

# EFEITO DE BIOFERTILIZANTES SOBRE O CRESCIMENTO MICELIAL E A GERMINAÇÃO DE ESPOROS DE ALGUNS FUNGOS FITOPATOGÊNICOS<sup>1</sup>

RENATO TRATCH<sup>2</sup> e WAGNER BETTIOL<sup>3</sup>

RESUMO - Biofertilizantes produzidos a partir da fermentação anaeróbia de esterco bovino acrescido de leite, açúcar, sais, restos de fígado bovino e farinha de osso, por 73 dias, foram testados sobre o crescimento micelial de *Pythium aphanidermatum*, *Alternaria solani*, *Stemphylium solani*, *Septoria lycopersici*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* e sobre a germinação de conídios de *B. cinerea*, *A. solani*, *Hemileia vastatrix* e *Coleosporium plumierae*. Em relação à inibição do crescimento micelial verificou-se que, de modo geral, acima da concentração de 10% ocorreu completa inibição do crescimento desses fungos. Concentrações dos biofertilizantes acima de 20, 10, 5 e 1% inibiram totalmente a germinação de *B. cinerea*, *A. solani*, *C. plumierae* e *H. vastatrix*, respectivamente. Ao longo do estudo foram utilizados três diferentes biofertilizantes, tendo um deles apresentado comportamento diferenciado, isto é, menos efetivo. Na produção desse biofertilizante foi utilizado esterco originário de vaca leiteira confinada, enquanto nos demais de vaca leiteira submetida a pastoreio.

Termos para indexação: controle biológico, matéria orgânica.

## EFFECT OF BIOFERTILIZERS ON MICELIAL GROWTH AND SPORES GERMINATION OF PLANT PATHOGENIC FUNGI

ABSTRACT - The biofertilizer was produced through anaerobic fermentation of cow manure adding milk, sugar, salts, cow liver parts and bone powder. After 73 days of fermentation it was evaluated the effect on micelial growth of *Pythium aphanidermatum*, *Alternaria solani*, *Stemphylium solani*, *Septoria lycopersici*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* and spores germination of *B. cinerea*, *A. solani*, *Hemileia vastatrix* and *Coleosporium plumierae*. In relation to micelial growth inhibition, the growth rate was calculated and it was found that, in general, concentrations over 10% caused a total inhibition of growth for the majority of fungi assayed. In case of spores germination, biofertilizer concentration over 20% has inhibited completely the germination of *B. cinerea*, over 10% inhibited *A. solani*, 5 and 1% of *C. plumierae* and *H. vastatrix*, respectively. Three different biofertilizers were also tested and one of them was less effective, which was the one produced with manure from confined cows opposed to the others produced with grazing cows.

Index terms: biological control, organic matter.

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 22 de julho de 1997.

<sup>2</sup> Eng. Agr., aluno de Mestrado da UNESP/Botucatu, Dep. de Defesa Fitossanitária, Caixa Postal 237, CEP 18603-970 Botucatu, SP.

<sup>3</sup> Eng. Agr., Ph.D., Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Monitoramento e Avaliação de Impacto Ambiental (CNPMA), Caixa Postal 69, CEP 13820-000 Jaguariúna, SP. Bolsista do CNPq. E-mail: bettiol@cnpma.embrapa.br

## INTRODUÇÃO

Alternativas ao controle químico de doenças, pragas e plantas invasoras vêm sendo estudadas com a finalidade de minimizar os problemas causados pelo uso de pesticidas. O uso de matéria orgânica, tanto por sua incorporação ao solo como por sua transformação para posterior uso, tem sido viabilizado (Hoitink & Fahy, 1986; Boehm & Hoitink, 1992). Uma das transformações conhecidas da matéria orgânica é a fermentação anaeróbia de esterco de gado, produzindo um efluente denominado biofertilizante. Esse produto é usado em pulverização foliar ou aplicado ao solo, tanto para fins nutricionais como para o controle de doenças e pragas.

A ação do biofertilizante, originário da fermentação anaeróbia do esterco bovino, foi observada por Castro et al. (1991) sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, *Thielaviopsis paradoxa*, *Penicillium digitatum*, *Fusarium* sp. e *Cladosporium* sp. McQuilken et al. (1994), usando um extrato aquoso de composto de esterco de cavalo e de aves, verificaram inibição do crescimento micelial e da germinação de conídios de *B. cinerea*, em todas as idades de extração de extrato. A inibição da germinação de conídios também foi observada por Stindt & Weltzien (1988) usando um extrato aquoso de composto de cavalo, gado bovino e bagaceira. Vida et al.

(1993), usando o efluente de esterco bovino fermentado em biodigestor durante 40 dias, obtiveram o controle de *Erysiphe polygoni*, causador do oídio em feijão-vagem sob condições de casa de vegetação, em que, nas diluições de 1:4 e 1:8, o controle foi semelhante ao do fungicida iprodione, utilizado como padrão. O controle de *B. cinerea*, com extrato aquoso de compostos originários de esterco de cavalo, de gado e de aves, foi relatado por diversos autores em feijão, alface, tomate e pimentão (Stindt & Weltzien, 1988; Elad & Shtienberg, 1994; McQuilken et al., 1994). Em estufas comerciais, Elad & Shtienberg (1994) obtiveram controle parcial da infestação de *Leveillula taurica* em tomateiro. Mergulhando ou pulverizando folhas de videira com um extrato aquoso obtido da mistura de composto de esterco de cavalo e água por 2-3 dias, Weltzien & Ketterer (1986) obtiveram controle de *Plasmopara viticola*.

Outra possibilidade de uso do biofertilizante é mediante sua inoculação com microrganismos de conhecido efeito sobre fitopatógenos. Assim, Hayashida et al. (1989), usando um biofertilizante produzido a partir de esterco de suíno, que havia recebido inoculação de *Streptomyces albidoflavus*, obtiveram uma redução de 93% na área lesionada por *Streptomyces scabies* em batata e um aumento na produção em comparação com a testemunha. Nanri et al. (1992) obtiveram uma redução da sarna da batata e um aumento de três vezes na produção com a adição de 4,6 t/ha de um biofertilizante de esterco suíno, aditivado com actinomicetos.

Além do efeito sobre os fitopatógenos, são numerosos os relatos mostrando o efeito nutricional do biofertilizante sobre as plantas (Castro & Hiroce, 1988; Santos, 1992; McQuilken et al., 1994).

Os objetivos do presente trabalho foram verificar o efeito de biofertilizantes, produzidos a partir da fermentação anaeróbia de esterco bovino enriquecidos com leite, açúcar, sais, restos de fígado bovino e farinha de osso, sobre o crescimento micelial de *B. cinerea*, *R. solani*, *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, *A. solani*, *S. sclerotiorum*, *S. rolfisii*, *P. aphanidermatum*, *S. lycopersici* e *S. solani* e sobre a inibição da germinação de esporos de *B. cinerea*, *A. solani*, *H. vastatrix* e *C. plumierae* e determinar a comunidade microbiana presente nos biofertilizantes.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Produção dos biofertilizantes

Em um tambor com capacidade de 200 L foram colocados 40 L de esterco fresco de vaca, obtido de vacas submetidas a pastoreio; 120 L de água; 1 L de leite de vaca; e 1 L de melação de cana. Esses materiais foram homogeneizados por, aproximadamente, 10 minutos e deixados para descansar por três dias. Decorrido esse tempo foi adicionado um dos seguintes sais, individualmente, a cada cinco dias: sulfato de zinco (1,5 kg), sulfato de magnésio (1,0 kg), sulfato de manganês (0,3 kg), sulfato de cobre (0,3 kg), sulfato de cálcio (2,0 kg), ácido bórico (0,5 kg), sulfato de zinco (1,5 kg) e ácido bórico (0,5 kg). A cada 10 dias, junto aos sais, foi acrescentado, uma única vez, um dos seguintes aditivos: fígado de boi moído (300 g), sangue bovino (200 mL) e farinha de osso (200 g). Para ativar a fermentação foram acrescentados à mistura, semanalmente, leite (1 L) e açúcar (500 g). Antes da adição, os sais foram dissolvidos em 2,5 L de água; na solução, quando programado, foram acrescentados os aditivos. Todas as vezes, após o acréscimo dos nutrientes e dos aditivos, a suspensão foi homogeneizada por cinco minutos. Finalizadas as adições dos sais e dos aditivos, a mistura foi completada até 180 L, permanecendo em repouso por 30 dias. Esse esquema de produção foi adaptado das indicações contidas em Supermagro... (1994). Esse biofertilizante é conhecido como “supermagro”, por ter sido idealizado por Delvino Magro.

Durante os trabalhos foram utilizados três biofertilizantes, sendo os denominados I e o III produzidos com os mesmos materiais. No II foi utilizado esterco proveniente de vaca leiteira confinada, e à mistura foram acrescentados 1 kg de calcário dolomítico e 600 g de Ca(OH)<sub>2</sub> para correção de pH.

### Determinação da comunidade microbiana do biofertilizante

Para a determinação da comunidade microbiana foi utilizado o método da diluição seriada e plaqueamento em meio seletivo. Do biofertilizante foi obtida uma amostra, que foi peneirada para retirada do material mais grosseiro. Com esse filtrado foi realizada diluição seriada até 10<sup>-4</sup>. Após a homogeneização, com auxílio de pipetador automático, foi distribuído 100 µL de cada diluição sobre o meio agarizado e uniformizado com o auxílio da alça de Drigalski. As placas, de 9 cm de diâmetro, foram invertidas e colocadas em sala com temperatura de 25 ± 2°C. Para a contagem das populações totais de fungos, bactérias e *Bacillus* spp. foram utilizados os meios de Martin (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> - 1,0 g; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O - 0,5 g; peptona - 5,0 g; dextrose - 10,0 g; rosa-bengala - 0,03 g; ágar - 16,0 g; água destilada - 1000 mL); nutriente ágar (ágar nutriente - 23,0 g; água destilada - 1000 mL) e batata dextrose ágar (BDA, batata - 200 g; dextrose - 20 g; ágar - 16 g; água destilada - 1000 mL), respectivamente. Na contagem de *Bacillus* spp., as diluições contendo o biofertilizante foram colocadas em banho-maria a 82°C por 20 minutos (Bettiol, 1995). A avaliação foi realizada 24-48 horas após, contando-se o número de colônias em cada placa. Converteram-se os valores obtidos para unidades formadoras de colônias por

mililitro (ufc/mL). Foram usadas três placas para cada diluição, e consideradas para cálculos apenas as diluições que apresentavam de 30 a 300 colônias.

### **Determinação do efeito do biofertilizante na taxa de crescimento micelial de fungos fitopatogênicos**

Ao meio de cultura BDA foram adicionados os biofertilizantes I e II, peneirados e filtrados, nas seguintes concentrações: 0; 2,5; 5,0; 10,0; 20,0 e 40,0%; e o III nas concentrações de 0; 1,0; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0; 15,0 e 20,0%. Como testemunha, o BDA foi diluído nas mesmas concentrações anteriores com água, exceto no biofertilizante III. Nos biofertilizantes I e II, o pH foi corrigido para o mesmo pH do BDA, antes da autoclavagem, com NaOH 0,1 N. Com o biofertilizante III foi incluído um tratamento com BDA acidificado com HCl 0,01 N até pH 5,2 (pH obtido no tratamento com 20,0% de biofertilizante). Após o preparo dos respectivos meios, foram adicionados 16 g de ágar/L e autoclavados por 20 minutos a 1 atm de pressão. Posteriormente, os meios foram vertidos em placas-de-Petri.

Discos de 7 mm de diâmetro de *Pythium aphanidermatum*, *Alternaria solani*, *Septoria lycopersici*, *Botrytis cinerea*, *Stemphylium solani*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, *Sclerotium rolfsii* e *Sclerotinia sclerotiorum* foram transferidos para o centro das placas, sendo o lado contendo o crescimento micelial colocado diretamente sobre o meio testado. A incubação dos materiais foi a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  em sala climatizada, com 12 horas de luz.

Cada tratamento consistiu de três placas para cada patógeno e a determinação do crescimento micelial foi realizada diariamente até que o patógeno, no tratamento testemunha, atingisse uma das extremidades da placa. Para avaliação foram feitos dois traços perpendiculares no fundo das placas e determinado o diâmetro da colônia nessas duas linhas. Com esses dados calcularam-se as taxas de crescimento micelial. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso e para a comparação de médias foi utilizado o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

### **Efeito do biofertilizante na germinação de esporos de fungos fitopatogênicos**

Os biofertilizantes I e II foram testados nas concentrações de 0; 2,5; 5,0; 10,0; 20,0 e 40,0%, diluídos em água destilada e esterilizada, quanto à capacidade de inibir a germinação de conídios de *B. cinerea* e de *A. solani*. No estudo com *H. vastatrix* e *C. plumierae* foi utilizado o biofertilizante III nas concentrações de 0; 0,01; 0,1; 0,25; 0,5; 1,0 e 5,0%, em que, além de se verificar o efeito de diferentes concentrações do biofertilizante, foi testado o biofertilizante com e sem esterilização. Para obtenção do biofertilizante sem esterilização, o método foi semelhante ao descrito anteriormente e a esterilização foi realizada por meio de filtração em filtro millipore com membrana de 40 nm acoplado à bomba de vácuo. Os tratamentos testemunhas consistiram de água destilada para *B. cinerea* e *A. solani*, e de água destilada e água esterilizada acidificada a pH 5,2, com HCl 0,01 N (semelhante ao pH do biofertilizante), para *H. vastatrix* e *C. plumierae*.

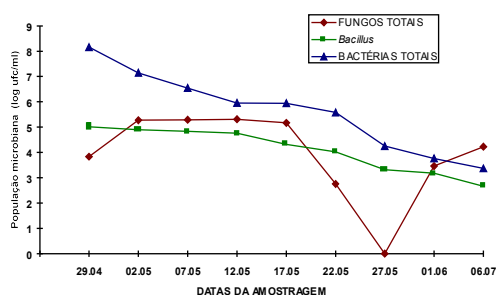
Sobre as lâminas de microscopia foram colocadas gotas de 10  $\mu\text{L}$ , contendo o dobro da concentração a ser estudada, para que, com a adição de mais 10  $\mu\text{L}$  de suspensão de esporos, fossem obtidas as concentrações desejadas. A concentração de conídios de *B. cinerea* utilizada foi de  $1 \times 10^5$  conídios/mL, a de *A. solani*, de  $1,7 \times 10^4$ , e as das ferrugens, de  $1 \times 10^4$  uredíniosporos/mL, calibradas em hemocitômetro. Após a montagem, as lâminas foram colocadas em caixas de plástico fechadas contendo espuma plástica umedecida no fundo, para obtenção de alta umidade relativa. O conjunto foi colocado em câmara de crescimento, na ausência de luz, a  $21^\circ\text{C}$ , por 20 horas para *B. cinerea* e *A. solani*, e por 4 horas para *H. vastatrix* e *C. plumierae*. Decorrido o tempo indicado, as caixas de plástico foram submetidas a  $5^\circ\text{C}$  para inibir o desenvolvimento do tubo germinativo e permitir a avaliação. Para tanto, foi adicionado corante lactofenol para melhor visualização das estruturas a serem avaliadas. A germinação dos esporos foi determinada em quatro campos de visão escolhidos ao acaso, perfazendo um mínimo de 100 conídios por campo. Quanto ao *H. vastatrix* e *C. plumierae*, além da germinação foi determinado o comprimento do tubo germinativo de, no mínimo, 30 conídios germinados ao acaso, com o auxílio de uma ocular micrométrica. Nos quatro fungos estudados foram utilizadas três lâminas contendo uma gota por concentração do biofertilizante testado.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Determinação da comunidade microbiana do biofertilizante**

Nos dois biofertilizantes, em que determinaram-se as populações microbianas, ocorreu uma redução no número de colônias formadas logo após a primeira amostragem até o encerramento da adição dos sais (Figs. 1 e 2). No biofertilizante número III observou-se que na avaliação de 27.05 ocorreu uma drástica redução na população de fungos totais. Esse fato coincidiu com a adição de sulfato de cobre ao sistema (Fig. 1). Apesar da relativa baixa população microbiana detectada, possivelmente a população real seja superior, pois é conhecido que se consegue recuperar em meios seletivos apenas parte da população existente. Segundo Sorokin (1972) e Kogure et al. (1979), citados por Herbert (1990), os métodos de contagem estimam entre

0,001 e 0,1% da população de microrganismos existentes em água--marinha e entre 0,9 e 22% da existente em água. A redução verificada na comunidade microbiana provavelmente deve-se à baixa oxigenação do meio, visto que foi agitado durante cinco minutos a cada cinco dias, e ao provável acúmulo de metabólitos tóxicos no meio.



**FIG. 1. Comunidade microbiana, expressa em unidades formadoras de colônias por mL (ufc/mL), do biofertilizante III, durante o processo de fermentação. Início da produção do biofertilizante em 29.04.1994. Cada ponto representa a média obtida entre as diluições  $10^{-1}$  a  $10^{-4}$ , sendo três repetições por diluição.**

#### **Efeito do biofertilizante no crescimento micelial de alguns fungos fitopatogênicos**

As diluições do meio de cultura padrão BDA com água entre 2,5 e 5% não afetaram a taxa de crescimento micelial dos fungos testados, apresentando valores estatisticamente semelhantes aos da testemunha (Tabelas 1 e 2). Esse fato indica que o efeito diluição do meio de cultura pelo biofertilizante não foi significativo, podendo-se afirmar que os efeitos abaixo relatados foram em virtude da presença do produto no meio.

Com o biofertilizante I verifica-se uma tendência de redução da taxa de crescimento micelial com o aumento de sua concentração no meio, sendo semelhante em *P. aphanidermatum*, *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, *B. cinerea*, *R. solani*, *S. solani* e *A. solani*. De forma geral, pode-se afirmar que em concentrações maiores ou iguais a 10% esse biofertilizante inibiu totalmente o crescimento micelial dos patógenos. Quando corrigido o pH do meio para 6,2, semelhante ao BDA da testemunha, após o acréscimo do biofertilizante, a inibição do crescimento micelial acompanhou a mesma tendência do meio sem correção. Apesar da mesma tendência, os valores médios da taxa de crescimento micelial foram levemente superiores nos meios com pH corrigido (Tabela 1). Isso demonstra que o efeito principal não foi causado pela possível acidificação do meio pelo biofertilizante (Tabela 1).

Com o biofertilizante III verifica-se a mesma tendência (Tabela 3), enquanto com o II, mesmo com tendência semelhante, seu efeito foi menos acentuado (Tabela 2).

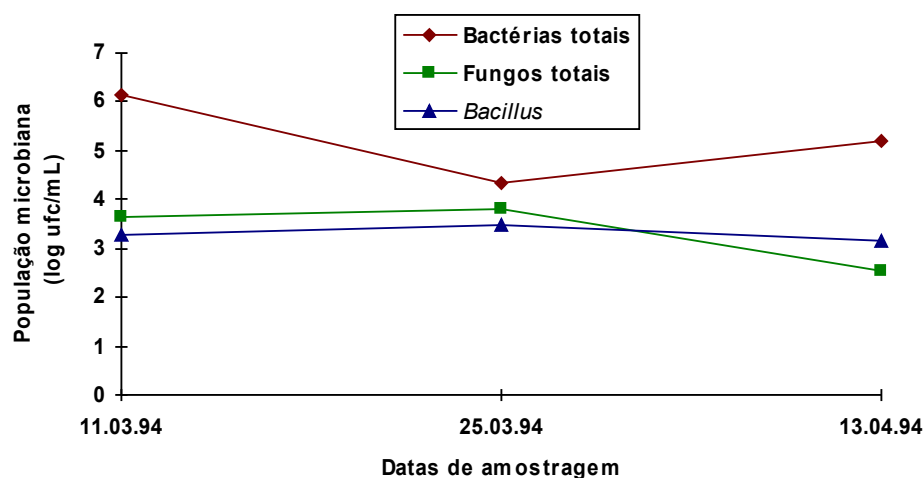


FIG. 2. Comunidade microbiana, expressa em unidades formadoras de colônias por mL (ufc/mL), do biofertilizante II, durante o processo de fermentação. Início da produção do biofertilizante em 04.03.1994. Cada ponto representa a média obtida entre as diluições  $10^{-1}$  a  $10^{-4}$ , sendo três repetições.

TABELA 1. Efeito do biofertilizante I sobre a taxa de crescimento micelial (cm/dia) de fungos fitopatogênicos<sup>1</sup>.

Tratamento (meios)	<i>Pythium aphanidermatum</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Stemphylium solani</i>	<i>Alternaria solani</i>
BDA	1,87a	0,74a	2,18a	3,72f	0,83ab	1,13a
BDA + biofertilizante						
2,5%	1,43c	0,68a	1,65cd	1,45g	0,70ab	0,82b
5,0%	1,02d	0,56a	1,03e	1,00h	0,38c	0,52c
10,0%	0,00e	0,08b	0,00g	0,00i	0,00d	0,00d
20,0%	0,00e	0,00b	0,00g	0,00i	0,00d	0,00d
40,0%	0,00e	0,00b	0,00g	0,00i	0,00d	0,00d
BDA + biofertilizante, com pH 6,2						
2,5%	1,75a	- <sup>2</sup>	2,28a	-	0,86ab	1,06a
5,0%	1,49bc	-	2,16ab	-	0,69b	0,83b
10,0%	0,98d	-	0,54f	-	0,46c	0,52c
20,0%	0,00e	-	0,00g	-	0,00d	0,00d
40,0%	0,00e	-	0,00g	-	0,00d	0,00d
BDA diluído com água						
2,5%	1,78a	0,64a	1,88bc	3,82e	0,86ab	1,12a
5,0%	1,67abc	0,62a	2,06ab	4,05c	0,90a	0,87b
10,0%	1,72ab	0,68a	2,10ab	3,90d	0,81ab	1,13a
20,0%	1,75a	0,70a	2,02ab	4,35a	0,79ab	1,13a
40,0%	1,69ab	0,75a	1,35de	4,12b	0,89ab	1,16a

<sup>1</sup> Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si (Tukey 5%); os valores são médias de três repetições.

<sup>2</sup> Dado não existente.

**TABELA 2. Efeito do biofertilizante II sobre a taxa de crescimento micelial (cm/dia) de fungos fitopatogênicos<sup>1</sup>.**

Tratamento	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Septoria lycopersici</i>	<i>Stemphylium solani</i>	<i>Alternaria solani</i>
BDA	1,07ab	2,55a	1,20a	1,12ab	1,06ab
BDA + biofertilizante					
2,5%	1,37a	2,42a	1,22a	1,08ab	1,25a
5,0%	1,22a	2,43a	1,10a	0,83abcd	1,20a
10,0%	1,42a	1,95bcd	1,22a	0,69bcd	1,05ab
20,0%	1,00ab	1,53de	0,77a	0,57cd	0,87b
40,0%	0,55c	1,50e	- <sup>2</sup>	0,43d	0,48c
BDA diluído com água					
2,5%	0,90b	2,33ab	1,25a	1,21a	1,02ab
5,0%	0,98ab	2,13abc	1,08a	0,86abcd	1,23a
10,0%	1,08ab	2,17abc	1,00a	1,18a	1,02ab
20,0%	1,00ab	1,83cde	1,23a	0,93abc	1,17ab
40,0%	1,02ab	1,97bcd	0,98a	0,85abcd	1,08ab

<sup>1</sup> Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si (Tukey 5%); os valores são médias de três repetições.

<sup>2</sup> Dado não existente.

### Efeito do biofertilizante na germinação de esporos de fungos fitopatogênicos

Em *B. cinerea* foi verificada uma menor germinação de conídios em água do que nas concentrações entre 2,5 e 5% do biofertilizante (Tabela 4). Porém, com o aumento da dosagem ocorreu uma redução na porcentagem de germinação, e a 40% a inibição foi total com o biofertilizante I. Com o biofertilizante II até a concentração 5% não foi observada inibição total da germinação mesmo na dosagem de 40% (Tabela 4). *A. solani* apresentou uma redução na porcentagem de germinação de conídios com o aumento da concentração dos biofertilizantes, porém o biofertilizante II foi menos ativo que o I (Tabela 4). O biofertilizante I na concentração de 2,5% reduziu, em aproximadamente, 50% a germinação dos conídios em relação à testemunha, e a partir de 10% a inibição da germinação dos conídios de *A. solani* foi praticamente de 100% (Tabela 4).

As porcentagens de germinação dos uredíniosporos de *H. vastatrix* e de *C. plumierae* foram inversamente proporcionais à concentração do biofertilizante, com comportamento semelhante quando o biofertilizante foi esterilizado (Tabela 5). A inibição na germinação dos uredíniosporos de *C. plumierae* e *H. vastatrix* foi total nas concentrações de 5 e 1%, respectivamente. A acidificação da água promoveu uma leve redução na germinação de *H. vastatrix* e um aumento na de *C. plumierae*, enquanto que o comprimento do tubo germinativo foi reduzido nos dois fungos. O efeito do biofertilizante sobre o comprimento do tubo germinativo foi semelhante ao observado na porcentagem de germinação (Tabela 5).

O biofertilizante reduziu tanto o crescimento micelial quanto a germinação de esporos dos fungos testados (Tabelas 1 a 5). Esses resultados estão de acordo com os obtidos por Castro et al. (1991), os quais observaram efeito sobre *C. gloeosporioides*, *T. paradoxa*, *P. digitatum*, *Fusarium* sp. e *Cladosporium* sp., por Stindt & Weltzien (1988) e McQuilken et al. (1994), os quais verificaram que extratos aquosos de compostos orgânicos inibiram tanto o crescimento micelial quanto a germinação de *B. cinerea*. É interessante observar que em baixas concentrações dos biofertilizantes ocorreu aumento na germinação dos conídios de *B. cinerea*, possivelmente em virtude de sua necessidade por nutrientes para iniciar o processo de germinação (Blakeman, 1975). Não houve efeito da diluição do meio de cultura no crescimento micelial dos fungos, pois diluindo o BDA com água nas mesmas concentrações do biofertilizante não foi verificada redução na taxa do crescimento micelial dos fungos testados (Tabelas 1 e 2). Assim, a inibição do crescimento micelial e da germinação de esporos foi causada pelos biofertilizantes. A ação pode ser pela presença de metabólitos produzidos pelos microrganismos ou por substâncias preexistentes nos compostos utilizados para a produção do biofertilizante. Na Fig. 1 verifica-se a presença de *Bacillus* spp., que é reconhecidamente produtor de

antibióticos (Schroth & Hancock, 1981; Bettioli & Kimati, 1990), podendo ser esse um dos organismos envolvidos com a produção dos metabólitos inibidores do crescimento e da germinação. Por causa da esterilização do meio contendo o biofertilizante a 120°C, pode-se afirmar que esses metabólitos são termoestáveis. Os efeitos de diferentes substâncias orgânicas sobre os fitopatógenos são discutidos por Van Andel (1966), Homma et al. (1973), Misato et al. (1975) e Lazzaretti & Bettioli (1990).

**TABELA 3. Efeito do biofertilizante III sobre a taxa de crescimento micelial (cm/dia) de fungos fitopatogênicos<sup>1</sup>.**

Tratamento	<i>Pythium aphani-dermatum</i>	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	<i>Sclerotium rolfsii</i>	<i>Septoria lycopersici</i>	<i>Stemphylium solani</i>	<i>Alternaria solani</i>
BDA	1,75a	0,90ab	2,76a	4,72a	2,82a	1,07a	1,02a	0,88a
BDA Acidif.	1,72a	0,65de	2,10c	5,03a	1,87bc	1,06a	0,97a	0,74ab
BDA + biofertilizante								
1,0%	1,66a	0,98a	2,39b	2,90b	2,32ab	0,97a	0,70b	0,52bc
2,5%	1,45b	0,80bc	2,16c	2,30b	1,28c	0,80b	0,52c	0,68ab
5,0%	0,88c	0,69cd	1,48d	1,06c	0,65d	0,62c	0,25d	0,49bc
10,0%	0,33d	0,50f	1,04e	0,66cd	0,18e	0,47cd	0,12e	0,31cd
15,0%	0,14de	0,52ef	0,00f	0,00d	0,13e	0,35d	0,00e	0,14de
20,0%	0,00e	0,35g	0,00f	0,00d	0,00e	0,19e	0,00e	0,00e
40,0%	0,00e	0,00h	0,00f	0,00d	0,00e	0,00f	0,00e	0,00e

<sup>1</sup> Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si (Tukey 5%); os valores são médias de três repetições.

**TABELA 4. Efeito de biofertilizante sobre a porcentagem de germinação de conídios de *Botrytis cinerea* e de *Alternaria solani*<sup>1</sup>.**

Tratamento	Biofertilizante I		Biofertilizante II	
	<i>B. cinerea</i>	<i>A. solani</i>	<i>B. cinerea</i>	<i>A. solani</i>
Água	50,16ab	96,35a	74,02ab	90,00 a
Biofertilizante				
2,5%	80,85a	47,57b	82,71a	54,84ab
5,0%	87,76a	25,88c	62,18ab	43,11bc
10,0%	21,83bc	0,59d	53,75b	40,77bc
20,0%	5,74c	0,23d	26,70c	19,65cd
40,0%	0,00c	0,31d	8,87d	9,45d

<sup>1</sup> Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si (Tukey 5%); os valores são médias de três repetições.

**TABELA 5. Efeito do biofertilizante III sobre a porcentagem de germinação e sobre o comprimento do tubo germinativo de uredíniosporos de *Hemileia vastatrix* e de *Coleosporium plumierae*<sup>1</sup>.**

Tratamento	<i>Hemileia vastatrix</i>		<i>Coleosporium plumierae</i>	
	% de germinação	Comprimento do tubo germinativo (µm)	% de germinação	Comprimento do tubo germinativo (µm)
Água	44,78ab	149,86a	32,10b	101,19ab
Água acidificada a pH 5,2	31,95bc	83,68bc	52,55a	93,69bc
<b>Biofertilizante</b>				
0,01%	46,26a	132,84a	31,67b	122,84a
0,1%	29,29c	87,46bc	36,49b	76,25cd
0,25%	15,45d	39,00d	39,09ab	53,75ef
0,5%	5,94e	33,09d	37,15b	32,78gh
1,0%	0,00f	0,00e	9,79c	23,33h
5,0%	0,00f	0,00e	0,00d	0,00i
<b>Biofertilizante esterilizado</b>				
0,01%	39,67abc	112,98ab	31,57b	79,43cd
0,1%	31,98bc	113,93ab	44,10ab	76,11cd
0,25%	28,28c	70,91c	40,76ab	63,70de
0,5%	4,49e	42,55d	34,94b	62,72de
1,0%	0,00f	0,00e	34,41b	43,94fg
5,0%	0,00f	0,00e	0,00e	0,00i

<sup>1</sup> Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si (Tukey 5%); os valores são médias de três repetições.

## CONCLUSÕES

1. Os biofertilizantes inibem o crescimento micelial de *P. aphanidermatum*, *A. solani*, *S. solani*, *S. lycopersici*, *S. sclerotiorum*, *B. cinerea*, *R. solani*, *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*.
2. Os biofertilizantes inibem a germinação de esporos de *B. cinerea*, *A. solani*, *Hemileia vastatrix* e *Coleosporium plumierae*, e nos dois últimos também inibem o crescimento do tubo germinativo.
3. Os biofertilizantes apresentam potencial para o controle de diversos fungos fitopatogênicos.
4. Durante a produção dos biofertilizantes há uma redução na comunidade microbiana, causada, entre outros fatores, pela adição de sais.

## REFERÊNCIAS

- BETTIOL, W. Isolamento seletivo de *Bacillus*. In: MELO, I.S.; SANHUEZA, R.M.V. **Métodos de seleção de microrganismos antagonísticos a fitopatógenos**. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1995. p.35-36.
- BETTIOL, W.; KIMATI, H. Efeito de *Bacillus subtilis* sobre *Pyricularia oryzae* agente causal da brusone do arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.25, n.8, p.1165-1174, ago. 1990.
- BLAKEMAN, J.P. Germination of *Botrytis cinerea* conidia in vitro in relation to nutrient conditions on leaf surfaces. **Transactions British of the Mycological Society**, London, v.65, n.2, p.239-247, Feb. 1975.
- BOEHM, M.J.; HOITINK, H.A.J. Sustenance of microbial activity in potting mixes and its impact on severity of *Pythium* root rot of Poinsettia. **Phytopathology**, St. Paul, v.82, p.259-264, Mar. 1992.
- CASTRO, P.R.C.; HIROCE, R. Aplicação de biofertilizante em cultura de videira com sintomas de declínio. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v.14, n.1/2, p.58, jan./jun. 1988.
- CASTRO, C.M. de; SANTOS, A.C.V. dos; AKIBA, F. Comprovação *in vitro* da ação inibidora do biofertilizante “Vairo” produzido a partir da fermentação anaeróbica do esterco bovino, sobre a germinação de conídios de diversos gêneros de fungos fitopatogênicos. In: **REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS DE PLANTAS**, 4., 1991, Campinas. **Anais...** Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1991. p.18.
- ELAD, Y.; SHTIENBERG, D. Effect of compost water extracts on grey mould (*Botrytis cinerea*). **Crop Protection**, Oxford, v.13, n.2, p.109-114, Mar. 1994.



- HAYASHIDA, S.H.; CHOI, M.Y.; NANRI, N.; YOKOYAMA, M.; UEMATSU, T. Control of potato common scab with an antibiotic biofertilizer produced from swine feces containing *Streptomyces albidoflavus* CH-33. **Agricultural, Biological and Chemistry**, Tokyo, v.53, n.2, p.349-354, Feb. 1989.
- HERBERT, R.A. Methods for enumerating microorganisms and determining biomass in natural environments. In: GRIGOROVA, R.; NORRIS, J.R. (Eds.). **Methods in microbiology. Techniques in microbial ecology**. London: Academic Press, 1990. p.1-39.
- HOITINK, H.A.J.; FAHY, P.C. Basis for the control of soilborne plant pathogens with composts. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.24, p.93--114, 1986.
- HOMMA, Y.; SHIDA, T.; MISATO, T. Studies on the control of plant disease by amino acid derivates. (1) Effect of N-lauroyl-L-valine on rice blast. **Annals of the Phytopathology Society of Japan**, Tokyo, v.39, n.2, p.90-98, Feb. 1973.
- LAZZARETTI, E.; BETTIOL, W. Efeito de aminoácidos e do resíduo concentrado da fermentação glutâmica do melão sobre a germinação de uredíniosporos de *Hemileia vastatrix*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.15, n.2, p.134, jul. 1990.
- McQUILKEN, M.P.; WHIPPS, J.M.; LYNCH, J.M. Effects of water extracts of a composted manure-straw mixture on the plant pathogen *Botrytis cinerea*. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Oxford, v.10, n.1, p.20-26, Jan. 1994.
- MISATO, T.; WAKAMATSU, H.; NATSUME, T.; YOSHIOHA, K.; KISHI, K. Utilization of food additives as agricultural fungicides. **Annals of the Phytopathological Society of Japan**, Tokyo, v.41, n.1, p.72-76, Jan. 1975.
- NANRI, N.; GOHDA, Y.; OHNO, M.; MIYABE, K.; FURUKAWA, K.; HAYASHIDA, S. Growth promotion of fluorescent pseudomonads and control of potato common scab in field soil with non-antibiotic actinomycete-biofertilizer. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, Tokyo, v.56, n.8, p.1289-1292, Feb. 1992.
- SANTOS, A.C.V. dos. **Biofertilizante líquido, o defensivo da natureza**. Niterói: EMATER-Rio, 1992. 16p. (Agropecuária Fluminense, 8).
- SCHROTH, M.N.; HANCOCK, J.G. Select topics in biological control. **Annual Review of Microbiology**, Palo Alto, v.35, p.453-476, 1981.
- STINDT, A.; WELTZIEN, H.C. Der einfluss von waessringen, mikrobiologisch activen extrakten von kompostiertem organischen. **Mededelingen--Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent**, v.53, n.2, p.379-388, 1988.
- SUPERMAGRO: a receita completa. **Boletim da Associação de Agricultura Orgânica**, São Paulo, n.16, p.5, 1994.
- VAN ANDEL, O.M. Amino acids and plant disease. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v.4, p.349-368, 1966.
- VIDA, J.B.; BRANDÃO FILHO, J.U.T.; VASCONCELOS, M.A.S.; NUNES, W.M.C. Efeito do efluente de biodigestor no controle de oídio em feijão vagem cultivado em estufa plástica. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.18, p.264, ago. 1993.
- WELTZIEN, H.C.; KETTERER, N. Control of downy mildew, *Plasmopara viticola* (de Bary) Berlese et de Toni, on grapevine leaves through water extracts from composted organic wastes. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.116, p.186-188, 1986.