobactérias contra <i>Rhizoctonia solani</i></b>	19
<b>4.2 Antagonismo “in vitro” de <i>Trichoderma</i> spp. contra <i>Rhizoctonia solani</i></b>	23
<b>5. CONCLUSÕES</b>	26
<b>6. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS</b>	26

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.** Colônias de *R. solani* spp. (I) em meio de cultura BDA; Hifas de *R. solani* spp. (II).

**Figura 2.** Colônia de *Trichoderma* spp. em meio de cultura BDA.

**Figura 3.** Colônias de *Bacillus* spp. em meio NA (I) e de *Pseudomonas* spp. em meio King B (II).

**Figura 4.** Efeito do isolado P26 (*Pseudomonas* spp.) sobre o crescimento in vitro de *R. solani* (I) testemunha (Sem antagonista); (II) Placa com Patógeno na presença do antagonista P26.

**Figura 5.** Efeito do isolado B21 (*Bacillus* spp.) sobre o crescimento in vitro de *Rhizoctonia solani*. (I) Testemunha (Sem antagonista); (II) Placa com Patógeno na presença do antagonista B21.

**Figura 6.** Efeito do isolado (*Trichoderma* spp.) sobre o crescimento in vitro de *R. solani* .(I) testemunha (Sem antagonista); (II) Placa com patógeno na presença do antagonista T02.

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1.** Médias do Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) de *R. solani* no teste de antagonismo direto com isolados *Pseudomonas* spp.

**Tabela 2.** Médias do Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) de *R. solani* no teste de antagonismo direto com isolados de *Bacillus* spp.

**Tabela 3.** Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) de *R. solani* no teste de antagonismo direto com isolados de *Trichoderma* spp.

## 1. INTRODUÇÃO

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é uma cultura de importante valor econômico, por ser a principal fonte de proteína vegetal de populações com baixa renda (CARDOSO et al., 1991). O feijão-caupi e o feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) estão se tornando novas opções para os arranjos produtivos, já que a mudança tecnológica tem provocado reflexos na cadeia produtiva de diversas culturas com o alto custo de insumos, fertilizantes e defensivos agrícolas. A cultura do feijão vem destacando-se com o aumento da produtividade na terceira safra, sendo o feijão-caupi responsável por 20% da produção em 2005, tendo como expansão da área plantada para as regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste onde é plantado como safrinha após o plantio de arroz e soja e em alguns lugares, como no Cerrado, é cultivado como cultura principal sendo uma produção de alta qualidade e bem aceito entre os comerciantes, agroindústria, distribuidores e consumidores (FREIRE FILHO, 2011).

O cultivo do feijão-caupi após a colheita da soja deve ser estudada pois são hospedeiros de patógenos em comum, dentre eles a *Rhizoctonia solani* que causa a mela do feijão-caupi. A identificação da doença é feita através da observação das folhas que apresentam manchas causadas por miroescleródios ou pelos micélios, a formação de uma teia micelial e a desfolha da planta, podendo aparecer esses sintomas nas vagens do feijão (NECHET E HALFELD-VIEIRA, 2006).

Segundo Nechet, Vilarinho e Halfeld-Vieira (2006), o feijão-caupi apresenta uma variação da reação dos genótipos em relação ao meio ambiente, podendo ser influenciado pela precipitação pluviométrica e o histórico da área, esse último podendo ser responsável pela maior severidade da doença em diferentes ambientes, principalmente em plantas obtidas no ecossistema de cerrado.

*R. solani* é um fungo presente no solo, sendo os primeiros sintomas da doença visíveis nas folhas mais baixas, próximas do solo, na forma de manchas foliares com presença de uma teia micelial característica dessa doença. Esse patógeno preserva-se durante longos períodos no solo por meio de estruturas de resistência, os escleródios, e apresenta alta capacidade de saprofitismo e vários hospedeiros alternativos cultiváveis ou não (PAPAVIZAS & DAVEY, 1961).

A mela é uma doença de difícil controle, não havendo, ainda, fungicidas registrados para uso na cultura do feijão-caupi. Os métodos de controle preconizados para seu controle são a utilização de cultivares resistentes e a rotação de culturas (Nechet e Halfeld-Vieira, 2011).

Uma das alternativas ao controle químico é o controle biológico. De acordo com Lima et al. (2004), o controle biológico, ou biocontrole, é fundamentado nas interações antagônicas que ocorrem entre as espécies.

Segundo Benítez et al. (2004)., determinadas espécies de *Trichoderma* interferem na vida dos fitopatógenos por diversos mecanismos de ação como a competição por espaço e nutrientes, a antibiose, o microparasitismo, a fungistase e a indução de resistência, dentre outros, sendo esse gênero representado por diferentes espécies entre os 90% dos antagonistas utilizados para o biocontrole de fitopatógenos. O comportamento desses fungos como antagonistas é essencial para seu efetivo uso em biocontrole, pois podem atuar utilizando vários mecanismos (Küçük & Kivanç, 2003).

Assim sendo, o objetivo deste trabalho foi selecionar *in vitro* isolados de *Trichoderma* spp., *Bacillus* spp. e *Pseudomonas* spp. como agentes de biocontrole contra *R. solani*, agente causal da mela do feijão-caupi.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

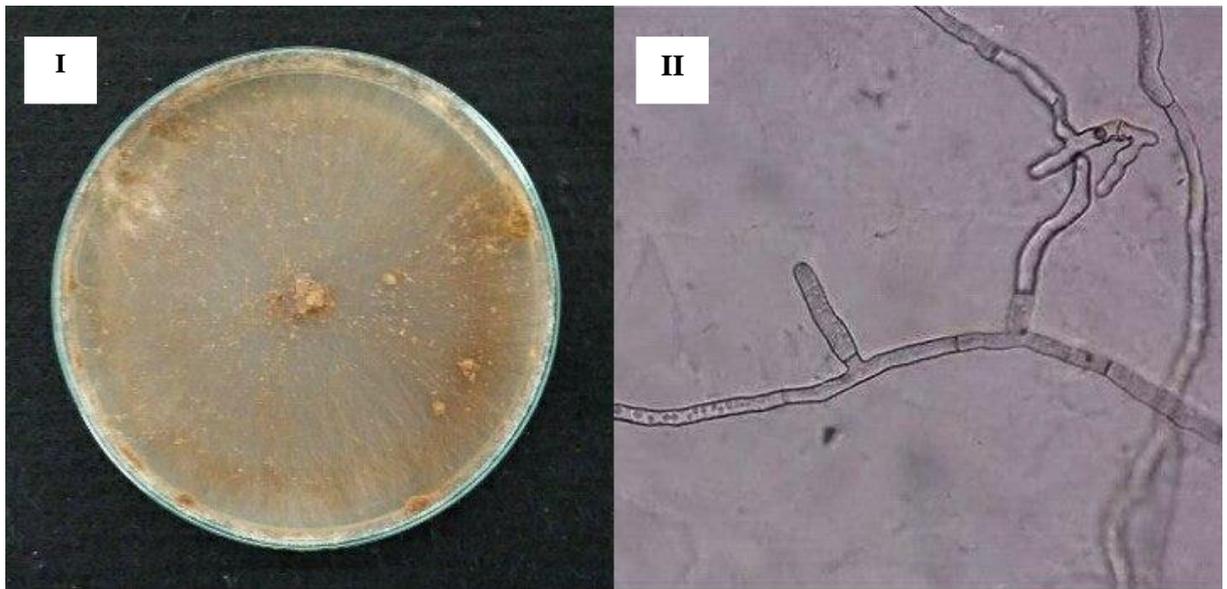
### ***2.1. Rhizoctonia solani***

O fungo *Rhizoctonia solani* Kuhn é pertencente ao Reino Fungi, Filo Basidiomycota, Classe Basidiomycetes, Ordem Ceratobasidiales e Família Ceratobasidiaceae (HAWKSWORHT et al., 1995). É caracterizado pela ramificação em ângulo reto, com septação após o ramo, septo doliporo e constricção na base da ramificação (Fig.1 ), sendo a fase sexuada representada por *Thanatephorus cucumeris* (BUTLER; BOLKAN, 1973, ANDERSON, 1982; ADAMS, 1988). *R. solani* é classificado como fungo imperfeito, pertencente à divisão Deuteromycota, cujos fungos são popularmente denominados deuteromicetos, vivendo no solo saprofiticamente ou exercendo parasitismo sobre diversas culturas anuais ou perenes, animais e outros fungos presentes neste ambiente (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002).

Presente em várias partes do mundo, *R. solani* tem grande capacidade de infectar diversas partes das plantas e causar dessecação de sementes, damping-off, doenças foliares, dessecação de frutos, doenças de raiz e caule (MENZIES, 1965). Foi descrito primeiramente em 1815, por De Candolle, micologista francês, sendo um fungo que não esporula e ataca principalmente raízes através de escleródios (SNEH et al, 1991). Posteriormente, ao observar doenças causadas em tubérculos de batatas, Kühn encontrou um fungo que nomeou de *Rhizoctonia solani* (KÜNH, 1858).

Fungo presente no solo, possui grande capacidade saprofítica, produzindo estruturas de resistência chamadas de escleródios, que permitem sua sobrevivência em determinadas áreas, por longos períodos (PAPAVIZAS; DAVEY, 1961).

**Figura 1.** Colônias de *Rhizoctonia solani* spp. (I) em meio de cultura BDA; Hifas de *Rhizoctonia solani* (II).



**Fonte:** Arquivo pessoal

## 2.2 AGENTES DE BIOCONTROLE

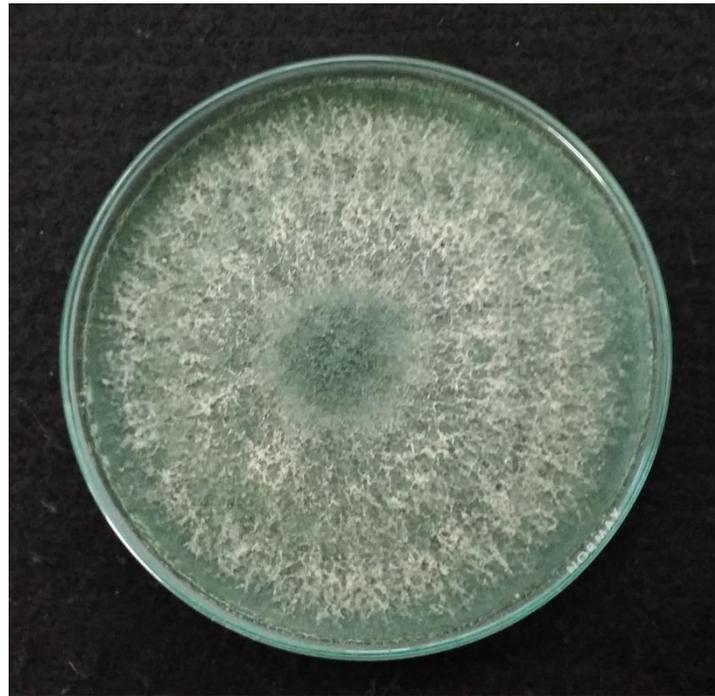
### 2.2.1 *Trichoderma* Spp.

O fungo *Trichoderma* é um microorganismo da família Hypocreaceae, ordem Hypocreales, classe Hyphomycetidae, encontrado em solos, raízes e tecidos vegetais em regiões de clima temperado e tropical (MACHADO et al, 2012). Esse fungo é um dos mais estudados, devido sua utilização como agente de biocontrole e promoção de crescimento em plantas.

A atividade de biocontrole é conhecida há mais de 60 anos, podendo ocorrer de forma indireta por meio da produção de antibióticos, inativando enzimas ou competindo por

nutrientes, já que o *Trichoderma* possui a capacidade de obter ATP do metabolismo de diferentes açúcares, ou de forma direta, atuando como um microparasita (BENÍTEZ et al, 2004; HARMAN et al, 2004; SILVA et al, 2011; WOO et al., 2005;).

**Figura 2.** Colônia de *Trichoderma* spp. em meio de cultura BDA.



**Fonte:** Arquivo pessoal

Em estudos realizados com *Trichoderma* para controle de doença em morangueiros, o fungo reduziu em até 70% o crescimento de *Colletotrichum acutatum*. Além do biocontrole, o mesmo atuou solubilizando metais e aumentando a produtividade da cultura (LORENZETTI, 2012). Santos (208) afirmou que o uso de *Trichoderma* com inoculação prévia em substratos proporcionou o aumento de matéria seca e fresca em plantas de maracujazeiro-azedo oriundas de estacas. Weindling e Fawcett (1936) realizaram estudos sobre o uso de estirpes de *Trichoderma* para controle de *R. solani* Kühn em citros, na tentativa de controlar outras doenças que poderiam ser causadas por outros fungos.

### 2.2.2 Rizobactérias

A rizosfera do solo, região com influência do sistema radicular das plantas, é colonizada por diversos microorganismos (SCHROTH; HANCOCK, 1982), sendo importante para processos de nutrição de plantas, trocas gasosas, gradientes de unidades do solo, amonificação, nutrição, simbiose e mineralização (MELO, 2005). Algumas rizobactérias, quando presentes no substrato, promovem o enraizamento, crescimento e biocontrole de plantas (TEIXEIRA, 2001; MAFIA et al., 2005; TEIXEIRA et al., 2005). Atualmente, o controle biológico vem sendo uma ferramenta indispensável para a maior eficiência de controle e um menor custo na utilização de terras (VIEIRA JÚNIOR, 2005). As bactérias dos gêneros *Aeromonas*, *Azoarcus*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Arthobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Gluconacetobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas* e *Serratia*, são as principais encontradas em raízes de plantas (PODILE E KISHORE, 2006). Dentre estas, podemos destacar as do gênero *Pseudomonas*, que, predominantes em boa parte da rizosfera, são capazes de atuar como agentes de controle biológico e de promover de crescimento, presentes em raízes e tubérculos, estimuladas pelos exudatos radiculares e produzindo grandes variedades de metabólitos secundários tóxicos a fungos e bactérias causadores de doenças, destacando-se os antibióticos e alcalóides (HERNÁNDEZ et al., 1999).

Outro gênero muito estudado é o *Bacillus*, que forma estruturas de resistência chamadas endósporos, capazes de permanecer por anos em vários tipos de ambiente (FREITAS et al., 1997). Microorganismos muito abundantes no solo, são bons antagonistas contra vários patógenos, sendo seu principal mecanismo de ação a antibiose (SANTOS et al. 2006).

Diversos estudos foram feitos com bactérias do gênero *Pseudomonas*, tendo resultados positivos no biocontrole de fitopatógenos. SANTOS et al. (2009), ao avaliar o antagonismo de *P. fluorescens* a *Macrophomina phaseolina*, concluiu que 19 isolados foram inibidores deste patógeno em meio de cultura BDA, sendo mais eficiente o isolado PG45, com 54,2% de inibição do fitopatógeno, confirmando assim a capacidade deste antagonista de produzir diversos antibióticos. Monteiro (2002) testou oito isolados do gênero *Bacillus*, dentre os quais quatro produziram substâncias que inibiram o crescimento de *Xanthomonas campestris* pv. *Campestris*, das espécies *B. subtilis*, *B. megaterium* PV. *cerealis*, *B. megaterium* e *B. cereus*, onde os dois primeiros foram mais eficientes em relação à atividade antimicrobiana.

**Figura 3.** Colônias de *Bacillus* sp. em meio NA (I) e de *Pseudomonas* sp. em meio King B (II).



Fonte: Arquivo pessoal

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Localização da Área de Estudo

O experimento foi realizado no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Amazônia Oriental, em Belém, PA, no período de Janeiro a Março de 2017.

#### 3.2. Antagonismo *in vitro* com Rizobactérias

O experimento foi realizado pelo método de pareamento de colônias. *R. solani* foi isolado em meio de Ágar-Água e cultivado em meio Batata-Dextrose-Agar (BDA), incubado sete dias, em regime alternado de luz (12 h claro/12 h escuro), à temperatura de  $24 \pm 2$  °C. As bactérias foram cultivadas em meio de Nutriente-Ágar (NA) e King B por 48 horas, nas mesmas condições. Posteriormente, discos de micélio do patógeno ( $\phi = 9$  mm) retirados da extremidade das colônias foram colocados em dois pontos equidistantes das placas de Petri contendo BDA, onde um risco de crescimento bacteriano foi previamente traçado no centro das placas de Petri, com auxílio de uma alça de Drigalski. As placas assim inoculadas foram incubadas à temperatura de  $28 \pm 2$  °C, com fotoperíodo de 12h, até que os fungos do tratamento controle, sem a presença dos agentes causais, completassem seu crescimento, o que ocorreu após quatro dias de incubação.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições, utilizando-se 51 isolados de rizobactérias (23 de *Pseudomonas* spp. e 27 de *Bacillus* spp.) provenientes da coleção de rizobactérias do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Amazônia Oriental, coletadas da rizosfera de plantas de coqueiros de plantio comercial localizado no município de Moju, estado do Pará. Foi medido o raio da colônia dos patógenos na presença de cada antagonista, com auxílio de paquímetro digital, e foi calculado o Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM), segundo equação adaptada de Oliveira (1991):  $IVCM = \frac{\sum R - Ra}{N}$ , sendo IVCM= Índice de Velocidade de Crescimento Micelial, R= Raio atual da colônia, Ra= Raio da colônia no dia anterior e N= número de dias após o início do experimento. O percentual de controle dos antagonistas sobre os patógenos foi calculado pela diferença entre o diâmetro da colônia dos patógenos no tratamento controle e na presença dos antagonistas. Os dados obtidos foram submetidos ao teste F a 5% de probabilidade e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 5%. Foi utilizado o programa estatístico SISVAR, versão 7.7.

### 3.3 Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. contra *R. solani*.

Os antagonistas foram isolados em meio de Ágar-Água, repicados para o meio de Batata-Dextrose-Agar (BDA) e incubados por cerca de sete dias, em regime alternado de luz (12h claro/12h escuro), à temperatura de  $24 \pm 2$  °C. Posteriormente, discos de micélio do patógeno e do antagonista foram colocados em extremidades opostas de placas de Petri contendo BDA. As placas inoculadas foram incubadas à temperatura de  $28 \pm 2$  °C, com fotoperíodo de 12h claro/escuro, até os fungos do tratamento controle, sem a presença dos agentes causais, completassem seu crescimento, o que ocorreu após quatro dias de incubação. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições, utilizando-se 27 isolados de *Trichoderma* spp. provenientes da coleção do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Amazônia Oriental, conforme mencionado no experimento anterior. Foi medido o raio da colônia dos patógenos na presença de cada antagonista, com auxílio de paquímetro digital, e foi calculado o Índice de Velocidade de Crescimento Micelial, segundo equação adaptada de Oliveira (1991):  $IVCM = \frac{\sum R - Ra}{N}$ , sendo IVCM= Índice de Velocidade de Crescimento Micelial, R= Raio atual da colônia, Ra= Raio da colônia no dia anterior e N= número de dias após o início do experimento. O percentual de controle dos antagonistas sobre os patógenos foi calculado pela diferença entre o diâmetro da colônia dos patógenos no tratamento controle

e na presença dos antagonistas. Os dados obtidos foram submetidos ao teste F a 5% de probabilidade e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 5%. Foi utilizado o programa estatístico SISVAR, versão 7.7.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Antagonismo *in vitro* de rizobactérias contra *Rhizoctonia solani*.

Os resultados obtidos nos testes de antagonismo de *Pseudomonas* spp. contra *R.solani* encontram-se na Tabela 1. O IVCM de *R. solani* na presença dos isolados de *Pseudomonas* spp. variou de 58,10 mm a 28,48 mm, enquanto que na ausência dos mesmos (tratamento controle), este índice foi de 86,94 mm, sendo, portanto, superior à maioria dos tratamentos. Isso indicou que houve inibição do crescimento micelial do fitopatógeno na presença da maioria dos antagonistas, com 95% dos 23 isolados apresentando diferença significativa em relação ao controle. Entre os tratamentos que apresentaram diferença estatística significativa em relação ao controle, P26 apresentou o maior potencial antagônico, com 67,23% de inibição do crescimento micelial de *R. solani* (Figura 1). Em seguida, vieram os tratamentos P02, P21, P40 e P18, os quais apresentaram percentuais de controle de 65,01%, 64,88%, 55,16% e 46,91%, respectivamente.

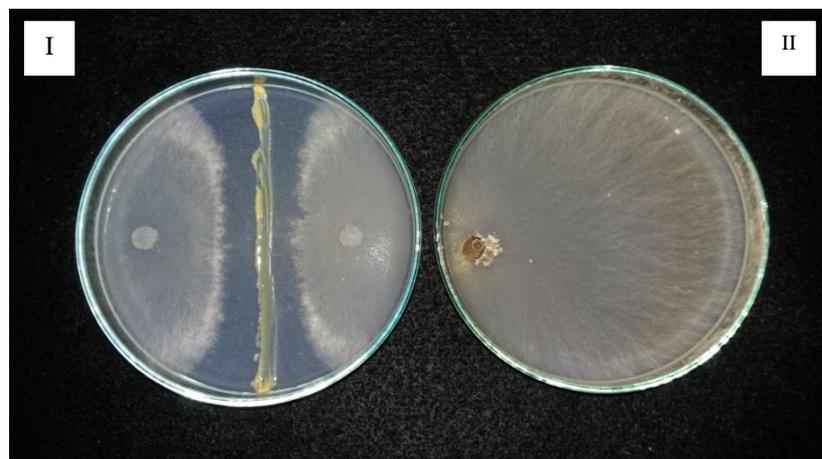
**Tabela 1.** Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) médio de *Rhizoctonia solani* na presença de isolados de isolados de *Pseudomonas* spp..

Isolado de <i>Pseudomonas</i> spp.	IVCM	%
<b>P 2</b>	30,416000a	65,01
<b>P 4</b>	58,104000d	33,17
<b>P 7</b>	58,006000d	33,28
<b>P 8</b>	55,090000d	36,63
<b>P 12</b>	48,736000c	-60,23
<b>P 14</b>	55,712000d	35,92
<b>P 17</b>	57,630000d	33,71

<b>P 18</b>	46,154000c	46,91
<b>P 21</b>	30,530000a	64,88
<b>P 22</b>	55,306000d	36,39
<b>P 23</b>	48,876000c	43,78
<b>P 24</b>	51,718000c	40,51
<b>P 25</b>	51,004000 c	41,33
<b>P 26</b>	28,484000a	67,23
<b>P 29</b>	51,696000 c	40,54
<b>P 31</b>	55,090000a4	36,63
<b>P 32</b>	58,000000 d	33,29
<b>P 33</b>	58,430000 d	32,79
<b>P 36</b>	49,492000 c	43,07
<b>P 38</b>	51,608000c	40,64
<b>P 39</b>	53,218000c	38,79
<b>P 40</b>	38,980000b	55,16
<b>P 41</b>	57,286000 d	34,11
<b>Testemunha</b>	86,946000 e	0
<b>CV %12,72</b>		

\*Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si pelo teste de Skontt-Knott a 5% de probabilidade.

**Figura 4.** Efeito do isolado P26 (*Pseudomonas* sp.) sobre o crescimento *in vitro* de *Rhizoctonia solani* (I) Testemunha (sem antagonista); (II) Placa com Patógeno na presença do antagonista.



**Fonte:** Arquivo pessoal

A utilização de microrganismos antagonísticos no controle das doenças de importância agrícola representa uma estratégia relevante para assegurar boas condições sanitárias com menores danos ao meio ambiente e à saúde pública (MELO, 2000). O potencial inibitório dos isolados de *Pseudomonas* também diferiu significativamente contra *R. solani*, sendo isolados P26 o que exerceu maior efeito inibitório sobre o patógeno.

Os resultados obtidos nos testes de antagonismo de *Bacillus* spp. contra *R. solani* encontram-se na Tabela 2, onde 96% dos 26 isolados testados apresentaram diferença significativa em relação ao tratamento controle, manifestando potencial de inibição ao fitopatógeno. O IVCm variou entre 50,85 e 20,68 mm na presença dos antagonistas, enquanto que na testemunha o índice foi de 56,56 mm.

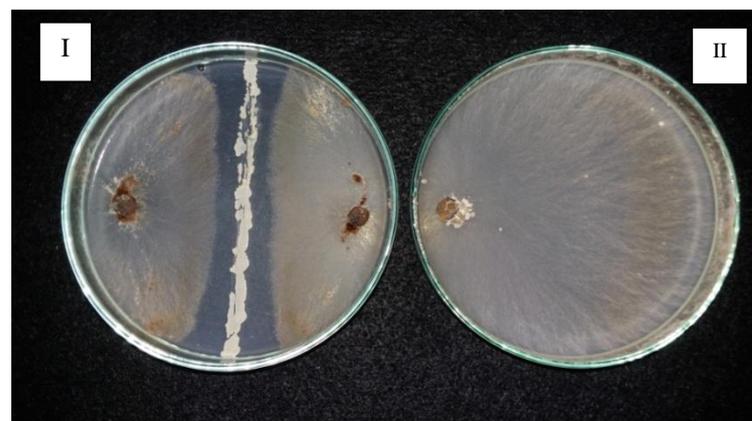
**Tabela 2.** Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) médio de *Rhizoctonia solani* na presença de isolados de isolados de *Bacillus* spp..

<b>Isolado de <i>Bacillus</i> spp.</b>	<b>IVCM</b>	<b>%</b>
<b>B1</b>	50,372000 d	10,94
<b>B2</b>	45,358000 c	19,81
<b>B5</b>	31,546000 b	44,22
<b>B8</b>	31,200000 b	44,84
<b>B9</b>	30,328000 b	46,38
<b>B11</b>	31,816000 b	43,75
<b>B14</b>	32,054000 b	43,33
<b>B16</b>	31,948000 b	43,51
<b>B17</b>	45,262000 c	19,98
<b>B20</b>	31,694000 b	43,96
<b>B21</b>	20,680000 a	63,43
<b>B23</b>	50,662000 d	10,43
<b>B24</b>	34,754000 b	38,55
<b>B25</b>	49,202000 d	13,01

<b>B27</b>	41,440000 c	26,73
<b>B28</b>	44,962000 c	20,51
<b>B29</b>	32,988000 b	41,68
<b>B33</b>	43,890000 c	22,40
<b>B34</b>	50,858000 d	10,08
<b>B35</b>	37,584000 b	33,55
<b>B44</b>	29,048000 b	48,64
<b>B46</b>	31,108000 b	45,00
<b>B48</b>	43,814000 c	22,54
<b>B50</b>	49,462000 d	12,55
<b>B52</b>	35,876000 b	36,57
<b>B60</b>	30,774000 b	45,59
<b>B64</b>	49,560000 d	12,38
<b>Testemunha</b>	56,564000 e	0
<b>CV % 10,73</b>		

\*Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si pelo teste de Skontt-Knott a 5% de probabilidade.

O tratamento que proporcionou menor crescimento micelial na presença dos antagonistas foi o isolado B21, com 20.68 mm e percentual de 63,43% de inibição de *R.solani* (Figura 2) seguido de B44, B09, B60 e B46, com os percentuais de controle de 48,64%,46,38%, 45,59%, 45,00%, respectivamente. Os resultados obtidos neste estudo comprovaram o potencial de *Bacillus* spp. para o controle *in vitro* de *R. solani*.



**Figura 5.** Efeito do isolado B21 (*Bacillus* sp.) sobre o crescimento *in vitro* de *Rhizoctonia solani*. (I) Testemunha (sem antagonista); (II) Placa com Patógeno na presença do antagonista.

Resultados semelhantes ao que está sendo relatado no presente estudo foram descritos por outros grupos de estudo que empregaram metodologia similar para avaliar a atividade fungistática de *Bacillus spp.* e *B. subtilis* contra fungos causadores de doenças em plantas (ANGONESE et al., 2009; ASAKA; SHODA, 1996; FERREIRA et al., 1991; KALITA et al., 1996; KUPPER et al., 2003; PUSEY; WILSON, 1984; PUSEY et al., 1986; SONODA; GUO, 1996). Estudos demonstraram que bactérias do gênero *Bacillus* possuem grande potencial para serem usadas como agentes de controle biológico de fungos fitopatogênicos.

A maioria dos isolados testados neste estudo foram capazes de inibir o crescimento micelial de *R. solani* sp., provavelmente devido à produção de substâncias que impediram o desenvolvimento desse fitopatógeno pois, para Arras & Arru (1997), citados por Kupper et al. (2003), as bactérias antagônicas como *Bacillus* sp., de modo geral, agem com mecanismos de antibiose e, ocasionalmente, por parasitismo e competição.

#### **4.2 Antagonismo in vitro de *Trichoderma spp.* contra *R. solani*.**

Os resultados obtidos nos testes de antagonismo de *Trichoderma spp.* contra *R. solani* encontram-se na Tabela 3, onde 60% dos 27 isolados testados apresentaram diferença estatística significativa em relação ao tratamento controle, manifestando potencial de inibição ao fitopatógeno. O IVCm variou de 59,43 mm a 26,88 mm na presença dos isolados de *Trichoderma spp.*, enquanto que no tratamento controle, este índice foi de 44,49 mm, indicando que houve inibição do crescimento micelial do patógeno na presença dos antagonistas. Dentre os tratamentos que apresentaram diferença estatística significativa do controle, o que proporcionou menor crescimento micelial do fitopatógeno foi T2, com o IVCm de 26,88 mm, indicando o percentual de controle de 39,57%, seguido dos isolados T43, T14, T8, T28, os quais promoveram os percentuais de controle do crescimento micelial de *R. solani* de 29,43%, 27%, 25%, 22,20%, respectivamente.

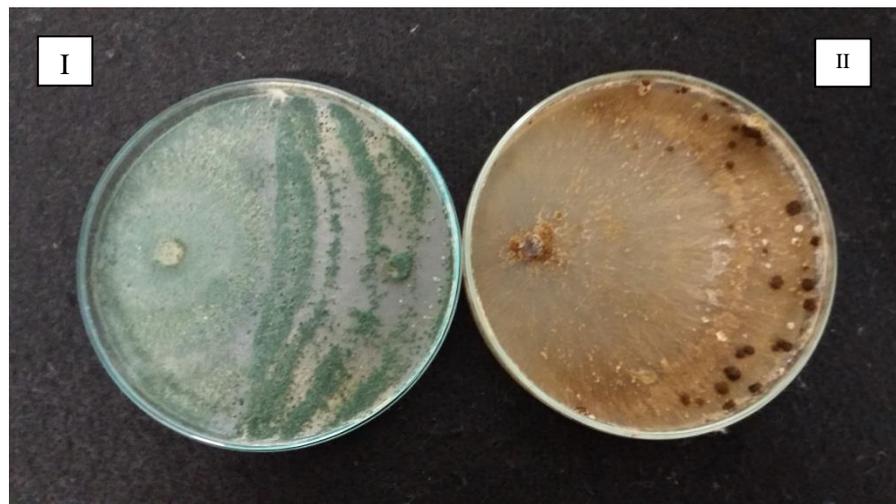
**Tabela 3.** Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) médio de *R. solani* na presença de isolados *Trichoderma spp.*.

<b>Isolado de <i>Trichoderma</i> spp.</b>	<b>IVCM</b>	<b>%</b>
<b>T1</b>	38.046000 b	14,49
<b>T2</b>	26.886000 a	39,57
<b>T8</b>	33.370000 a	25,00
<b>T9</b>	36.064000 b	18,95
<b>T14</b>	32.482000 a	27,00
<b>T15</b>	35.880000 b	19,36
<b>T16</b>	37.046000 b	16,74
<b>T21</b>	42.766000 c	3,88
<b>T28</b>	34.614000 b	22,20
<b>T 31</b>	39.0160000c	12,31
<b>T 32</b>	41.944000b	5,73
<b>T 33</b>	46.630000c	-4,79
<b>T 34</b>	42.760000 c	3,90
<b>T36</b>	34.936000 b	21,48
<b>T 37</b>	38.066000 b	14,45
<b>T 38</b>	49.044000 c	-10,22
<b>T 41</b>	36.116000 b	18,83
<b>T43</b>	31.400000 a	29,43
<b>T 44</b>	36.554000 b	17,84
<b>T45</b>	40.292000 c	9,44
<b>T52</b>	46.136000 c	-3,68
<b>T53</b>	39.204000 b	11,89
<b>T56</b>	43.592000 c	2,03
<b>T57</b>	37.722500 b	15,22
<b>T58</b>	35.964000 b	19,17
<b>T59</b>	43.814000 c	1,53
<b>T60</b>	42.194000 c	5,17
<b>Testemunha</b>	44.496000 c	0

<b>CV% 11.91</b>
------------------

\*Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si pelo teste de Skontt-Knott a 5% de probabilidade.

**Figura 6.** Efeito do isolado T02 (*Trichoderma* spp.) sobre o crescimento *in vitro* de *Rhizoctonia solani* (I) Placa com o patógeno na presença do antagonista.; (II) Testemunha (sem antagonista).



**Fonte:** Arquivo pessoal

A inibição dos fitopatógenos por *Trichoderma* spp., é um aspecto importante para a sobrevivência do agente de biocontrole no meio ambiente (SAMUELS, 1996). A Figura 6 representa o teste de pareamento em placa, tendo sido considerado o isolado T02 o mais eficiente frente ao fitopatógeno. O crescimento dos fitopatógenos foi mais lento na presença das espécies de *Trichoderma* spp., do que na ausência dele (controle).

Ao final da avaliação experimental, foi observada a presença de esporos de *Trichoderma* spp. nas hifas do hospedeiro. Os isolados testados neste trabalho mostraram maior consistência em termos de competição por espaço e nutrientes, chegando a esporular sobre a colônia do patógeno, o que vai de encontro ao relato de Bossalis (1964), que aponta a abundância de esporulação de *Trichoderma* spp. Algumas linhagens de trichoderma são utilizadas no controle de fitopatógenos e na promoção de crescimento vegetal devido a sua versatilidade de ação, como parasitismo, antibiose e competição, além de atuarem como indutores de resistência das plantas contra doenças. Essas características tornam trichoderma um dos fungos mais pesquisados em condições de laboratório, casa de vegetação, no Brasil,

estufa em Portugal, e campo (Altomare et al., 1999; Harman et al. 2004a; Resende et al., 2004; Delgado et al., 2007; Filho et al., 2008; Louzada et al., 2009; Hoyos-Carvajal, Orduz, e Bissett, 2009).

## 5 CONCLUSÕES

Dos isolados bacterianos, P26 (*Pseudomonas* spp.) e B21 (*Bacillus* spp.) apresentaram-se promissores para o controle *in vitro* de *R. solani*.

O isolado T02 (*Trichoderma* spp.), foi eficiente no controle *in vitro* de *R. solani*.

Os isolados P26 (*Pseudomonas* spp.) B21 (*Bacillus* spp.) e T02 (*Trichoderma* spp.) atuaram significativamente contra o fitopatógeno, apresentando potencial de utilização em futuros programas de controle biológico da mela em feijão-caupi.

## 6 . REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, G.C. Thanatephorus cucumeris (Rhizoctonia solani), a species complex of wide host range. **Advances in Plant Pathology**, London, v.6, p.535-552, 1988

Altomare, C.; Norvell, W.A.; Björkman, T. e Harman, G.E. (1999) - Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. **Applied and Environmental Microbiology**, 65, 7: 2926-2933.

ANDERSON, N.A. The genetics and pathology of *Rhizoctonia solani*. **Phytopathology**, St. Paul, v.20, p.329-344, 1982.

ANGONESE, M. T.; DELLA-GIUSTINA, J.; PAIM, L. H.; PANSERA, M. R.; PAGNO, R. S.; MEZZOMO, F.; ZORZI, E.; PEREIRA, C. O. F.; RIBEIRO, R. T. S. Fungistatic effect of *Bacillus* spp on plant pathogenic fungi. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 4, n. 2, p. 97-100, 2009.

ASAKA, O.; SHODA, M. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping-off of tomato with *Bacillus subtilis* RB14. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 62, p. 4081-4085, 1996.

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

BOSSALIS, M.C. Hyperparasitism. **Annual Review of Phytopathology**, v.2, p.363-375, 1964.

BUTLER, E.E; BOLKAN, H.A medium for heterokaryon formation in *Rhizoctonia solani*. **Phytopathology**, St. Paul, v.63, p.542-543, 1973.

CARDOSO, M.J.; FREIRE FILHO, F.R.; ATHAYDE SOBRINHO, C. **Cultura do feijão macassar (*Vigna unguiculata* L. Walp) no Piauí : aspectos técnicos**. Teresina: EMBRAPA/UEPAE de Teresina, 1991, 43p. Circular Técnica, 9

Delgado, G.V.; Martins, I.; Menêzes, J.E.; Macedo, M.A. e Mello, S.C.M. (2007) - **Inibição do crescimento de *Sclerotinia sclerotiorum* por *Trichoderma* spp. in vitro**. *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento*, 214. Brasília, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 12 p.

FERREIRA, J. H. S.; MATTHEE, F. N.; THOMAS, A. C. Biological control of *Eutypalata* on grape vine by antagonistic strain of *Bacillus subtilis*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 81, p. 283-287, 1991.

FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; ROCHA, M. M.; SILVA, K. J. D.; NOGUEIRA, M. S. R.; RODRIGUES, E. V. **Feijão-caupi no Brasil: Produção, melhoramento genético, avanços e desafios**. 1. ed. Teresina, Pi. Embrapa Meio-Norte, 2011. 84 p.

Filho, M.R.C.; Mello, S.C.M.; Santos, R.P. e Menêzes, J.E. (2008) - **Avaliação de isolados de *Trichoderma* na promoção de crescimento, produção de ácido indolacético in vitro e colonização endofítica de mudas de eucalipto**. *Boletim de pesquisa e desenvolvimento*, 226. Brasília, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

FREITAS, J.R.; BANERJEE, M.R.; GERMIDA, J.J. Phosphate-solubilizing rhizobacteria enhance the growth and yield but not phosphorus uptake of canola (*Brassica napus* L.). **Biology and Fertility of Soils**, New York, 24:358-364, 1997.

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.; Petzoldt, R.; Comis, A. e Chen, J. (2004b) - Interactions between *Trichoderma harzianum* Strain T22 and maize inbred line Mo17 and effects of these interactions on diseases caused by *Pythium ultimum* and *Colletotrichum graminicola*. **Plant Physiology**, 94, 2: 146-153.

HAWKSWORTH, DL, Kirk PM, Sutton BC, Pegler DM (1995). **Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi**. 8th edition. CAB International, Wallingford.

Hoyos-Carvajal, L.; Orduz, S. e Bissett, J. (2009) - Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*. **Biological Control**, 51: 409–416.

KALITA, P.; BORA, L. C.; BHAGABATI, K.N. Phylloplanemicroflora of citrus and their role in management of citrus canker. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v. 49, p. 234-237, 1996.

KÜHN, J. G. 1858. **Die Krankheiten der Kulturege-whächse, ihreursachen und ihreverhütung**. Gustav Bosselmann, Berlin, 312 p.

KUPPER, K. C.; GIMENES-FERNANDES, N.; GOES, A. Controle biológico de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da queda prematura dos frutos cítricos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 3, p. 251-257, 2003.

KÜÇÜK, Ç. & KIVANÇ, M. Isolation of *Trichoderma* spp. and determination of their antifungal, biochemical and physiological features. **Turk. J. Biol.**, 27: 247-253, 2003.

LIMA, L.H.C.; DE MARCO, J.L.; FELIX, C.R. **Enzimas hidrolíticas envolvidas no controle biológico por micoparasitismo**. In: Melo, I.S.; Azevedo, J.L (Ed.). Controle Biológico. Jaguariúna: Em brapa Meio Ambiente, 2000. v.2, p. 263-304. Benítez et al. (2004).

LORENZETTI, EMI RAINILDES. **Controle de doenças de morangueiro com óleos essenciais e *Trichoderma* spp.** 2012. 106 p. Tese(Doutorado)- Universidade Federal de Lavra. 2012.

Louzada, G.A.S; Carvalho, D. D. C; Mello, S.C.M., Lobo Júnior, M.; Martins, I., Braúna L.M. (2009) - Potencial antagônico de *Trichoderma* spp. originários de diferentes ecossistemas contra *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium solani*. **Biota neotropica**, 9, 3: p.145–149.

MACHADO, D.F.N.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C. F.; ANTONIOLLI, Z. I. *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 274-288. 2012.

MAFIA, R. G. et al. Crescimento de mudas e produtividade de minijardins clonais de eucalipto tratados com rizobactérias selecionadas. **Revista Árvore**, v.29, n.6, p.843-851, 2005.

MELO, I.S., FAULL, J.L. Parasitism of *Rhizoctonia solani* by strains of *Trichoderma* spp. **Scientia Agrícola**, v.57, n.1, p.55-57, 2000.

MELO, I. S. **Ecologia da Rizosfera e Filosfera**. EMBRAPA Meio Ambiente, 2005. Disponível em: [http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agricultura\\_e\\_meio\\_ambiente/arvore](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agricultura_e_meio_ambiente/arvore) &gt;. Acesso em: 03 de março de 2017.

MENZIES, J. D.. Symposium on *Rhizoctonia solani* held at in Miami meeting of the society, October, 1965. **The first century of rhizoctonia solani soils laboratory, soil and conservation research division, agricultural research service united states departament of agriculture**, Beltsville, Maryland.

MONTEIRO, L. **Produção de substâncias bioativas de bacillus spp. Contra xanthomonas campestris pv. Campestris**. Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em biotecnologia de produtos bioativos para obtenção do título de mestre em biotecnologia. Recife, 2002.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: Editora UFLA, 2002. 626 p.

NECHET KL, VILARINHO AA, HALFELD-VIEIRA BA (2006) **Reação de Genótipos de Feijão-Caupi a Mela (*Rhizoctoniasolani*) em Três Ecossistemas de Roraima**. Anais, I. Congresso Nacional de Feijão-Caupi- CONAC. Teresina PI. (Resumo expandido)

NECHET, K.L. & HALFELD-VIEIRA, B.A. Efeito do inóculo, período de molhamento foliar e do estágio fenológico do feijão-caupi no desenvolvimento da mela. **Tropical Plant Pathology**. 36 .2011

PAPAVIZAS, G. C.; DAVEY, C. B. **Saprophytic behavior of Rhizoctonia in soil**. **Phytopathology**, v. 51, p. 693-699, 1961.

PODILE, A. R.; KISHORE, G. K. **Plant growth-promoting rhizobacteria**. In: GNANAMANICKAM, S. S. (Ed.). *Plant-associated bacteria*. Netherlands: Springer, 2006. p. 195-230.

PUSEY, P. L.; WILSON, C. L. Postharvest biological control of stone fruit brown rot by *Bacillus subtilis*. **Plant Disease**, St. Paul, v. 68, p. 753-756, 1984.

PUSEY, P. L.; WILSON, C. L.; HOTCHKISS, M. W.; FRANKLIN, J. D. Compatibility of *Bacillus subtilis* for postharvest control of peach brown rot with commercial fruit waxes, dicloran, and coldstorage conditions. **Plant Disease**, St. Paul, v. 70, p. 587-590, 1986.

Resende, M.L.; Oliveira, J.A.; Guimarães, R.M.; Pinho, R.G.V. e Vieira, A.R. (2004) - Inoculações de sementes de milho utilizando o *Trichoderma harzianum* como promotor de crescimento. **Ciência e Agrotecnologia**, 28, 4: 793-798.

SANTOS et al. Controle biológico da mancha aquosa do melão por compostos bioativos produzidos por *Bacillus* spp. **Summa Phytopathologica** 32: 376-378, 2006.

SANTOS, P.J.C.1; BENATO, L.C.2; SOUZA, N.V.2; VIEIRA, N.D.2; ALMEIDA, A.M.R.2. Utilização de *Pseudomonas fluorescens* no controle biológico de *Macrophomina phaseolina*. V Jornada Acadêmica da Embrapa Soja. P 130-132. Londrina. 2009.

SANTOS, H. A. **Trichoderma spp. como promotores de crescimento em plantas e como Antagonistas A *Fusarium oxysporum***. 2008. 94 f. Dissertação (Mestrado em ciências agrárias) – Faculdade de agronomia e medicina veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

SCHROTH, M. N.; HANCOCK, J. G. Disease suppressive soil and root-colonizing bacteria. **Science**, v.216, p.1376-1381, 1982.

SILVA, V.N.; GUZZO, S.D.; LUCON, C.M.M.; HARAKAVA, R. Promoção de crescimento e indução de resistência à antracnose por *Trichoderma* spp. em pepineiro. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.46, n.12, p.1609-1618, dez. 2011

SNEH, B.; BURPEE, L.; OGOSHI, A. **Identification of Rhizoctonia species**. Minnesota: USA. APS Press, 1991.

SONODA, R. M.; GUO, Z. Effect of spray applications of *Bacillus subtilis* on postbloom drop of citrus. **Phytopathology**, St. Paul, v. 86, p. S52, 1996. Suplemento.

TEIXEIRA, D. A. **Promoção de enraizamento e indução de resistência sistêmica à ferrugem e à mancha-de-Cylindrocladium, mediadas por rizobactérias em clones de Eucalyptus spp.** 2001. 67f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2001.

TEIXEIRA, D. A. et al. Evidências de indução de resistência sistêmica à ferrugem do eucalipto mediada por rizobactérias promotoras do crescimento de plantas. **Fitopatologia Brasileira**, v.30, n.4, p.350-356, 2005.

VIEIRA JÚNIOR, J. R. **Procariotas residentes de filoplano do feijoeiro como agentes de biocontrole de enfermidades da parte aérea da cultura.** 146p, 2005. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

WEINDLING, R. & FAWCETT, W.S. **Experiment in the control of Rhizoctonia damping-off of citrus seedling.** Hilgardia, 10:1-16, 1936

WOO, S.L.; SCALA, F.; RUOCCO, M. E LORITO, M. (2005).The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi, and plants. **Phytopathology**, v.96, n.2, p. 181–185.