

INAURA PATRÍCIA DA SILVA SANTOS

**CONTROLE ALTERNATIVO DA PODRIDÃO RADICULAR
(*Sclerotium rolfsii* SACC.) EM FEIJÃO-CAUPI [*Vigna
unguiculata* (L.) WALP.] (FABACEAE)**



UFAL

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
RIO LARGO – AL
2010**



CECA

INAURA PATRÍCIA DA SILVA SANTOS

**CONTROLE ALTERNATIVO DA PODRIDÃO RADICULAR
(*Sclerotium rolfsii* SACC.) EM FEIJÃO-CAUPI [*Vigna
unguiculata* (L.) WALP.] (FABACEAE)**

Dissertação apresentada à Coordenação do Curso de Mestrado em Agronomia, na área de concentração de Produção Vegetal e Proteção de Plantas, pelo Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas, para a obtenção do grau de Mestre em Proteção de Plantas.

Orientação:

Prof^ª Dr^ª Edna Peixoto da Rocha Amorim

**RIO LARGO – AL
ABRIL DE 2010**

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale

S237c Santos, Inaura Patrícia da Silva.
Controle alternativo da podridão radicular (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) em feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] (Fabaceae) / Inaura Patrícia da Silva Santos, 2010.
54 f. : il. tabs., grafis.

Orientadora: Edna Peixoto da Rocha Amorim.

Dissertação (mestrado em Agronomia: Produção vegetal) – Universidade Federal de Alagoas. Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo, 2010.

Bibliografia: f. [43]-54.

1. Feijão-caupi – Doenças e pragas. 2. Podridão radicular. 3. Biofumigação. 4. Adubação mineral. I. Título.

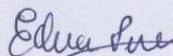
CDU: 635.654

TERMO DE APROVAÇÃO

CONTROLE ALTERNATIVO DA PODRIDÃO RADICULAR (*Sclerotium rolfsii* SACC.) EM FEIJÃO-CAUPI [*Vigna unguiculata* (L.) WALP.] (FABACEAE)

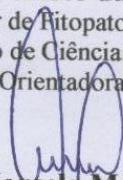
INAURA PATRÍCIA DA SILVA SANTOS
(Matrícula 0818M02)

A dissertação acima especificada foi submetida ao curso de mestrado em Agronomia, na área de concentração de produção vegetal e Proteção de Plantas, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial na integralização dos créditos para obtenção do grau de mestre em Agronomia, tendo sido aprovada pela Banca Examinadora formada pelos seguintes doutores:



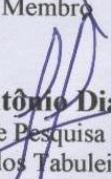
Profª Drª Edna Peixoto da Rocha Amorim

Setor de Fitopatologia
Unidade Acadêmica Centro de Ciências Agrárias (CECA - UFAL)
Orientadora



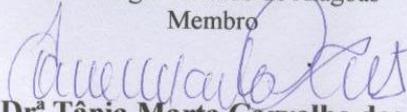
Profº Dr. Marcelo Menezes Cruz

Setor de Fitopatologia/PMGCA
Unidade Acadêmica Centro de Ciências Agrárias (CECA - UFAL)
Membro



Profº Dr. Antônio Dias Santiago

Unidade de Execução de Pesquisa do Centro de Pesquisa
Agropecuária dos Tabuleiros Costeiros
Rio Largo - Estado de Alagoas
Membro



Profª Drª Tânia Marta Carvalho dos Santos

Setor de Microbiologia
Unidade Acadêmica Centro de Ciências Agrárias (CECA - UFAL)
Membro

RIO LARGO -AL
19 DE ABRIL DE 2010

Dedico

A minha família, principalmente, meus pais Maria e Cícero, pelo total apoio cada um ao seu modo, educação e amor.

A minha família postiza pela acolhida e amor recebido.

A todos os meus amigos pelo carinho.

Ofereço

Aos meus avôs com todo carinho por todos os momentos maravilhosos.

AGRADECIMENTOS

À professora Dra. Edna Peixoto da Rocha Amorim pela orientação, apoio, incentivos, amizade e paciência;

À CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – pela concessão da bolsa de estudo, indispensável á realização do curso;

Ao programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal de Alagoas (UFAL);

Aos amigos do Laboratório de Fitopatologia, Alds Priscila Alves de Araújo Costa, Cíntia Caroline Alves de Almeida, David Victor dos Santos, Dyana de Albuquerque Tenório, Djison Silvestre dos Santos, Edypo Jacob da Silva, Edlene Maria da Silva de Moraes, Edilaine Alves de Melo, Igor Tenório Marinho da Rocha, Leonardo da Silva, Liliane Dias do Nascimento, Luciana Tenório, Mariote dos Santos Brito Netto, Marylia Gabriella Silva Costa, Ronycleide da Silva Sousa, Tiago Alexandre da Silva, Wagner Teixeira Soriano, em especial, Geórgia de Souza Peixinho, Júlio César da Silva, Laís Peixoto da Rocha Soares e Leonardo de Fonseca Barbosa, pelo apoio, ajuda e amizade, sendo essenciais para realização desse trabalho;

À todos os amigos do curso de Pós-graduação, em especial, a Ana Paula Pereira da Fonseca, Ângelo Márcio Menezes Dantas Júnior, Alice Maria Nascimento de Araújo, Alana de Lima Mendonça, Hully Monaísy Alencar Lima, Mauricio Silva de Lima, Maria Quiteria Cardoso dos Santos, Leonardo de Fonseca Barbosa, Natália Larissa da Silva Santos, Sandra Hiromi Kamei, Vanessa Melo e Wagner Teixeira Soriano, pelo companheirismo e alegrias, pelas tardes e noites a fio que ficamos estudando para as disciplinas, enfim por fazer desses dois anos os mais rápidos da minha vida;

Aos professores do laboratório de Fitopatologia, Dr^a Edna Peixoto da Rocha Amorim, Dr^a Iraíldes Pereira Assunção, Dr Gaus Silvestre de Andrade Lima e Dr^a Maria de Fátima Muniz, pelos ensinamentos e amizade;

Aos professores do curso de Pós-graduação pelos ensinamentos e me mostrar um mundo até então desconhecido;

Aos amigos: Adélia Carla Vertano da Silva, Amanda da Silva Gomes, Ana Rúbia Batista Ribeiro, Axel Shaibi Tenório, Clarissa de França, Igor Tenório Marinho da Rocha, Júlio César da Silva, Maria Danielma dos Santos Reis, Marcos Santana de Oliveira, Paula Walleska Sena, Polyanne Souto Brito, Pedro Zurvânio Melo Rosa de Moraes, Raíssa Cavalcante Pinto, Sandra Hiromi Kamei, Victor Xavier Brito, William Fernandes Barbosa, Wagner Teixeira Soriano e Washington Soares Júnior que nas farras e nas crises estiveram comigo sempre, inclusive por muitos estarem prontos a ir comigo ou me buscar no Laboratório de Fitopatologia nos dias e horas mais absurdos. Meu muito obrigada!

Aos funcionários do Laboratório de Fitopatologia, Edvaldo Raimundo da Silva e Sebastião da Silva (Galego), pela ajuda e carinho;

Aos funcionários da secretaria da coordenação Geraldo de Lima e Marcos Antonio Lopes, pela paciência, pela pronta colaboração, pelas muitas conversas amigas;

À professora Dr^a Iracilda Maria de Moura Lima pelos muitos ensinamentos na minha vida acadêmica e pessoal, pelo carinho e amizade, além da ajuda e co-orientação no projeto frustrado, mas que persistirei;

A todos os funcionários e estagiários do Museu de História Natural MHN/UFAL, em especial, ao Laboratório de Entomologia e aos amigos que ali se fizeram presentes, Ana Paula Fonseca, Ângelo Dantas Júnior, Caíque Guimarães, Laura Carolina Bento, Natália Larissa da Silva Santos e Wagner Teixeira Soriano, onde dei meus primeiros passos na pesquisa científica e puder aprender bastante com todos;

Aos funcionários da limpeza e ao Hélio da Silva Júnior “da xerox” pelas conversas divertidas;

À Elisângela da Silva Santos, Maria Cícera Camilo Ferreira, Verônica Palmeira dos Santos e Vera da Silva pela amizade e a comida maravilhosa que me fizeram tão bem nesses últimos anos;

Enfim, a todos que de alguma maneira me ajudaram na execução do trabalho, meus sinceros agradecimentos.

Sumário

Lista de Tabelas	v
Lista de Figuras	vi
Resumo	vii
Abstract	viii
Introdução	01
Capítulo I - Revisão da Literatura	03
1 <i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.	03
1.1 Aspectos Taxonômicos	03
1.2 Distribuição Geográfica	04
1.3 Aspectos Botânicos	04
1.4 Importância econômica do feijão-caupi	05
1.5 Doenças do feijão-caupi	06
2 <i>Sclerotium rolfsii</i> Sacc.	07
2.1 Aspectos Gerais	07
2.2 Distribuição Geográfica	08
2.4 Sintomas	09
2.5 Importância Econômica	09
3 Controle	09
3.1 Controle Químico.....	10
3.2 Controle Cultural	10
3.3 Controle Físico	11
3.4 Controle Biológico	11
3.4.1 <i>Trichoderma harzianum</i> Rifai	12
3.4.2 Rizobactérias	13
3.5 Controle Alternativo	13
3.5.1 Biofumigação	14
3.5.2 Óleos essenciais e extratos vegetais	14
3.5.3 Manipueira	15
3. 5.4 Silicato	15
Capítulo II – Controle alternativo da podridão de radicular (<i>Sclerotium rolfsii</i> Sacc.) em feijão-caupi [<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.] (Fabaceae)	17
2.1 Metodologia	18
2.1.1 Condução dos experimentos	18
2.1.2 Obtenção do material	18
2.1.2.1 Obtenção dos isolados antagonistas e patógeno	18
2.1.2.2 Obtenção da matéria orgânica, extrato vegetal e óleo essencial	18
2.1.3 Teste de Patogenicidade	19
2.1.4 Atividade antagonista de isolados de <i>Trichoderma harzianum</i> e rizobactérias ao fungo <i>Sclerotium rolfsii</i> , ‘in vitro’	20
2.1.5 Hiperparasitismo	20
2.1.6 Biofumigação do solo	21
2.1.7 Uso de antagonistas no controle da doença	22

2.1.8	Uso de substâncias naturais no controle da doença	22
2.1.9	Uso da adubação mineral no controle da doença	23
2.2	Resultados e discussão	24
2.2.1	Teste de Patogenicidade	24
2.2.2	Atividade antagônica de isolados de <i>Trichoderma harzianum</i> e rizobactérias ao fungo <i>Sclerotium rolfii</i> , in vitro'	25
2.2.3	Hiperparasitismo	27
2.2.4	Biofumigação do solo	28
2.2.5	Uso de antagonistas no controle da doença	32
2.2.6	Uso de substâncias naturais no controle da doença	34
2.2.7	Uso da adubação mineral no controle da doença	37
2.3	Conclusão	41
2.4	Considerações Finais	42
	Referências	43
	Anexos	55

Lista de Tabelas

Capítulo II - Controle alternativo da podridão de radicular (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) em feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] (Fabaceae)

TABELA 1 – Efeitos da matéria orgânica na altura da parte aérea, comprimento da raiz, peso fresco e peso seco de plantas de feijão-caupi [<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.] na podridão de colo causada por <i>Sclerotium rolfsii</i> Sacc.	31
TABELA 2 – Altura da parte aérea, comprimento da raiz, peso fresco e peso seco de plantas de feijão-caupi [<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.] inoculadas com <i>Sclerotium rolfsii</i> Sacc. com sementes microbiolizadas com rizobacterias e <i>Trichoderma harzianum</i> Rifai.	34
TABELA 3 – Altura da parte aérea, comprimento da raiz, peso fresco e peso seco de plantas de feijão-caupi [<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.] inoculadas com <i>Sclerotium rolfsii</i> Sacc., após aplicação de substâncias naturais.	37
TABELA 4 – Altura da parte aérea, comprimento da raiz, peso fresco e peso seco de plantas de feijão-caupi [<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.] inoculadas com <i>Sclerotium rolfsii</i> Sacc., após incorporação de solução nutritiva.	40

Lista de Figuras

Capítulo II - Controle alternativo da podridão de radicular (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) em feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] (Fabaceae)

FIGURA 1 – Obtenção do inóculo: 1a) Micélio e escleródio de <i>Sclerotium rolfsii</i> Sacc. em meio de BDA; 1b) Cultivo do patógeno em arroz esterelizado.	19
FIGURA 2 – Biofumigação do solo: 2a) Semeio das sementes de feijão-caupi [<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.] em substratos incorporados com a matéria orgânica; 2b) Medida da raiz principal de plântulas de feijão-caupi; 2c) Pesagem da massa fresca de plântulas de feijão-caupi.	21
FIGURA 3 – Plântulas de feijão-caupi com sintomas da podridão de colo causada por <i>Sclerotium rolfsii</i> Sacc.	24
FIGURA 4 – Redução do crescimento micelial de <i>S. rolfsii</i> na presença do <i>Trichoderma</i> e rizobactérias.	25
FIGURA 5 – Teste de pareamento: 5a) pareamento <i>sclerotium rolfsii</i> e <i>T. harzianum</i> Rifai; 5b) pareamento <i>Sclerotium rolfsii</i> Sacc. e rizobactéria R14; 5c) testemunha; 5d) placas incubadas, no 5° dia.	26
FIGURA 6 – Hiperparasitismo de <i>Trichoderma</i> sp., sobre hifas de <i>Sclerotium rolfsii</i> : a e b) Enrolamento de hifas de <i>S. rolfsii</i> por hifas de <i>Trichoderma</i> , c) Penetração e início de crescimento de hifas de <i>Trichoderma</i> no interior de hifas de <i>S. rolfsii</i> , d) Hifas de <i>Trichoderma</i> crescendo no interior de hifas de <i>S. rolfsii</i> , e) Estrangulamento de hifas de <i>S. rolfsii</i> , f) Hifas saudias de <i>S. rolfsii</i> (testemunha).	28
FIGURA 7 – Redução da incidência da podridão de colo (<i>Sclerotium rolfsii</i> Sacc.) em mudas de feijão-caupi [<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.], após incorporação de resíduos orgânicos.	29
FIGURA 8 – Redução da incidência da podridão de colo (<i>Sclerotium rolfsii</i> Sacc.) em mudas de feijão-caupi [<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.], após microbiolização das sementes com isolados de rizobactérias e <i>Trichoderma harzianum</i> Rifai.	33
FIGURA 9 – Incidência da podridão de colo (<i>Sclerotium rolfsii</i> Sacc.) em mudas de feijão-caupi [<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.], após aplicação de substâncias naturais.	35
FIGURA 10 – Incidência da podridão de colo (<i>Sclerotium rolfsii</i> Sacc.) em mudas de feijão-caupi [<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.], após incorporação de solução nutritiva.	39

Resumo

Controle alternativo da podridão de radicular (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) em feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] (Fabaceae). O feijão-caupi, *Vigna unguiculata* (L.) Walp., é conhecido como feijão-de-corda e feijão-verde sendo uma das principais culturas exploradas pelos pequenos produtores no Nordeste brasileiro. Dentre os fitopatógenos que afetam sua produtividade, destaca-se *Sclerotium rolfsii* Sacc. que causa a podridão de colo em diversos cultivos do mundo. O objetivo do trabalho foi avaliar o controle alternativo de *S. rolfsii* Sacc. em mudas de *V. unguiculata* (L.) Walp. através do uso de antagonistas, incorporação de resíduos orgânicos ao solo, utilização de óleos essenciais, extratos vegetais e ecolife® e nutrição mineral. O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Fitopatologia e em casa de vegetação do CECA/UFAL. O patógeno foi obtido pelo isolamento de folhas de feijão-caupi com sintomas da doença e depois cultivados em arroz esterilizado. Para controle 'in vitro', os isolados de antagonistas foram pareados com o patógeno em meio de BDA, para avaliar a redução de crescimento micelial (RC) e o hiperparasitismo. Para a biofumigação do solo, as matérias orgânicas – cama de frango, marisco, bagaço de cana, resíduo de feijão, raspa de mandioca – foram desidratadas em estufa 55°C por 96h, moídas e incorporadas ao substrato infestado, em concentrações de 10% e 20% (v/v) por 20 dias e comparadas ao tiofanato metílico e a testemunha. Após 30 dias, as plantas foram avaliadas quanto à incidência da doença e desenvolvimento da planta. No controle 'in vivo' as sementes foram microbiolizadas com os antagonistas (C110, C21, ENF24, R14 e *Trichoderma harzianum*), o fungicida e água salina para testemunha. O substrato foi infestado com o patógeno, dois dias após o semeio foram avaliadas com 30 dias. Para as substâncias naturais, plantas de feijão-caupi, com 21 dias de idade foram pulverizadas com extrato de manipueira (40%), óleo de eucalipto (1%), hortelã pimenta (1%), Ecolife® (2%), tiofanato metílico (0,7 g/L) e água para a testemunha. Após dois dias, o substrato foi infestado com o patógeno. Ao completar seis dias da infestação, uma nova pulverização foi realizada. A adubação mineral foi realizada no semeio através de solução de Sarruge e doses de silicato de cálcio e sódio, 50, 100, 500 e 1000mg/L⁻¹ e água para testemunha. O substrato foi infestado dois dias depois e uma segunda adubação foi feita 10 dias após o semeio. Os antagonistas R14, C16, ENF 24 e *T. harzianum* inibiram o patógeno com RC de 42 a 57%. *Trichoderma* teve capacidade hiperparasitária. A incorporação da matéria orgânica não foi eficiente no controle da doença. Os antagonistas 'in vivo' reduziram a incidência da doença e contribuiu para o desenvolvimento das plantas. Os óleos e extratos vegetais não foram eficientes em reduzir a incidência da doença. A adubação mineral não foi capaz de suprimir a doença.

Palavras-chave – Podridão radicular, antagonistas, biofumigação, adubação mineral, substâncias naturais.

Abstract

Alternative control of *Sclerotium rolfsii* Sacc. in cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] (Fabaceae). The cowpea, *Vigna unguiculata* (L.) Walp., is known as “feijão-de-corda” and “feijão-verde”, among others, is one of the main cultures exploited by small producers of the Northeast region of Brazil. Among the phytopathogens that affects its productivity, *Sclerotium rolfsii* Sacc. is noteworthy, causing the stem rot in several cultures around the world. The objective of this work was to evaluate the alternative control of *S. rolfsii* Sacc. in saplings of *V. unguiculata* (L.) Walp. trough the biocontrol of antagonists, organic residues incorporation to the soil, utilization of essential oils, plant extracts and mineral nutrition. The work was developed in the Laboratory de Phytopathology and in the vegetation house of CECA/UFAL. The pathogen was obtained trough the isolations of cowpea with symptoms of the disease and, afterwards, it was cultivated in sterilized rice. For *in vitro* control, the antagonists isolates were matched with the pathogen in PDA medium, for the purpose of evaluating the reduction of growth and the hyperparasitism. For the biofumigations of the soil, the organic materials – poultry litter, mussel, sugar cane bagasse, bean residue, cassava scuff – were dehydrated in stove at 55°C for 96h, grinded in the concentrations of 10% and 20% (v/v) and incorporated to the substrate, infested for 20 days and compared to the group treated with methyl thiophanate and to the control. After thirty days, the seedlings were evaluated about the incidence and the suppression of the disease. In the *in vivo* control the seeds were microbiolized with antagonists (C110, C21, ENF24, R14 and *Trichoderma harzianum*), the fungicide and saline solution for the control. The substrate was infested with the pathogen, two days after the sow, and after 30 days were evaluated. For the natural substances, 21 days old seedlings were pulverized with cassava flour wastewater extract (40%), eucalyptus oil (1%), peppermint (1%), Ecolife® (2%), methyl thiophanate (0,7 g/L) and water for the control and after two days, the substrate was infested with the pathogen. Six days after the inoculation, a new pulverization was done. The mineral fertilization was done in the sow trough Sarruge solution and doses of calcium silicate and sodium, 50, 100, 500 and 1000mg/L⁻¹ and water for the control. The substrate was infested two days after that and a second fertilization was done 10 days after the sow. After 30 days the evaluations took place. The antagonists R14, C16, ENF 24 and *T. harzianum* inhibited the pathogen with RC from 42 up to 57%. *Trichoderma* has the hyperparasitic capacity. The incorporation of organic material was not efficient in the control of the disease. The *in vivo* antagonists reduced the incidence of the disease, but it was effective in the suppression. The oils and plant extracts were not efficient in reduced the incidence. The mineral fertilizations was not able to suppress the disease.

Key-words: Stem rot, antagonists, biofumigation, mineral fertilization, natural substances

Introdução

O feijão-caupi, *Vigna unguiculata* (L.) Walp, é uma planta pertencente à família Fabaceae, que se diferencia por ser uma fonte rica, principalmente, em proteína e ferro (Santos et al., 2009b), sendo assim, uma das alternativas de renda e alimento básico para população das regiões Norte e Nordeste do Brasil, que o consome sob a forma de grãos maduros e verdes (Oliveira et al., 2001). Além disso, também é utilizado como forragem verde, feno, silagem, farinha para alimentação animal e, ainda, como adubação verde e proteção do solo (Andrade Júnior, 2000).

Atualmente é cultivado em diversos países localizados nas regiões semi-áridas do mundo. No Brasil, vem sendo cultivado em maior ou menor escala em todas as regiões. Entretanto, por apresentar alta tolerância à seca, sua produção é concentrada nas zonas semi-áridas do Nordeste (Morgado, 2006).

Ao longo de seu desenvolvimento, o feijoeiro, pode ser atacado por diversas doenças e pragas, as quais ocasionam grandes reduções na produtividade. Dentre os agentes fitopatogênicos que ocasionam doenças no feijão podem-se destacar os fungos que possuem larga diversidade de espécies patogênicas, em diferentes habitats e colonizando distintas partes vegetais do feijoeiro (Athayde Sobrinho et al., 2005).

Dentre as espécies de fungos que provocam doenças no feijoeiro, o *Sclerotium rolfsii* Sacc., destaca-se por causar murchas e podridões de raízes, colo, bulbos e frutos. Os sintomas iniciam-se por lesões marrons e aquosas que provocam o estrangulamento do colo ocasionando a podridão de caule, murcha da parte aérea, seca, queda de folhas e conseqüentemente morte da planta (Santos et al., 2009a).

Estratégias de controle como tratamento químico das sementes, resistência genética e rotação culturas contribuem para a redução do patógeno, mas possuem pouca eficiência (Santos et al., 2009a).

Nos últimos anos, o número de pesquisas sobre o controle de doenças através de produtos alternativos vem ganhando destaque. Dentre as alternativas, o controle biológico com microrganismos antagonistas, óleos essenciais, extratos vegetais, biofumigação e a nutrição mineral destacam-se com resultados significativos. (Gamiel & Stapleton, 1993a, 1993b; Amaral & Bara, 2005).

A utilização de fungos e rizobactérias, com propriedades antagonicas constitui uma estratégia de grande interesse e importância para viabilizar a redução ou substituição do uso de pesticidas (Morandi & Bettiol, 2009).

O uso de biofungicidas, extratos vegetais e óleos essenciais tem sido relatados como potentes fungicidas e inseticidas naturais, onde resultados alcançados nessa linha de pesquisa tem-se mostrado promissores para a utilização práticas no controle de diversos fitopatógenos (Melo, 1998; Schwan-Estrada et al., 2000).

A incorporação de matéria orgânica ao solo estimula a atividade microbiana, limitando a atividade dos fitopatógenos. Dentre outros fatores, existem o aumento da competição por espaço e nutrientes, a produção de metabolitos tóxicos aos patógenos e o aumento da atividade dos parasitas e dos predadores (Bettiol & Ghini, 2005).

A nutrição mineral é um fator ambiental de fácil manipulação a ser empregado no controle das doenças, uma vez que pode alterar a susceptibilidade do hospedeiro aos patógenos (Rodrigues et al., 2002). Estudos recentes têm demonstrado que o silício além de estimular o crescimento e a produtividade das culturas, pode conferir resistência desses a estresses bióticos e abióticos, tais como excesso de metais pesados, deficiência hídrica, pragas e doenças. Dessa forma, o uso de silicatos na agricultura, além dos efeitos diretos na produtividade, podem contribuir para redução do uso de fungicidas (Reis et al., 2008).

Diante disso, o presente trabalho teve por objetivo, avaliar o controle alternativo da podridão radicular de *S. rolfsii* em mudas de *V. unguiculata* através do biocontrole com antagonistas, incorporação de resíduos orgânicos, utilização de óleos essenciais, extratos vegetais e Ecolife®, e da nutrição mineral.

CAPÍTULO I

Revisão da Literatura

1. *Vigna unguiculata* (L.) Walp.

O feijão-caupi é alimento básico para a população, principalmente do Nordeste, sendo uma excelente fonte de proteínas, possuindo todos os aminoácidos essenciais, carboidratos, vitaminas e minerais, além de ter grande quantidade de fibras dietéticas e baixa quantidade de gordura (Andrade Júnior et al., 2003).

Seu consumo, geralmente, é na forma de feijão-verde na região Nordeste. Na verdade a palavra verde se refere mais ao estágio em que a vagem é colhida do que propriamente à cor dos grãos (Freire Filho et al., 2007).

1.1 Aspectos Taxonômicos

O feijão-caupi é classificado como uma planta dicotiledônea que pertence à ordem Fabales, família Fabaceae, subfamília Faboideae, tribo Phaseoleae, subtribo Phaseolina, gênero *Vigna* e espécie *Vigna unguiculata* (L.) Walp. (Freire Filho et al., 2005).

Segundo Verdcourt (1970) citado¹ por Izidine (1995), a espécie *V. unguiculata* possui cinco subespécies, das quais três são cultivadas *V. unguiculata unguiculata* (L.) Walp. Verdc., *V. unguiculata cilíndrica* (L.) Van Eseltine e *V. unguiculata sesquipedalis* (L.) Fruw. e duas espontâneas *V. unguiculata denkindtiana* (Harms) Verdc. e *V. unguiculata mensensis* (Schweinf.) Verdc.

¹Verdcourt (1970) Origem, Evolução e Domesticação do Caupi in J.P.Araújo & E.E. Watt (Org.). Embrapa. pp 27-29.

Observa-se no caupi uma grande variabilidade fenotípica (Bezerra, 1997), o que tem permitido a seleção de genótipos adaptados a condições climáticas específicas e adequados à culinária regional (Xavier, et al., 2005).

Atualmente, existem uma gama de cultivares de feijão-caupi, como as Sempre Verde, Canapu, Rabo de Peba, Galanjão (Santos et al., 2009b), BR 14-Mulato, CNC0434 nigeriano (Neves et al., 2003), IPA 206, ESPACE 10, BR-17 Gurgueia, Monteiro, Aparecido, Galanjão-CE, Paulista, Paulistão, Canapu-RV-2 (Xavier et al., 2005), Cariri, Corujinha e Sedinha (Santos et al., 2007).

1.2 Distribuição Geográfica

Sendo o feijão-caupi, uma cultura que tem como habitat as regiões de clima quente, a sua origem está provavelmente ligada ao continente africano (Filho, 1988² *apud* Izidine, 1995). Segundo Faris & Rawal (1975³) citado por Izidine (1995), o Oeste da África Central é apontado como centro de origem e diversificação de *V. unguiculata* e a Nigéria o centro primário de diversificação.

É uma planta de ampla distribuição mundial, estando presente principalmente nas regiões tropicais do globo (Singh et al., 2002). No Brasil, foi introduzida no século XVII pelos colonizadores portugueses e espanhóis, como também pelos povos africanos trazidos como escravos na época do Brasil colônia, provavelmente pelo Estado da Bahia (Bevitori et al., 1992). A partir da Bahia, acompanhando a colonização, estes grãos foram disseminados por todas as regiões do país (Bezerra & Saunders, 1992), sendo as áreas semi-áridas da região Nordeste e algumas da região Norte que concentram a produção (Araújo, 1997).

De acordo com os dados obtidos pela Secretaria do Meio Ambiente e Recursos Hídricos (2009), no Estado de Alagoas, praticamente todos os municípios cultivam o feijão-caupi.

1.3 Aspectos Botânicos

O feijão caupi é conhecido popularmente por diversos nomes nas diferentes regiões do país como ervilha de vaca, feijão-de-campo, feijão-de-corda, feijão-fradinho, feijão macassar,

² Filho RF (1988) Centro de origem e diversidade genética. In: Araújo JPP, Watt EE (Eds.) O caupi no Brasil. IITA. Embrapa. pp 28-33.

³ Faris & Rawal (1975). In: Araújo, Watt (Eds.) O caupi no Brasil. Embrapa. pp 28.

feijão macacá, feijão miúdo, feijão-da-praia, feijão-verde e feijão vigna (Lima, 1980; Oliveira et al., 2002; Leite et al., 2009).

É uma planta herbácea, anual, de tipo de crescimento determinado ou indeteminado, com hábitos de crescimento ereto, semi-ereto, prostados, semi-prostados ou trepadores. A germinação é epígea e a raiz pivotante que a planta desenvolve pode chegar a mais de um metro de profundidade, apresenta raízes laterais bastante profusas que permitem explorar um bom volume de solo (Fall et al., 2003).

Apresentam sementes do tipo que pode permanecer viáveis ou dormentes no solo até que a umidade seja favorável. A germinação desta cultura é frequentemente de percentagem alta (Purseglove, 1968⁴ *apud* Izidine, 1995).

O feijão desenvolve-se em solos com regular teor de matéria orgânica, soltos, leves, profundos e arejados. Segundo Oliveira (1998) quanto maior o teor de areia, mais solta é a terra, o que proporciona um maior arejamento ao sistema radicular fazendo com que a planta se desenvolva melhor, aumentando sua profundidade.

De acordo com Melo et al. (2003) o fato do feijoeiro fixar o nitrogênio da atmosfera, por meio da simbiose com bactérias do gênero *Rhizobium*, garante um melhor desenvolvimento vegetativo e produtivo, contribuindo para redução do uso de fertilizantes nitrogenados.

1.4 Importância econômica do feijão-caupi

O caupi constitui uma das principais culturas em diversas regiões semi-áridas do mundo (Gomes Filho & Tahin, 2002), com 13,9 milhões hectares distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais da África, da Ásia e das Américas. A Nigéria é o principal produtor de caupi, com 4,4 milhões de hectares cultivados e produção anual de 3,1 milhões de toneladas, enquanto o Níger apresenta uma área cultivada de 4,1 milhões de hectares cultivados e produção de 690,6 mil toneladas, ocupando a segunda posição. O Brasil é o terceiro produtor mundial com 1,5 milhão de hectares cultivados e produção de 492,3 mil de toneladas (Singh et al., 2002).

O Brasil contribui com 26% da produção mundial e 82% da produção do continente americano (Araújo & Watt, 1988⁵ citado por Frota, 2007). De acordo com os resultados obtidos pelo IBGE (2006), os principais produtores de caupi na Região Norte-Nordeste do

⁴ Purseglove JW (1968) Tropical crops – Dicotyledons. Longman. England.

⁵ Araújo JPP, Watt EE (1988) O caupi no Brasil. IITA. Embrapa. pp 722.

país, em ordem de produção, são os Estados do Ceará (343,776 mil toneladas), Bahia (233,807 mil toneladas), Pernambuco (94,759 mil toneladas), Paraíba (79,030 mil toneladas), Piauí (76,202 mil toneladas), Rio Grande do Norte (67,491 mil toneladas), Pará (27,818 mil toneladas), Alagoas (27,169 mil toneladas), Maranhão (18,441 mil toneladas) e Rondônia (14,689 mil toneladas), os quais também apresentam as maiores áreas plantadas.

No Estado de Alagoas, o caupi apresenta grande importância sócio-econômica, pois boa parte da cultura é cultivada por pequenos produtores rurais que utilizam a mão-de-obra familiar, contribuindo para sua permanência no setor rural. A produção estimada para o ano de 2010 no Estado de Alagoas é cerca de 108 mil toneladas com área cultivada de 170 hectares (IBGE, 2010).

O feijão-de-corda é um produto que tem um grande potencial para a expansão do consumo, como também para processamento industrial (Freire Filho et al., 2007). Segundo o Anuário Estatístico da Agricultura Brasileira (1998) a cultura do caupi no Brasil gera, anualmente, cerca de 2,4 milhões de empregos diretos.

O feijão-caupi pode ser consumido como sementes de vagem imatura ou secas, como também as folhas frescas ou secas, sendo assim uma cultura muito importante (Izidine, 1995). Atualmente, o processamento industrial de feijão para produção de farinha, produtos pré-cozidos e congelados vem se desenvolvendo (Andrade Júnior et al., 2003).

O mercado do feijão-caupi ainda tem contornos regionais, concentrando-se, principalmente, nas regiões Nordeste e Norte. Entretanto, há indícios de certa expansão da cultura na região Sudeste, principalmente no norte de Minas Gerais e Rio de Janeiro (Andrade Júnior et al., 2003).

1.5 Doenças do feijão-caupi

O caupi enfrenta limitações no que concerne ao seu cultivo, as quais ocorrem desde a sua implantação até a sua comercialização (Moraes, 2007). Entre essas limitações, destacam-se o efeito da salinidade que pode levar até mesmo a morte da planta, a falta de tecnologia, principalmente em relação aos insumos, onde o agricultor recorrendo ao uso de grãos, como sementes sem tratamento adequado, contribui para o surgimento de doenças (Rodrigues & Menezes, 2002).

Dentre os vários fatores que limitam a produção do feijão-de-corda no Brasil, encontram-se as doenças causadas por agentes patogênicos, as quais influenciam na qualidade e na quantidade de feijão produzida. Os fungos e os vírus agrupam o maior número de

patógenos nocivos a esta cultura, embora bactérias e nematóides porporcionam danos significativos (Athayde Sobrinho et al., 2000).

Os fungos possuem ampla diversidade de espécies patogênicas, estando presente em diversos habitats e colonizam patogenicamente várias partes vegetais do feijoeiro (Athayde Sobrinho et al., 2000, 2005). Dentre os fungos que atacam o feijoeiro merece destaque *Sclerotium rolfsii*.

2. *Sclerotium rolfsii* Sacc.

2.1 Aspectos Gerais

Este fungo é um importante fitopatógeno veiculado pelo solo, seus escleródios podem sobreviver durante anos (Punja, 1985). São estimulados pelos exsudatos provenientes das sementes, raízes e hipocótilos do hospedeiro (Cardoso, 1994) e sua dispersão é favorecida pelo vento, água de irrigação e das chuvas e das partículas de solos agregadas aos implementos agrícolas (Rios, 1990).

A taxonomia desse fungo é controversa. Dessa forma, o fungo pertence ao filo Ascomycotes, “classe” Ascomycetes Filamentosos, “grupos” Deuteromycetes, espécie *Sclerotium rolfsii* Sacc., fase imperfeita ou assexual, sem produção de esporos, sobrevivendo no solo através da formação de escleródios (Agrios, 2005).

No entanto, quando esse fungo apresenta a fase perfeita ou sexuada, que raramente aparece no campo ou em cultura, sua classificação muda totalmente pertencendo assim, ao filo Basidiomycetes, ordem Aphyllorphorales, gênero *Athelia*, com a espécie *Athelia rolfsii* (Curzi) Tu & Kimbr. (Agrios, 2005).

Fungos do gênero *Sclerotium* apresentam hifas septadas, finas, brancas e intensamente ramificadas, formando um micélio abundante, cotonoso e solto. O micélio dá origem aos escleródios, inicialmente pequenos, de cor branca que, durante seu desenvolvimento, escurem podendo ser esféricos ou irregulares (Bedendo, 1995; Agrios, 2005).

A formação dos escleródios é uma característica marcante de *S. rolfsii*, com coloração variando de marrom escuro a preto e diâmetro de 0,5 a 2,0 mm, produzidos, principalmente, nas hifas laterais (Punja, 1985).

Os escleródios podem germinar de duas formas: eruptiva e hifal. O micélio produzido pela germinação eruptiva não necessita de nutrientes externos para concretizar o processo infeccioso, pois os escleródios já possuiu a energia necessária. Por outro lado, o micélio

proveniente do crescimento hifal necessita de uma fonte externa de nutrientes para desenvolver-se até causar a doença (Punja, 1985).

A fase perfeita, *Athelia rolfsii* (Curzi) Tu & Kimbr. produz basídios em massas de micélio sobre a superfície do hospedeiro, os quais contem basidiósporos unicelulares e hialinos (Walker, 1959⁶ *apud* Cardoso,1994).

Esse fungo prevalece em regiões quentes com temperaturas altas em torno de 27°C a 30°C para o crescimento e a formação de escleródios diminui com temperaturas abaixo de 15°C. Essa flutuação pode afetar a forma e o tamanho dos escleródios (Mathur & Sarbhoy, 1976). A abundância na produção de escleródios na superfície do solo ocorre em resposta à luz e a maior demanda por oxigênio (Punja, 1985).

O crescimento micelial e a formação de escleródios são inibidos a baixas concentrações de oxigênio e alta concentração de dióxido de carbono na faixa de 15 e 3 %, respectivamente. A taxa de germinação no solo é baixa em profundidades maior que 2,5 cm, comparada com a superfície do solo. Com o aumento da umidade, o crescimento micelial é progressivamente menor. A incidência é maior em solos arenosos e bem drenados com umidade abaixo da capacidade de campo (Punja,1985).

2.2 Distribuição Geográfica

O primeiro relato desse fungo foi em 1892, por Peter Henry Rolfs, em associação com cultivos de tomate na Flórida (Aycock, 1966⁷ *apud* Fichtner, 2010). A partir daí, as publicações não pararam mais a respeito desse patógeno, revelando uma distribuição mundial.

Sclerotium rolfsii é amplamente distribuído pelas regiões tropicais e subtropicais do mundo, sendo favorecido por condições de temperaturas médias em torno de 27 °C e alta umidade relativa do ar (Punja, 1985).

No Brasil, as doenças em que este fungo acarreta ocorrem em todas as regiões agricultáveis do país.

⁶ Walker J C (1959) Enfermedades de las hortaliza. Barcelona. Salvat. pp.624.

⁷ Aycock R (1966) Stem rot and other diseases caused by *Sclerotium rolfsii*. N.C. Agr. Expt. St. Tech. Bul. No. 174.

2.3 Sintomas

Os sintomas de *S. rolfsii* se caracterizam pela produção de enzimas e ácidos que promovem a morte do tecido vegetal, resultando numa aparência encharcada, necrótica e macerada, para assim ocorrer à penetração das hifas e conseqüentemente o desenvolvimento da doença (Punja, 1985; Cardoso, 1994).

Esse fungo é responsável por podridão de raízes, do colo, de bulbos e frutos, causando murchas, tombamento de plântulas e podridões. (Punja & Rahe, 1992).

Em plantas de feijão-caupi os sintomas da doença, mais típico, ocorrem distribuídas ao acaso na área de plantio, apresentando as folhas amareladas e início de murcha. Na base da planta observa-se o crescimento micelial branco do fungo formando lesões, com aspecto úmido, que com o progresso da doença, numerosos escleródios são formados na base da planta, ocasionando sua morte (Rios, 1990; Nechet & Vieira, 2006).

2.4 Importância Econômica

Devido a sua ampla distribuição geográfica e a sua gama de plantas hospedeiras, esse fungo tem causado sérios prejuízos nas lavouras de pequenos a grandes agricultores de diversas culturas no mundo, causando danos econômicos significativos.

Para o feijoeiro, a doença é letal para a planta infectada, independentemente do seu estágio fenológico. Conseqüentemente, as perdas são devido à redução do estande durante todo o ciclo da cultura (Cardoso, 1994).

Perdas significativas são registradas em solos leves, com umidade próxima a capacidade de campo e com elevada densidade de inóculo (Punja, 1985). Apesar das dificuldades para serem quantificadas, estas perdas atingem 5% da produção anual no sul dos Estados Unidos (Cardoso, 1994).

3 Controle

O controle de doenças radiculares é muito difícil, pois os patógenos coevoluiram com as plantas por milhões de anos e estão altamente adaptados ao ambiente subterrâneo em associação com o hospedeiro (Michereff et al., 2005).

A infecção inicial e o desenvolvimento subsequente das doenças ocorrem na maioria das vezes abaixo do nível do solo. Patógenos radiculares são comparativamente inacessíveis à manipulação direta do homem e as doenças freqüentemente não são notadas até que atinjam estádios bem avançados e as opções de controle tornem-se limitadas (Wheeler & Rush, 2001).

3.1 Controle Químico

O uso inadequado de agrotóxicos para o controle de doenças radiculares pode ocasionar grande impacto no meio ambiente, contaminando lençóis freáticos, causando desequilíbrios nas populações microbianas no solo, acarretando o surgimento de novas raças de patógenos ou a aparição de outros que se mantinham em equilíbrio (Schwan-Estrada et al., 2000; Morandi & Bettiol, 2009).

A grande dificuldade no controle de fitopatógenos habitantes do solo se deve às características etiológicas inerentes a cada espécie. Sendo a presença de estruturas de resistência, uma delas, o que vem a dificultar ou tornar ineficiente a ação dos produtos fitossanitários (Sales Jr et al., 2005).

Existe uma vasta quantidade de fungicidas no mercado, sendo muitos deles capazes de inibir a germinação e o crescimento micelial de *S. rolfsii*, mas, as maiores limitações são a eficácia que depende da cultura e da época de aplicação (Punja, 1985). Fumigantes de solo, como brometo de metila, cloropicrina e “sodium-methan” são tóxicos aos escleródios (Munnecke et al., 1982), porém já se encontram fora do mercado.

3.2 Controle Cultural

O controle cultural das doenças consiste basicamente na manipulação das condições de pré-plantio e durante o desenvolvimento do hospedeiro em detrimento ao patógeno, objetivando a prevenção ou a intercepção da epidemia. O objetivo primário do controle cultural é reduzir o contato entre o hospedeiro suscetível e o inóculo viável, de maneira a reduzir a taxa de infecção e o subsequente progresso da doença (Reis et al., 2005).

As práticas culturais estão diretamente relacionadas com a oportunidade de manipulação das condições de crescimento das plantas. A rotação de culturas, a prática mais antiga no controle de doenças e de pragas (Reis et al., 2005).

O fungo *S. rolfsii*, habitante natural do solo, é de difícil controle pela rotação de culturas, pois apresenta ampla gama de hospedeiros, além do que, satisfaz seus requerimentos

nutricionais pela sobrevivência saprofítica nos restos culturais em decomposição (Punja, 1985). No sistema plantio direto, a totalidade dos restos culturais após a colheita permanece na superfície do solo. Nessa condição, o fungo pode manter sua viabilidade e dar início ao parasitismo de novas plantas (Reis et al., 2005).

3.3 Controle Físico

O controle físico visa interromper o ciclo da doença via manipulação de um dos componentes bióticos envolvidos na doença (população do patógeno, planta resistente e balanço microbiano) ou abióticos, sendo a meta final a redução da doença de forma econômica e ambientalmente viável (Ghini & Bettiol, 2005).

A solarização é um método físico de desinfestação do solo para o controle de doenças, ervas daninha e pragas. Consiste na utilização da energia solar para a desinfestação do solo, por meio da cobertura com um filme plástico transparente, antes do plantio (Ghini, 1991; Ghini & Bettiol, 2005).

Muitos trabalhos vêm descrevendo o controle de uma grande variedade de patógenos pela solarização, inclusive as espécies de *Sclerotium* que apresenta difícil controle com outros métodos (Ghini & Bettiol, 2005), tendo a solarização integrada com outros métodos uma saída para um controle mais efetivo.

3.4 Controle Biológico

A utilização de agrotóxicos para o controle de doenças de plantas é ainda hoje, bastante praticado em todo o mundo, mas ao longo dos anos, foram surgindo diversos problemas, como resistências de fitopatógenos, contaminação ambiental e danos a saúde da população (Melo, 1998; Schwan-Estrada et al., 2000; Morandi & Bettiol, 2009). Devido à pressão da sociedade frente a esses problemas, o cenário agrícola vem sendo alterado, resultando em alimentos mais saudáveis. Dentre, as alternativas para a redução do uso de agrotóxicos, o controle biológico é um dos mais utilizados (Morandi & Bettiol, 2009).

Os componentes do controle biológico de plantas são os patógenos, os hospedeiros e os antagonistas, interagindo num sistema biológico, onde todos sofrem isolada ou conjuntamente, influência do ambiente (Bettiol, 1991).

Atualmente, existe uma grande infinidade de biofungicidas disponibilizados para comercialização, destacando-se os produtos a base *Agrobacterium*, *Peniophora*, *Pseudomonas*, *Trichoderma*, *Streptomyces* e *Bacillus* (Melo, 1998; Pozo et al., 2007).

3.4.1 *Trichoderma harzianum* Rifai

O gênero *Trichoderma* é classificado como imperfeito, sendo um Deuteromiceto, sub-classe Hifomiceto, ordem Moniliales, família Moniliaceae. O estado Telemórfico pertence ao gênero *Hypocrea*. Tendo como um dos representantes desse gênero a espécie *T. harzianum* Rifai, que apresenta grande potencial antagônico e frequentemente é associada a solos supressivos a fitopatógenos (Melo, 1991, 1998).

Atualmente, espécies de *Trichoderma* estão entre os agentes de controle biológico mais comercialmente utilizados no Brasil (Lopes, 2009). Formulados como biopesticidas, biofertilizantes e inoculantes de solo (Harman et al., 2004), sendo *T. harzianum* a espécie mais estudada (Mariano et al., 2005).

Para a agricultura, além do controle de patógenos, o uso de *Trichoderma* spp. pode oferecer várias vantagens como: decomposição de matéria orgânica, uma microflora competitiva/deletéria através da colonização da rizosfera (Harman et al., 2004).

Esse gênero apresenta características essenciais para um agente de controle biológico, como ausência de impacto negativo ao meio ambiente, presença de estruturas de reprodução de fácil propagação, principalmente em substratos naturais (Spiegel & Chet, 1998), capacidade de sobreviver em ambientes desfavoráveis, além de conter populações de patógenos em condições de solo diferentes (Vinale et al., 2008).

Espécies de *Trichoderma* são conhecidas pela sua alta capacidade em produzir enzimas que degradam celulose e quitina (Melo, 1991; Harman et al., 2004). O uso de *Trichoderma* spp. já foi documentado para o controle de *Rhizoctonia solani* Kühn, *S. rolfsii*, *Sclerotina sclerotiorum* (Lib.) de Bary, *Fusarium* spp. e *Pythium* spp. (Melo, 1998).

Estudos realizados por Rollan et al. (1999) demonstram que diferentes espécies de *Trichoderma*, incluindo *T. harzianum*, apresentaram uma elevada taxa de parasitismos para os fitopatógenos, *S. rolfsii*, *Sclerotina minor* e *S. sclerotiorum*. Resultados de Rondón et al., (2007) também mostraram que *T. harzianum* tem elevada atividade antagônica e hiperparasítica contra os patógenos *R. solani* e *Pyricularia grisea* Sacc., sendo mais efetivo no controle do primeiro.

3.4.2 Rizobactérias

Bactérias representam um importante grupo de microrganismos antagonistas para o controle biológico de patógenos radiculares, podendo ser classificadas em bactérias endofíticas e epifíticas (Mariano et al., 2004, 2005).

Ainda segundo Mariano et al. (2005), as bactérias que colonizam raízes podem incitar um aumento no desenvolvimento e na produção do hospedeiro, sendo chamadas de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (PGPR). O crescimento resulta principalmente da repressão de patógenos de solo e outros microrganismos prejudiciais, mas há também relatos do efeito direto no crescimento (Pieterse et al., 2005)

Esses efeitos diretos podem estar relacionados com a produção de hormônios vegetais, aumento da fixação de nitrogênio e disponibilidade de nitrato, solubilização de fósforo e oxidação de enxofre, aumento da permeabilidade das raízes estimulando a absorção de nutrientes (Mariano et al., 2005).

A atividade do controle biológico através de bactérias pode ser resultante da competição por nutrientes, competição por ferro com sideróforos e antibiose (Pieterse et al., 2005). Pode ainda esta envolvendo no mecanismo de indução de resistência sistêmica no hospedeiro (Freitas & Aguilar Vildoso, 2004).

Estudos realizados por Shiomi et al. (2008) mostraram que rizobactérias inibiram o crescimento micelial *in vitro* dos fitopatógenos *R. solani*, *S. rolfsii*, *Fusarium moniliforme* Sheldon e *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard & Suggs, sendo as bactérias endofíticas *Bacillus subtilis* 0G (Ehrenberg) Cohn e *B. lentimorbus* Dutky com maior potencial para o uso como agentes de biocontrole de fitopatógenos.

Pozo et al. (2007) identificaram sete cepas de rizobactérias com ação antagonista inibindo o crescimento micelial, em 80%, dos fungos fitogênicos *Alternaria solani* Sorauer e *R. solani*, em teste *in vitro*.

3.5 Controle alternativo

A integração de diferentes métodos de controle de doenças de plantas constitui uma alternativa com maiores chances de sucesso do que a utilização exclusiva de um método. A complexidade do agroecossistema requer uma abordagem multidisciplinar dos problemas a serem resolvidos (Ghini, 1991).

No controle de doenças, a utilização de produtos alternativos em substituição aos convencionais ou mesmo em conjunto vem crescendo ao longo dos anos. Dentre as alternativas, o uso de óleos essenciais, extratos vegetais, biofumigação e nutrição mineral destacam-se com resultados significativos (Gamliel & Stapleton, 1993a, 1993b; Schwan-Estrada et al., 2000; Pozza et al., 2004a; Amaral & Bara, 2005).

3.5.1 Biofumigação

A biofumigação consiste na incorporação de matéria orgânica ao solo, principalmente de resíduos ricos em nitrogênio, podendo permitir o controle mais eficiente de muitos patógenos radiculares, principalmente em estratégias de manejo integrado. Os materiais orgânicos quando decompostos no solo geram produtos que proporcionam o aumento da atividade de microrganismos, limitando os danos dos fitopatógenos por competição e favorecendo a ação dos antagonistas (Robbs, 1991).

Atualmente, tem-se utilizado a solarização juntamente com a biofumigação, essa combinação tem aumentado a eficácia dos tratamentos para o controle de patógenos e aumentado a produtividade das culturas (Gamliel et al., 2000).

3.5.2 Óleos essenciais e extratos vegetais

A substituição de agroquímicos por substâncias extraídas de plantas com ação fungicida vem sendo pesquisada no meio agrícola. Diversos trabalhos vêm demonstrando a eficiência de óleos essenciais e extratos vegetais na inibição de fungos fitopatogênicos (Amaral & Bara, 2005).

A utilização de extratos e óleos essenciais de espécies medicinais, isolados ou em combinação com outros métodos poderá vir a ter um importante papel no controle de fitopatógenos fúngicos, contribuindo para redução do uso de fungicidas e, conseqüentemente, um menor impacto ao ambiente (Mota & Pessoa, 2003).

Trabalhos desenvolvidos com extratos e óleo essencial têm indicado um grande potencial no controle de fitopatógenos, tanto por sua ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto pela indução de fitoalexinas, indicando a presença de composto(s) com característica elicitoras (Schwan-Estrada & Stangarlin, 2001).

Moraes et al. (2001) obtiveram inibição no crescimento da bactéria *Xanthomonas*

campestris pv. *phaseoli* var. *fuscans* utilizando tinturas de erva cidreira (*Lippia alba* L.) e cavalinha (*Esquisetum* spp).

Os fungos fitopatogênicos, *F. oxysporum* e *R. solani* apresentaram inibição do crescimento micelial superior a 50% utilizando-se extratos vegetais (Amaral & Bara, 2005).

3.5.3 Manipueira

A cultura da mandioca é matéria-prima para muitos produtos de uso geral. Porém, como em qualquer atividade produtiva, também gera resíduos culturais e subprodutos derivados de processos industriais, como a manipueira (Wosiacki & Cereda, 2002).

A manipueira, que em tupi-guarani significa “o que brota da mandioca”, é um líquido de aspecto leitoso, de caramarelo-claro oriunda das raízes da mandioca, por ocasião da prensagem da mesma, com vistas à obtenção da fécula ou farinha de mandioca que, fisicamente, se apresenta na forma de suspensão aquosa e, quimicamente, como miscelânea de compostos, como goma, açúcares, proteínas, linamarina, derivados cianogênicos, substâncias e sais minerais diversos (Cereda, 2001; Wosiacki & Cereda, 2002).

A linamarina e os derivados cianogênicos da manipueira consiste em um sério problema ambiental quando lançada diretamente em corpos hídricos, principalmente se considerados os pequenos cursos d’água, onde comumente acontecem os despejos dos resíduos líquidos de indústrias que utilizam raízes de mandioca como matéria-prima (Cereda, 2001).

Segundo Silva (2003), a composição química da manipueira sustenta também a potencialidade do composto como adubo, haja vista sua riqueza em nitrogênio, fósforo e, principalmente, em potássio. Por outro lado, a presença de cianetos explica os efeitos nematicida e inseticida inerentes à mesma.

Estudos realizados por Saraiva et al. (2007) mostraram que a utilização da manipueira aumentou a composição química do solo e proporcionou melhor desenvolvimento de plantas de milho.

3.5.4 Silicato

A resistência das plantas às doenças, mesmo sendo geneticamente controlada, poderá ser afetada pelos fatores ambientais. A nutrição mineral é um fator ambiental de fácil

manipulação a ser empregado no controle das doenças, uma vez que a nutrição pode afetar a susceptibilidade do hospedeiro aos patógenos (Rodrigues et al., 2002).

O silício é o segundo elemento mais abundante da crosta terrestre, apenas superado pelo oxigênio. Nos solos, o silício solúvel ou disponível para as plantas (H_4SiO_4 , ácido monossilícico) pode ter origem nos processos de intemperização dos minerais primários e particularmente dos minerais secundários como os argilo-silicatos (Pozza et al., 2004a).

Pesquisas recentes evidenciaram o efeito do silício no controle de doenças em várias culturas, bem como no aumento da taxa fotossintética, na melhoria da arquitetura foliar, maior resistência à toxicidade de metais pesados e menor intensidade de doenças e pragas, resultando em maior qualidade dos alimentos e no aumento da produção (Pozza et al., 2004a, 2004b).

Nolla et al. (2004) observaram uma redução significativa na severidade de *Cercospora sojina* Hará em cultivos de soja através da adubação com silicato de cálcio.

O silicato de cálcio aplicado no substrato de plantio reduziu as lesões provocadas pela cercosporiose do cafeeiro (*Cercospora coffeicola* Berkeley & Cooke) (Pozza et al., 2004b). A incidência da antracnose do feijoeiro foi reduzida com a adubação de silicato de cálcio (Moraes et al., 2009).

CAPÍTULO II

Controle alternativo da podridão radicular (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) em feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] (Fabaceae)

O feijão-caupi, *Vigna unguiculata* (L.) Walp., é conhecido como feijão-de-corda, feijão-verde, feijão macassar e feijão-fradinho. É uma das principais culturas exploradas pelos pequenos produtores das regiões Norte e Nordeste, por ser uma excelente fonte de energia e proteína, incluindo também outras substâncias nutritivas como aminoácidos essenciais, carboidratos, vitaminas, minerais e fibras dietéticas (Andrade Júnior et al., 2003).

Dentre os fatores que podem ocasionar grandes reduções na produtividade do feijoeiro, ao longo de seu desenvolvimento, está o fungo fitopatogênico, *Sclerotium rolfsii* Sacc. que causa, a murcha de *Sclerotium*, provocando o estrangulamento do colo, o que ocasiona a murcha da parte aérea, seca, queda de folhas e conseqüentemente morte da planta (Santos *et al.*, 2009a). Em plântulas, pode causar tombamento, cancrios, queima, bulbos, tubérculos podridões em caule e raízes (Bedendo, 2005). Este fungo apresenta extensa gama de hospedeiros, cerca de 500 espécies botânicas, incluindo dicotiledôneas e monocotiledôneas, distribuindo-se em todas as regiões agrícolas. Possui ainda, uma alta capacidade de sobrevivência no solo e ampla distribuição geográfica (Punja, 1985).

O controle de *S. rolfsii* é muito difícil. Estratégias alternativas vêm sendo adotadas. Dentre as alternativas, o controle biológico com microrganismos com ação antagônica, o uso de óleos essenciais, extratos vegetais e a biofumigação podem ser bem empregadas, apresentando resultados significativos.

Diante disso, o presente trabalho teve por objetivo, avaliar o controle alternativo de *Sclerotium rolfsii* Sacc. em mudas de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. através do biocontrole com antagonistas, incorporação de resíduos orgânicos ao substrato, utilização de óleos essenciais, extratos vegetais e Ecolife®, e nutrição mineral.

2.1 Metodologia

2.1.1 Condução dos experimentos

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação e no Laboratório de Fitopatologia, no Centro de Ciências Agrárias (CECA), da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), em Rio Largo, no período entre setembro de 2009 a fevereiro de 2010.

2.1.2 Obtenção do material

2.1.2.1 Obtenção dos isolados antagonistas e patógeno

Os isolados de rizobactérias utilizados foram cedidos pelo Laboratório de Bacteriologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco: C110 e C21 (couve), R14 (repolho) e ENF 24 (rabanete). O isolado de *Trichoderma harzianum* foi proveniente da micoteca do Laboratório de Fitopatologia da UFAL.

O isolado de *S. rolfsii* foi obtido a partir do isolamento de plantas feijão caupi (*V. unguiculata* (L.) Walp.) com os sintomas da doença e se encontra depositado na micoteca do Laboratório de Fitopatologia da UFAL, preservado pelo método Castellani em temperaturas de 28°C.

2.1.2.2 Obtenção da matéria orgânica, extrato vegetal e óleo essencial

As matérias orgânicas utilizadas foram cedidas pelos comerciantes de Maceió, sendo o marisco cedido por pescadores da Barra de São Miguel. A cama de frango foi obtida de forma comercial.

O Ecolife®, produto comercial originado de biomassa cítrica foi fornecido por Quinabra S. A. (Química Natural Brasileira, São José dos Campos - SP, Brasil). Os óleos de eucalipto variedade citriodora (*Eucalyptus citriodora* Hook) e hortelã pimenta (*Mentha piperita* L.) foram obtidos de forma comercial.

A manipueira, um subproduto da mandioca, foi obtida após a prensagem das raízes da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) e fornecida por produtores de farinha de mandioca do Estado de Alagoas.

2.1.3 Teste de Patogenicidade

A patogenicidade do isolado de *S. rolfsii* foi avaliada em mudas de feijoeiro (*V. unguiculata*) cultivar BRS Gurguéia, cultivadas em substrato infestado com inóculo do patógeno (8g de arroz colonizados/L) na concentração de 10^5 escleródios/mL, conforme Chaves & Costa (1999), obtido a partir do crescimento micelial de *S. rolfsii* em meio BDA (batata-dextrose-água) e transferência de dez discos (5mm) de micélio para Erlenmeyeres contendo 100g de arroz, previamente autoclavados e incubado por 20 dias a temperatura ambiente (Figura 1).

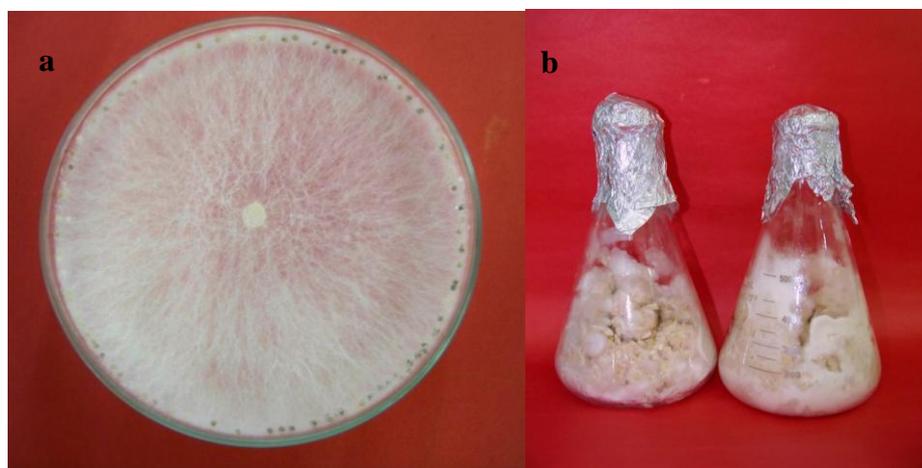


FIGURA 1 – Obtenção do inóculo: 1a) Micélio e escleródio de *Sclerotium rolfsii* Sacc. em meio de BDA; 1b) Cultivo do patógeno em arroz esterelizado.

As plantas foram incubadas em condições ambientais por 20 dias e em seguida avaliou-se a incidência da doença e realizou-se o reisolamento do patógeno em BDA.

2.1.4 Atividade antagônica de isolados de *Trichoderma harzianum* e rizobactérias ao fungo *Sclerotium rolfsii*, 'in vitro'

O experimento foi conduzido tendo como princípio a técnica de pareamento, a partir de isolados de *S. rolfsii*, *T. harzianum* e rizobactérias, cultivados em meio BDA.

O pareamento dos isolados foi realizado em placas de Petri contendo meio de cultura BDA. Para o isolado de *T. harzianum*, houve a transferência de um disco da colônia (5mm) para a extremidade da placa, colocando-se no lado oposto, um disco equidistante com o micélio de *S. rolfsii*. Para as rizobactérias, o procedimento foi semelhante, de forma que, as estrias da colônia bacteriana ficassem opostas ao disco com a colônia do patógeno.

As testemunhas foram constituídas por placas contendo um disco de *S. rolfsii*, pareado com outro disco do mesmo patógeno em BDA. As placas foram incubadas por cinco dias em presença de luz fluorescente a temperatura ambiente.

A avaliação do experimento foi realizada medindo-se, com o auxílio de uma régua milimetrada, o crescimento do patógeno na presença da antagonista, observando se houve ou não inibição desse crescimento. A escala de notas utilizada foi a Bell et al. (1982) e as médias obtidas foram aplicadas na fórmula de redução de crescimento:

$$RC\% = (CTP - CTA) \times 100 / CTP$$

CTP = Crescimento Total do Patógeno

CTA = Crescimento Total do Patógeno na presença do Antagônico.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com seis tratamentos e quatro repetições. Os dados da escala de notas foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

2.1.5 Hiperparasitismo

As preparações microscópicas foram realizadas, a partir do crescimento micelial da área de pareamento de *T. harzianum* e *S. rolfsii*, com o intuito de avaliar a interação ocorrida entre os isolados.

2.1.6 Biofumigação do solo

Foram utilizadas as seguintes matérias orgânicas, desidratadas em estufas a 55°C e moídas: cama de frango (CF), marisco (M), bagaço de cana (BC), resíduo de feijão (RF), casca de mandioca (CM), comparadas ao tratamento químico (tiofanato metílico 0,7 g/L) e a testemunha (substrato infestado com o patógeno).

O substrato (solo + torta de filtro de cana + fibra de coco) foi esterilizado por meio de autoclavagem a 120°C por duas horas. Os materiais orgânicos, nas concentrações de 10 e 20% (v/v), foram misturados ao substrato infestados com o patógeno (8g de arroz colonizados/L) e a concentração ajustada para 10^5 escleródios/mL, preparado conforme o item 2.1.3. Os substratos infestados e tratados com os resíduos foram mantidos em sacos plásticos por 20 dias.

Decorridos o tempo de incubação, realizou-se o semeio das sementes de feijão, cultivar BRS Gurguéia (vasos de 400mL), que foram desinfestadas superficialmente em álcool 70%, hipoclorito de sódio 2%, seguido de sucessivas lavagens em água destilada esterilizada. Os vasos foram colocados em casa-de-vegetação, sendo irrigados diariamente.

A avaliação da supressividade da doença foi realizada 30 dias após o semeio, quando se determinou a porcentagem de plantas sobreviventes, a altura da planta, o comprimento da raiz principal e a massa do peso fresco e peso seco total (parte aérea e a raiz principal). O peso seco total que foi obtido pela secagem em estufa a 65°C, até obtenção de peso constante, seguida da pesagem em balança analítica (Figura 2).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 13 tratamentos e quatro repetições. Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

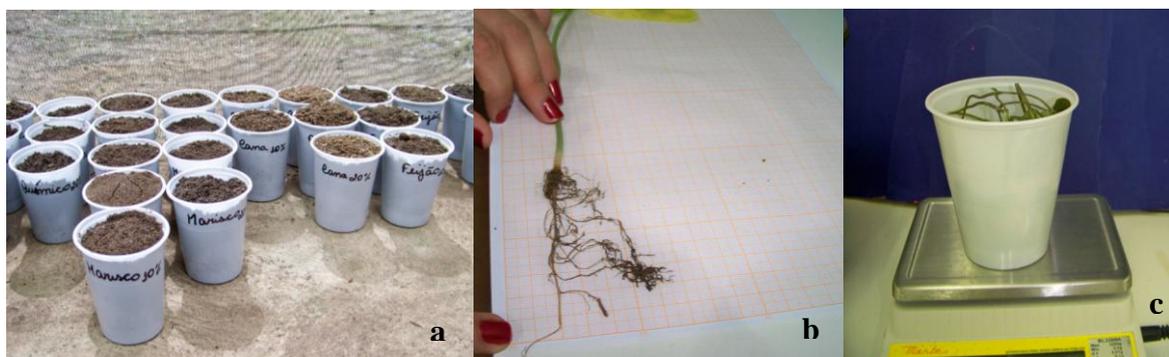


FIGURA 2 – Biofumigação do solo: 2a) Semeio das sementes de feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] em substratos incorporados com a matéria orgânica; 2b) Medida da raiz principal de plantas de feijão-caupi; 2c) Pesagem da massa fresca de plantas de feijão-caupi.

2.1.7 Uso de antagonistas no controle da doença

Sementes de feijão foram desinfestadas superficialmente e imersas nas suspensões bacterianas (10^8 colonias.mL⁻¹) ou na suspensão do *T. harzianum* (10^7 con.mL⁻¹) por duas horas, 48 horas antes do semeio.

As bactérias cresceram, separadamente, em tubos de ensaio com meio nutriente Ágar (NA) inclinados e incubadas a 27 °C por 48 horas. Após esse período foi adicionado solução salina (0,85%) esterilizada, seguida de agitação e transferência da suspensão de células bacteriana para outro tubo para determinação da concentração de inóculo, pela escala de McFarland (Mariano & Silveira, 2005).

Trichoderma harzianum foi cultivado em placas com meio BDA e incubados a 28°C por cinco dias, sendo então adicionados 20 mL de água destilada esterilizada e ajustada a concentração do inóculo, utilizando-se a câmara de Neubauer.

Foram utilizadas como testemunha, sementes imersas em solução salina esterilizada e sementes tratadas com fungicidas (tiofanato metílico – 0,7 g/L).

As sementes microbiolizadas foram semeadas em substrato esterilizado e infestado (8g de arroz colonizados/L), contidos em copos plásticos (400 mL), que foram mantidos em telado por 30 dias, quando se avaliou a supressividade da doença, conforme item 2.1.6.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com sete tratamentos e seis repetições. Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade.

2.1.8 Uso de substâncias naturais no controle da doença

Sementes de feijão-caupi, desinfestadas superficialmente, foram plantadas em vasos (400 mL) contendo substrato desinfestado. Após vinte e um dias da germinação das sementes, as plantas foram pulverizadas, com o auxílio de um pulverizador manual, com os seguintes tratamentos: manipueira (40%), óleo de eucalipto (1%), hortelã pimenta (1%), Ecolife® (2%), tiofanato metílico (0,7 g/L) e água destilada esterilizada (ADE) para a testemunha. Todos os extratos e óleos foram esterilizados em luz UV por 30 minutos. Para todas as soluções, foram utilizados como solvente água (ADE) e adicionadas espalhante adesivo Tween 20 (polioxyethylene sobitan mono-oleate, de marca Vetec), 0,1 mL para cada 100 mL de solução, antes das pulverizações.

Após dois dias, o substrato foi infestado com o patógeno, de acordo com o item 2.1.3. Uma segunda pulverização com os produtos naturais foi realizada seis dias após a inoculação do patógeno.

A avaliação da supressividade da doença foi realizada após 30 dias do semeio e foi baseada no item 2.1.6.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com seis tratamentos e seis repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade.

2.1.9 Uso da adubação mineral no controle da doença

Sementes de feijão-caupi, desinfestadas superficialmente, foram cultivadas em vasos (400 mL) com substrato infestado com inóculo do patógeno (item 2.1.3) e adubado com solução nutritiva (solução de Sarruge, 1975, modificada – 10 mL/vaso) e diferentes doses de silicato de cálcio (CaSiO_3) e silicato de sódio (Na_4SiO_4), em cobertura e dez dias após a germinação das sementes de feijão: 1) 50 mg/L^{-1} ; 2) 100 mg/L^{-1} ; 3) 500 mg/L^{-1} ; 4) 1000 mg/L^{-1} de SiO_2 . Como testemunha foi utilizada sementes de feijão cultivadas em substrato infestado com o patógeno.

As avaliações ocorreram aos 30 dias após a germinação conforme item 2.1.6.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 10 tratamentos e seis repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade

2.2 Resultados e discussão

2.2.1 Teste de Patogenicidade

O isolado de *S. rolfsii* manifestou patogenicidade às mudas de feijoeiro. As mudas apresentaram sintomas de murcha e amarelecimento das folhas, lesões necróticas e depressões no colo ou caule e nas raízes das plantas (Figura 3). O aparecimento dos sintomas e o reisolamento do fungo em meio BDA confirmaram a patogenicidade do isolado.



FIGURA 3 – Plantas de feijão-caupi com sintomas da podridão de colo causada por *Sclerotium rolfsii* Sacc.

2.2.2 Atividade antagônica de isolados de *Trichoderma harzianum* e rizobactérias ao fungo *Sclerotium rolfsii*, in vitro

Todos os isolados antagonistas foram capazes de reduzir o crescimento micelial do patógeno, com exceção da rizobactéria C110, que não diferiu estatisticamente da testemunha (Figura 4).

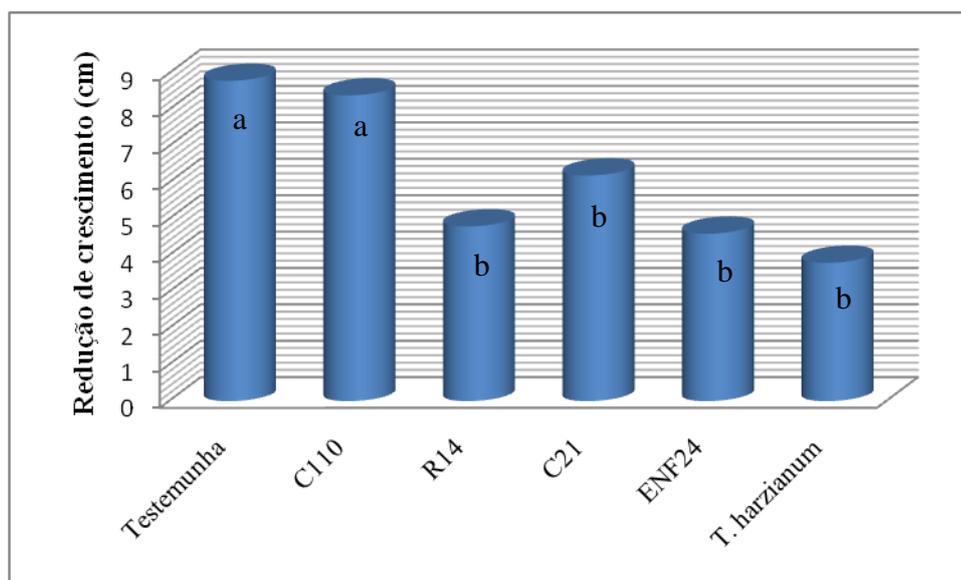


FIGURA 4 – Redução do crescimento micelial de *S. rolfsii* na presença do *T. harzianum* e rizobactérias. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Analisando-se a Figura 4, apesar dos isolados R14, C21, ENF 24 e *T. harzianum* não apresentarem diferença estatística entre si, se comportaram de forma diferenciada na inibição do patógeno: *T. harzianum* apresentou maior capacidade de reduzir o crescimento de *S. rolfsii*, seguido do isolado ENF24. Resultados semelhantes foram encontrados por Melo et al. (2007), onde cepas de *T. harzianum* reduziram o crescimento de *S. rolfsii* e ainda promovem seu crescimento na superfície da colônia do patógeno.

Observou-se que a porcentagem de redução do crescimento micelial de *S. rolfsii* variou de 42 a 57%. A capacidade de inibição do crescimento micelial do referido patógeno também foi obtida por outros autores, tal como Melo (1996) e Elad et al. (1983). Andrade (2008) verificou o efeito dos isolados R14, C110 e ENF24 sobre a redução do crescimento de *Ralstonia solanacearum* que variaram de 35 a 56%, corroborando com os resultados encontrados neste trabalho.

Com relação ao antagonismo de rizobactérias, observa-se que das quatro rizobactérias testadas, três foram eficientes em inibir o crescimento micelial de *S. rolfii*. O antagonismo de rizobactérias já havia sido constatado por vários pesquisadores contra fungos de espécies *S. cepivorum* (Utkhede & Rahe, 1983) e *S. rolfii* (Broadbent et al., 1971). Resultados semelhantes também foram encontrados por Melo (2005) que ao isolar espécies de *Bacillus* na mandioca, constatou sua capacidade em inibir o crescimento micelial de *Pytium* sp., *R. solani* e *S. rolfii*.

A Figura 5 apresenta o confronto dos isolados de *Trichoderma* e rizobactérias frente a *S. rolfii*.

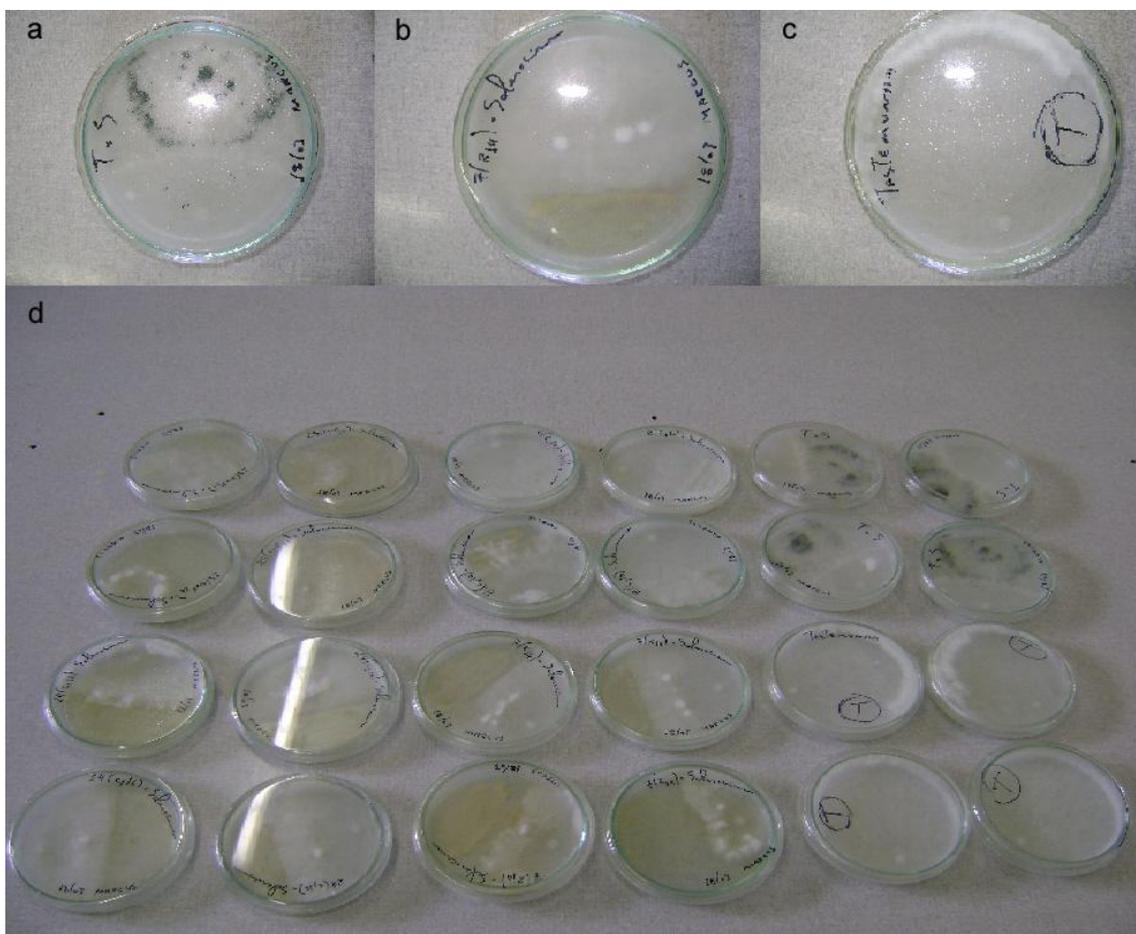


FIGURA 5 – Teste de pareamento: 5a) pareamento *Sclerotium rolfii* Sacc. e *T. harzianum* Rifai; 5b) pareamento *Sclerotium rolfii* e rizobactéria R14; 5c) testemunha; 5d) placas incubadas, no 5º dia.

Apesar de todas as vantagens que o teste ‘in vitro’ possa apresentar, como o fato de serem pouco onerosos e permitirem padronização e realização de forma rápida em pequeno espaço físico, sendo de fácil montagem e interpretação, agentes de controle, assim

selecionados, podem não apresentar bom desempenho em casa de vegetação ou em campo (Mariano, 1993). Além disso, o sucesso do controle 'in vivo' depende de vários mecanismos de ação do antagonista, como a antibiose, competição por nutrientes ou nichos ecológicos, habilidade de colonizar e sobreviver na rizosfera do hospedeiro (Bettiol, 1991).

2.2.3 Hiperparasitismo

O isolado de *T. harzianum* apresentou capacidade hiperparasitaria frente ao isolado de *S. rolfsii*. O antagonista provocou o enrolamento de hifas, penetrando nas células do patógeno e ocasionou a lise de suas hifas, sendo mais freqüente o parasitismo de contato e lise (Figura 6).

Diversos autores observaram esse comportamento de *T. harzianum* frente aos mais variados fungos. Blum & Rodríguez-Kábana (2004) relataram o aumento da colonização dos escleródios por *Trichoderma* sp. após incorporação de matéria orgânica, favorecendo a ação do antagonista. Melo (1996) e Elad et al. (1983) verificaram a capacidade hiperparasitaria de *Trichoderma* frente aos mais variados fungos. Lima et al. (1997) evidenciaram a ação da quitinase nas parede celular de *S. rolfsii* e de *R. solani*. Estudos realizados por Elad et al. (1983) mostraram, através de microscopia de fluorescência, nos pontos de ataque, grampos de conexão e enrolamento de hifas de *T. harzianum* sobre *S. rolfsii*. Resultados semelhantes foram observados neste trabalho.

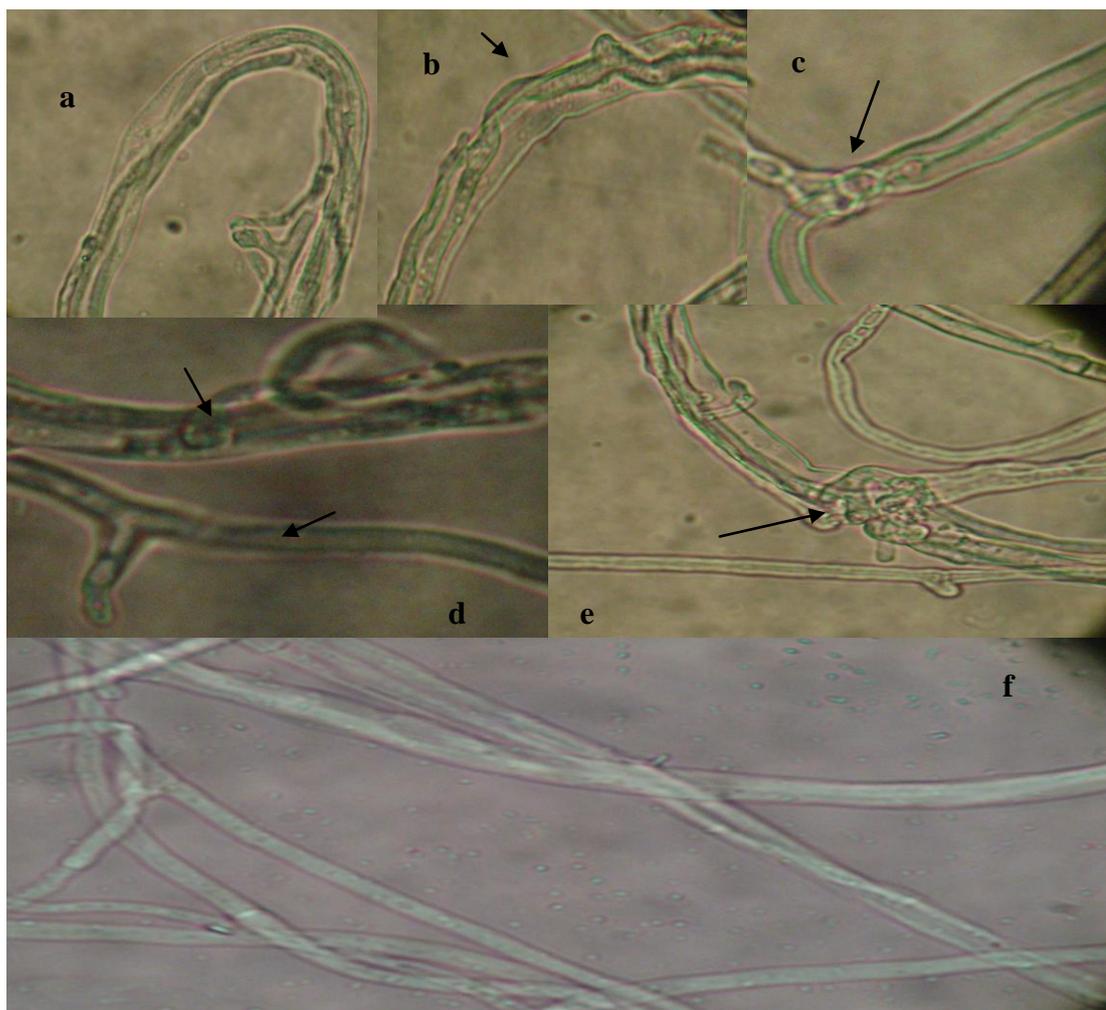


FIGURA 6 – Hiperparasitismo de *Trichoderma* sp., sobre hifas de *Sclerotium rolfsii*: a e b) Enrolamento de hifas de *S. rolfsii* por hifas de *Trichoderma*, c) Penetração e início de crescimento de hifas de *Trichoderma* no interior de hifas de *S. rolfsii*, d) Hifas de *Trichoderma* crescendo no interior de hifas de *S. rolfsii*, e) Estrangulamento de hifas de *S. rolfsii*, f) Hifas saudáveis de *S. rolfsii* (testemunha).

2.3.4 Biofumigação do solo

Dentre os resíduos orgânicos incorporados ao solo e testados quanto à incidência da podridão radicular, causada por *S. rolfsii*, destacaram-se os compostos orgânicos: bagaço de cana (10%), casca de mandioca (20%), fungicida (tiofanato métilico) na concentração (10 e 20%) e resíduos de feijão (10%).

A Figura 7 mostra uma redução da incidência da doença em 35,71% (BC 10%), 21,43% (CM e F20%) e 14,29% (F e RF 10%), respectivamente.

Os tratamentos marisco (10 e 20%), bagaço de cana (20%), resíduos de feijão (20%) e casca de mandioca (10%), assim como na testemunha apresentaram uma incidência alta. Entretanto no tratamento cama de frango (10 e 20%) a incidência foi superior a testemunha.

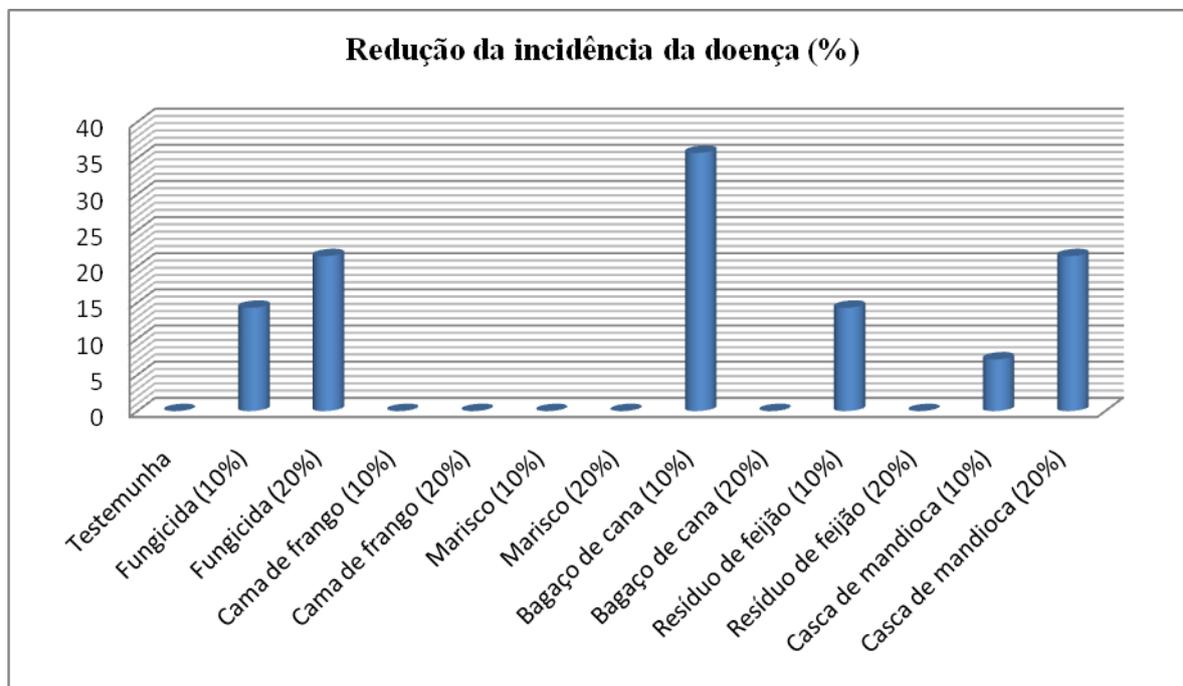


FIGURA 7 – Redução da incidência da podridão radicular (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) em mudas de feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.], após incorporação de resíduos orgânicos.

O uso da cama de frango no controle de doenças do solo vem sendo estudado devido aos efeitos da adição de resíduos ricos em nitrogênio na sobrevivência de patógenos do solo; A liberação de compostos voláteis de nitrogênio durante a decomposição destes resíduos tem ação inibidora sobre diversos patógenos (Gamliel & Stapleton, 1993a, 1993b). Entretanto, para doenças acarretadas por *S. rolfsii* a adição de fonte rica em nitrogênio pode aumentar a severidade em culturas de tomate, beterraba e amendoim (Zambolim et al., 2005).

Os resultados encontrados neste trabalho corroboram com a observação de Zambolim et al. (2005) e discordam dos resultados encontrados por outros autores, tais como, Santos et al. (2009a), que obtiveram o controle da podridão do colo causado por *S. rolfsii* em feijoeiro com a incorporação da cama de frango; Teixeira et al. (2006) que observaram o controle de *Thielaviopsis basicola* (Berk. & Broome) Ferraris, através da incorporação da cama de frango e torta de mamona em cultivo de alface; e Baptista et al. (2006), que verificaram uma redução da incidência da murcha bacteriana em tomateiro, causada por *Ralstonia solanacearum*, ao utilizarem cama de frango.

As diferenças encontradas no presente trabalho possivelmente se devem a origem do composto, maturação do composto, microbiota do substrato, que interferem na produção e liberação de metabólitos voláteis tóxicos ao patógeno e diferenças na interação patógeno hospedeiro. Segundo Huber (1991) e Schoenmaker & Ghini (2001) os resultados dos efeitos de compostos orgânicos variam em função do patossistema, do tipo de composto testado, dos teores de umidade e das proporções de resíduos. Além do estímulo da atividade microbiota do solo (Bettiol & Ghini 2005).

Conforme Blum et al. (2006), vários fitopatógenos, inclusive *S. rolfsii*, sobrevivem e algumas vezes se multiplicam na matéria orgânica, ou ainda produzem estruturas de resistências que os permitem atravessar períodos desfavoráveis no solo ou permanecer por vários anos. Isso acontece devido à matéria orgânica prover uma base alimentar, aumentando a sobrevivência do patógeno (Schoenmaker & Ghini 2001).

As diferenças encontradas entre o substrato bagaço de cana (10 e 20%) pode estar relacionado ao teor de açúcar ou outra substância presente que de alguma forma influenciou no aumento da incidência para o substrato bagaço de cana (20%).

Com relação ao efeito dos substratos sobre o crescimento das plantas de feijão-caupi observa-se que os substratos que receberam casca de mandioca (10%) e resíduo de marisco (20%) apresentaram maior crescimento da parte aérea, 7,83 e 7,70 cm, respectivamente, mas não diferiram da casca de mandioca (20%), resíduo de feijão (10 e 20%), marisco (10%), bagaço de cana (20%) e testemunha (Tabela 1).

Araújo (2007) obteve resultado semelhante, em relação a adubação com resíduos de crustáceos, que proporcionou um maior crescimento da parte aérea de plantas de feijão-caupi, favorecendo uma redução da aplicação de produtos químicos no solo.

Os tratamentos cama de frango (10 e 20%) diferiram de todos os tratamentos com relação ao crescimento da parte aérea. Provavelmente, o ataque do patógeno pode ter influenciado na germinação das sementes assim como, provocou o tombamento das plantas. Resultados semelhantes foram observados por Santos et al. (2009a) que visualizaram estruturas do fungo nos tecidos das sementes que não germinaram e das plântulas que não emergiram do solo e por Teixeira et al. (2006), que verificaram que o comprimento de plantas de alface, quando incorporam a cama de frango, foi menos eficiente, se comparada com a torta de mamona em conjunto com a solarização do solo, no controle da podridão negra das raízes causada por *T. basicola*.

Todos os tratamentos apresentaram crescimentos da raiz principal, mas não diferiram estatisticamente da testemunha, com exceção do tratamento que recebeu cama de frango (10 e

20%), cujo ataque do patógeno foi muito severo, o que provocou a destruição da raiz principal levando a morte das plantas.

Com relação ao peso fresco das plantas de feijão-caupi verificou-se que embora o tratamento com resíduo de marisco (20%) tenha obtido 2,73g, só foram observadas diferenças estatísticas nos tratamentos bagaço de cana (10%), químicos (10 e 20%) e cama de frango (10 e 20%) que apresentaram os menores pesos. Resultados semelhantes foram encontrados por Teixeira et al. (2006) que ao incorporar cama de frango, observaram uma baixa eficiência para o peso fresco de plantas de alface, no controle da podridão negra das raízes.

Para o efeito dos substratos para o peso seco, os tratamentos não diferiram estatisticamente da testemunha, exceto cama de frango (10 e 20%), visto que, as plantas que emergiram sofreram tombamento, demonstrando que esse substrato não foi capaz de controlar a doença.

TABELA 1 – Efeitos da matéria orgânica na altura da parte aérea, comprimento da raiz, peso fresco e peso seco de plantas de feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] na podridão de colo causada por *Sclerotium rolfsii* Sacc.

Tratamento	Altura da Parte Aérea (cm) ¹	Comprimento da Raiz (cm) ^{1,2}	Peso Fresco (g) ¹	Peso Seco (g) ¹
Testenhuma	7,32 ab	2,76 a	2,38 ab	1,23 abc
Fungicida (10%)	5,03 c	2,76 a	1,95 b	1,09 cd
Fungicida (20%)	5,17 c	2,95 a	1,97 b	1,11 cd
Cama de frango (10%)	1,00 d	1,00 b	1,00 c	1,00 d
Cama de frango (20%)	1,00 d	1,00 b	1,00 c	1,00 d
Marisco (10%)	6,04 abc	2,71 a	2,07 ab	1,19 abc
Marisco (20%)	7,70 a	2,62 a	2,73 a	1,35 a
Bagaço de cana (10%)	5,80 bc	3,20 a	1,99 b	1,16 bcd
Bagaço de cana (20%)	6,24 abc	3,40 a	2,24 ab	1,24 abc
Resíduo de feijão (10%)	6,38 abc	2,97 a	2,11 ab	1,21 abc
Resíduo de feijão (20%)	7,04 ab	2,82 a	2,24 ab	1,22 abc
Casca de mandioca (10%)	7,83 a	3,05 a	2,42 ab	1,30 ab
Casca de mandioca (20%)	7,27 ab	2,93 a	2,20 ab	1,22 abc
C.V.	13,07 %	12,60 %	14,08 %	6,02 %

¹ Para comparação das médias os dados foram transformados em raiz quadrada $\sqrt{x + 1}$. ² Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

2.2.5 Uso de antagonistas no controle da doença

A Figura 8 apresenta os resultados da microbiolização de sementes de feijão-caupi com isolados antagonistas. Todos os isolados e o tratamento com fungicida proporcionaram uma redução na incidência da doença em comparação com a testemunha.

Os isolados R14, C110, ENF24, C21 e *T. harzianum* proporcionaram redução da incidência de doença em 34.99%, 30% e 25% para os três últimos isolados, respectivamente, discordando dos resultados observados por Silva Junior (2009), ao microbiolizar sementes de feijão-caupi com alguns desses isolados antagonistas. Este autor verificou uma redução na ordem de 52%, para R14 e 17% para C110, ENF24 e *T. harzianum*.

Por outro lado, existem uma infinidade de trabalhos relacionados com o sucesso do parasitismo de *Trichoderma* sp. sobre muitos patógenos veiculados pelo solo, inclusive *S. rolfsii*. Merece destaque, os resultados encontrados por Lohmann et al. (2007) no controle do damping off, ocasionado por *S. rolfsii*, em soja, onde o uso de três isolados de *Trichoderma* proporcionaram uma redução da incidência da doença em 25, 27,5 e 55%, respectivamente, o que está de acordo com os resultados observados neste trabalho. Homechin (1983) demonstrou, em campo, a viabilidade do tratamento de sementes de soja com *Trichoderma* sp. no controle do tombamento de plantas causado pelos fungos *R. solani*, *S. rolfsii* e *Macrophomina phaseolina* (Tass.) Goid.

As sementes tratadas com os antagonistas tiveram um desempenho semelhante ao fungicida (30%) com relação à redução da incidência da doença. Pinto (2002) ao tratar sementes de sorgo com diferentes doses de fungicidas, entre eles tiofanato metílico, observou um acentuado tombamento das plantas causado por *S. rolfsii*, o que evidencia seu efeito patogênico. Garcia Junior et al. (2008) verificou que o fungicida tiofanato metílico controla *F. graminearum*, reduzindo a sua incidência nas sementes de trigo.

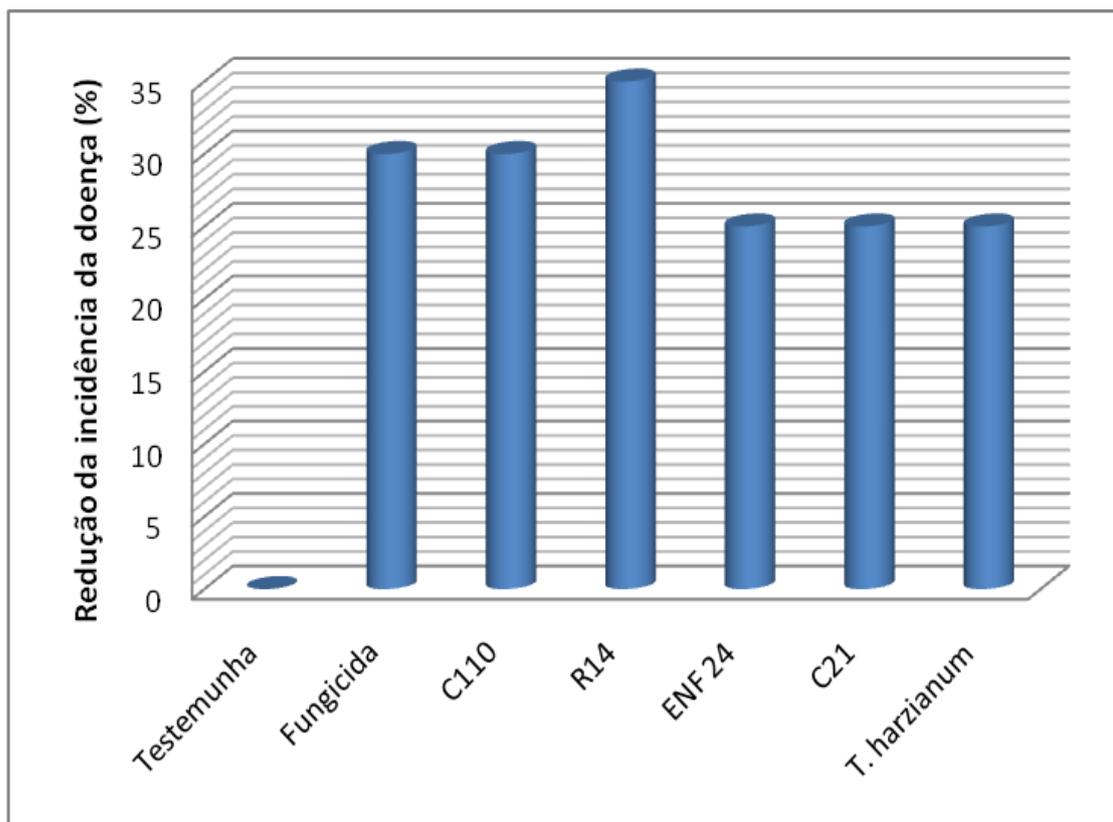


FIGURA 8 – Redução da incidência da podridão radicular (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) em mudas de feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.], após microbiolização das sementes com isolados de rizobactérias e *Trichoderma harzianum* Rifai.

Com relação ao crescimento das plantas de feijão-caupi, nenhum dos tratamentos diferiram da testemunha (5,07 cm), no item altura das plantas (Tabela 2), embora o tratamento com o isolado ENF 24 tenha proporcionado um bom crescimento da planta (10,04 cm). Possivelmente, este isolado possui capacidade de promover o crescimento de planta, como observado por Dallemole-Giaretta et al. (2006) ao microbiolizar sementes de tomateiro com isolados da rizobactéria *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare y W. Gams.

A maioria das sementes microbiolizadas apresentou um comportamento similar ao do fungicida utilizado, no item comprimento da raiz principal, não apresentando diferença significativa da testemunha, exceto o isolado C110 com 4,29cm.

Nenhum tratamento diferiu estatisticamente da testemunha, com exceção do fungo *T. harzianum* que apresentou maior média com 4,40g, em relação ao peso fresco.

Os tratamentos não diferiram estatisticamente da testemunha ao peso seco de plantas de feijão-caupi.

TABELA 2 – Altura da parte aérea, comprimento da raiz, peso fresco e peso seco de plantas de feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] inoculadas com *Sclerotium rolfsii* Sacc. e tratadas com sementes microbiolizadas com rizobacterias e *Trichoderma harzianum* Rifai.

Tratamento	Altura da Parte	Comprimento da	Peso Fresco	Peso Seco
	Aérea (cm) ¹	Raiz (cm) ^{1,2}	(g) ¹	(g) ¹
Testehuma	5,07 a	2,29 b	2,25 b	0,99 a
Fungicida	8,54 a	3,84 ab	3,94 ab	1,36 a
C110	9,26 a	4,29 a	4,28 ab	1,44 a
R14	6,98 a	3,21 ab	2,93 ab	1,01 a
ENF 24	10,04 a	4,19 ab	4,06 ab	1,36 a
C21	7,48 a	2,82 ab	2,85 ab	1,42 a
<i>T. harzianum</i>	9,00 a	4,08 ab	4,40 a	1,34 a
C.V.	31,11%	27,75%	28,82%	22,02 %

¹ Para comparação das médias os dados foram transformados em raiz quadrada $\sqrt{x + 1}$. ² Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

2.2.6 Uso de substâncias naturais no controle da doença

Na Figura 9 pode-se observar os resultados relacionados ao efeito de extratos vegetais, óleos essenciais e Ecolife® sobre a incidência da podridão radicular em feijão-caupi.

Apesar de existirem na literatura trabalhos visando o controle alternativo de doenças em algumas culturas, o uso de extratos vegetais, óleos essenciais e Ecolife® no controle “in vivo” de *S. rolfsii*, na cultura do feijão-caupi foi um estudo pioneiro no que se refere à forma alternativa de controle de doenças, e mostrou que alguns produtos empregados reduziram a incidência da doença, embora os tratamentos não tenham diferiram significativamente da testemunha. O tratamento com Ecolife® foi o que apresentou menor incidência (54,17%), seguidos do óleo essencial hortelã pimenta e de manipueira (58,33%). Os tratamentos com óleo de eucalipto e com fungicida (tiofanato metílico) não foram capazes de reduzir a incidência da doença, pelo contrário, apresentaram resultados inferiores à testemunha, ou seja, com uma incidência da doença superior à esta (66,67%), não podendo, portanto serem recomendados para o controle da podridão radicular em feijão-caupi.

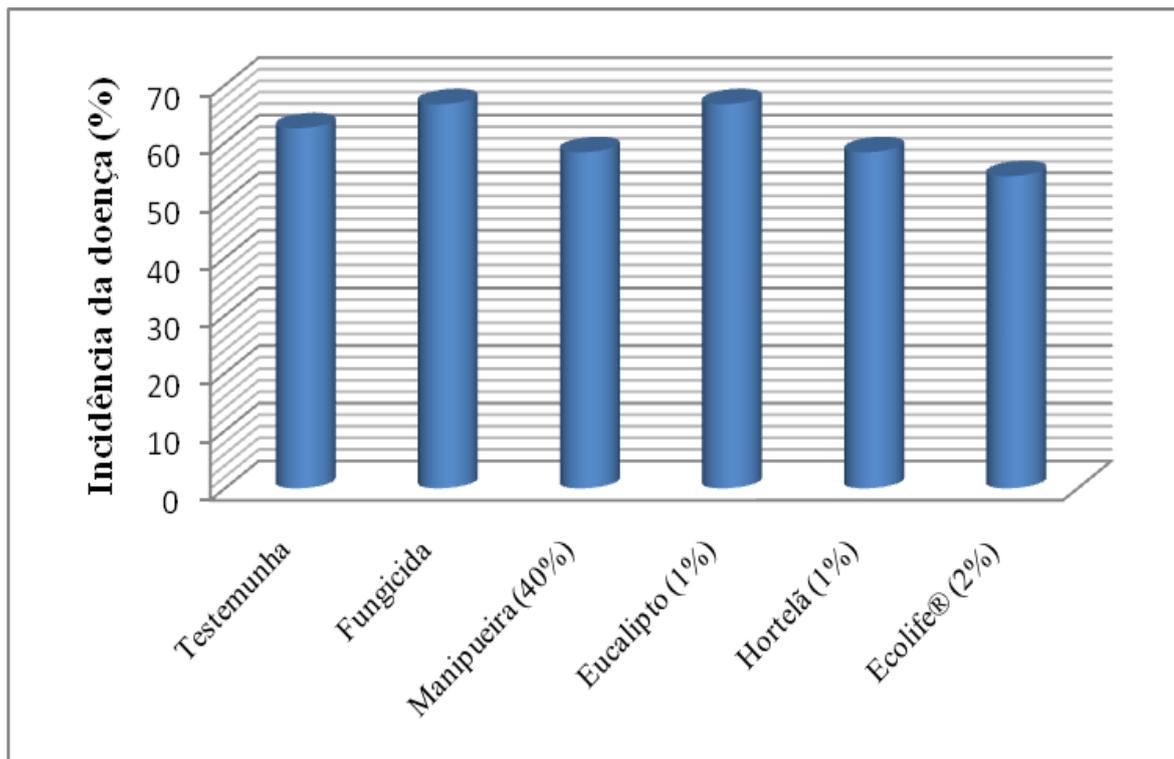


FIGURA 9 – Incidência da podridão radicular (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) em mudas de feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.], após aplicação de substâncias naturais.

De uma forma geral, os resultados encontrados neste trabalho sugerem que os extratos vegetais e os óleos essenciais testados não foram capazes de induzir resistência sistêmica a podridão radicular em plantas de feijão-caupi, possivelmente o método de aplicação pode se mostrar favorável a indução de resistência.

São escassas as pesquisas realizadas em casa de vegetação com óleo essencial e extrato vegetal para controle de doenças fúngicas. A maioria das pesquisas são realizadas *in vitro* ou estão relacionadas a patógenos da parte aérea da planta e concordam parcialmente com os resultados observados neste trabalho: Silva (2007) utilizando óleo de eucalipto a 1,25% e ecolife® a 0,75% obteve a redução da intensidade do mal do Panamá (*Fusarium oxysporum* f. *p.cubense*) em 25% e 91,67%, respectivamente, comprovando ação antifúngica desses compostos. Peixinho (2009) afirmou que o controle da antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) em bastão do imperador pode ser obtido como uso do óleo de eucalipto citriodora, na concentração de 1,25% e que esse óleo atuou como indutor de resistência sistêmica adquirida em inflorescências de bastão do imperador. Furtado (2006) observou um controle significativo de *Fusarium semitectum*, *C. gloeosporioides*, *Curvularia lunata* e *C. eragrostidis* na cultura do *Tapeinochilus ananassae*, utilizando ecolife® e eucalipto a 1%.

Santos et al. (2007), estudando o efeito de extratos vegetais no progresso das doenças foliares do cafeeiro orgânico, verificaram que o Ecolife® teve um desempenho intermediário aos melhores tratamentos e às testemunhas, semelhantemente ao encontrado por Nascimento et al. (2008) no controle da *C. gloeosporioides* em mudas de mamoeiro. Soares (2007) obteve o controle da podridão de frutos do mamão (*Phytophthora palmivora*) com o óleo de eucalipto, na concentração de 0,5% e o produto ecolife®, na concentração de 1,5%, uma vez que os frutos não apresentaram incidência da doença.

Os resultados relacionados ao uso do ecolife® podem ser justificados pela composição química deste produto, que segundo seu fabricante, possui em sua constituição bioflavonóides cítricos, ácido ascórbico e fitoalexinas cítricas capazes de exercer efeito protetor e/ou curativo em alguns patossistemas, auxiliando no equilíbrio da flora microbiana vegetal.

Diversos autores já utilizaram a manipueira para controlar populações de insetos e nematóides em diversos cultivos. Entretanto, para o controle de doenças fúngicas são raros os trabalhos encontrados. Silva et al. (2009) observaram que a manipueira autoclavada não inibe o crescimento micelial de *C. gloeosporioides* em maracujá. Freire (2001) controlou o oídio da ceriguela com o uso de manipueira. Discordando deste trabalho.

A aplicação do fungicida sobre a podridão radicular do feijão-caupi não foi eficiente, sendo semelhante ao óleo de eucalipto e a testemunha. Estes resultados concordam parcialmente com os obtidos por Santos et al. (2005) ao aplicar o fungicida tiofanato metílico para controlar o crestamento gomoso do caule [*Didymella bryoniae* (Auersw) Rehm] em cultivos de melancia. Estes autores verificaram ainda, que ao aplicarem uma mistura do tiofanato metílico com clorotalonil não houve controle em comparação com a testemunha. Entretanto, Bizi (2006) verificou que este fungicida controlou o mofo-cinza em mudas de eucalipto.

Stangarlin et al. (1999) relatam que, trabalhos desenvolvidos com extrato bruto ou óleo essencial, obtidos a partir de plantas medicinais da flora nativa, têm indicado o potencial das mesmas no controle de fitopatógenos, tanto por sua ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, quando pela indução de fitoalexinas, indicando a presença de composto(s) com características de elicitador(es), que são moléculas ou agentes de origem biótica ou abiótica, capazes de ativar ou induzir qualquer resposta de defesa nas plantas.

Com relação ao desenvolvimento das plantas de feijão-caupi (Tabela 3), verificou-se que, os óleos essenciais, hortelã e eucalipto (1%) apresentaram as maiores médias na altura de

plantas de feijão-caupi (9,63 e 9,60 cm), respectivamente, seguidos do fungicida (9,36 cm) diferindo estatisticamente da testemunha.

Para o crescimento da raiz principal, todos os tratamentos diferiram significativamente da testemunha, exceto o óleo de eucalipto (1%) com 3,60 cm. O maior crescimento da raiz principal foi obtido com óleo de hortelã (4,20 cm).

Quanto ao peso fresco das plantas, o fungicida proporcionou 3,99g, sendo o único a diferir estatisticamente da testemunha (1,81g). O extrato vegetal manipueira (40%) e o óleo eucalipto (1%) proporcionam um peso 3,12 e 3,11g, respectivamente.

Com relação à massa seca, apenas o fungicida com 1,62g diferiu estatisticamente da testemunha (1,14g), mas apresentaram semelhança aos demais tratamentos. O extrato vegetal manipueira (40%) e o óleo essencial eucalipto (1%) obtiveram 1,44 e 1,42g, respectivamente.

TABELA 3 – Altura da parte aérea, comprimento da raiz, peso fresco e peso seco de plantas de feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] inoculadas com *Sclerotium rolfsii* Sacc., após aplicação de substâncias naturais.

Tratamento	Altura da Parte Aérea (cm) ¹	Comprimento da Raiz (cm) ^{1,2}	Peso Fresco (g) ¹	Peso Seco (g) ¹
Testenhuma	5.56 b	2.14 b	1.81 b	1.14 b
Fungicida	9.36 a	4.10 a	3.99 a	1.62 a
Manipueira (40%)	8.89 ab	3.86 a	3.12 ab	1.44 ab
Eucalipto (1%)	9.60 a	3.60 ab	3,11 ab	1,42 ab
Hortelã (1%)	9.63 a	4.20 a	2.86 ab	1.35 ab
Ecolife® (2%)	8.73 ab	3.82 a	2.73 ab	1.31 ab
C.V.	21,81%	21,27%	23,14%	13,10%

¹ Para comparação das médias os dados foram transformados em raiz quadrada $\sqrt{x + 1}$. ² Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

2.2.7 Uso de adubação mineral no controle da doença

A adubação mineral através da solução de Sarruge e do silicato como fonte de silício nas plantas de feijão-caupi apresentou reação distinta em relação à incidência da podridão do colo, demonstrando diferenças entre os tratamentos (Figura 10). O silicato de sódio (1000mg/L⁻¹) teve uma incidência de 43,83%, seguidos do silicato de sódio (500mg/L⁻¹) e do

silicato de cálcio (1000mg/L^{-1}) com 62,50% em comparação com a testemunha (87,50%). As plantas de feijão-caupi adubadas apenas com a solução de Sarruge teve uma incidência superior à testemunha.

Vários autores já relataram a importância da nutrição mineral como complemento ou método alternativo no controle de doenças, visto que a intensidade da doença pode agravar-se em decorrência da adubação insuficiente e desequilibrada (Santos Botelho et al., 2005). Segundo Sobral et al. (2007) ao estudarem o efeito da solução nutritiva no controle da podridão negra das raízes da mandioca, verificaram que o uso de solução de Sarruge não influenciou a incidência da doença em comparação com a testemunha. Resultados semelhantes foram encontrados no presente trabalho.

No entanto, Soraes (2007) ao estudar o efeito da solução nutritiva no controle da podridão do pé do mamoeiro, observou que a aplicação de diferentes doses de solução de Sarruge teve eficácia na incidência da doença. Da mesma forma, Cañizares et al. (2002) ao estudaram o efeito da adição de solução nutritiva na produção de mudas de pepino, observaram que a solução influencia na taxa de sobrevivência das mudas.

De acordo com Paula Júnior et al. (2009) a incidência e a severidade do mofo-branco foi reduzida com aplicação de cloreto de cálcio e silicato de cálcio em feijoeiro. Porém, Silva et al. (2008) não observaram redução da pinta-preta em mudas de mamoeiro com diferentes concentrações de silicato de cálcio quando comparado a testemunha. A aplicação de silicato de cálcio reduziu a antracnose do feijoeiro (Moraes et al. 2009), o que condiz com o presente trabalho.

Dados semelhantes foram encontrados por Santos Botelho et al. (2005) cuja incidência da cercosporiose em mudas de cafeeiro foi reduzida com a aplicação de silicato de sódio e de cálcio. Porém, Fiori (2006) verificou que a aplicação da escória agrícola, rica em silicato de cálcio, aumentou da incidência de frutos com podridão apical em tomateiro.

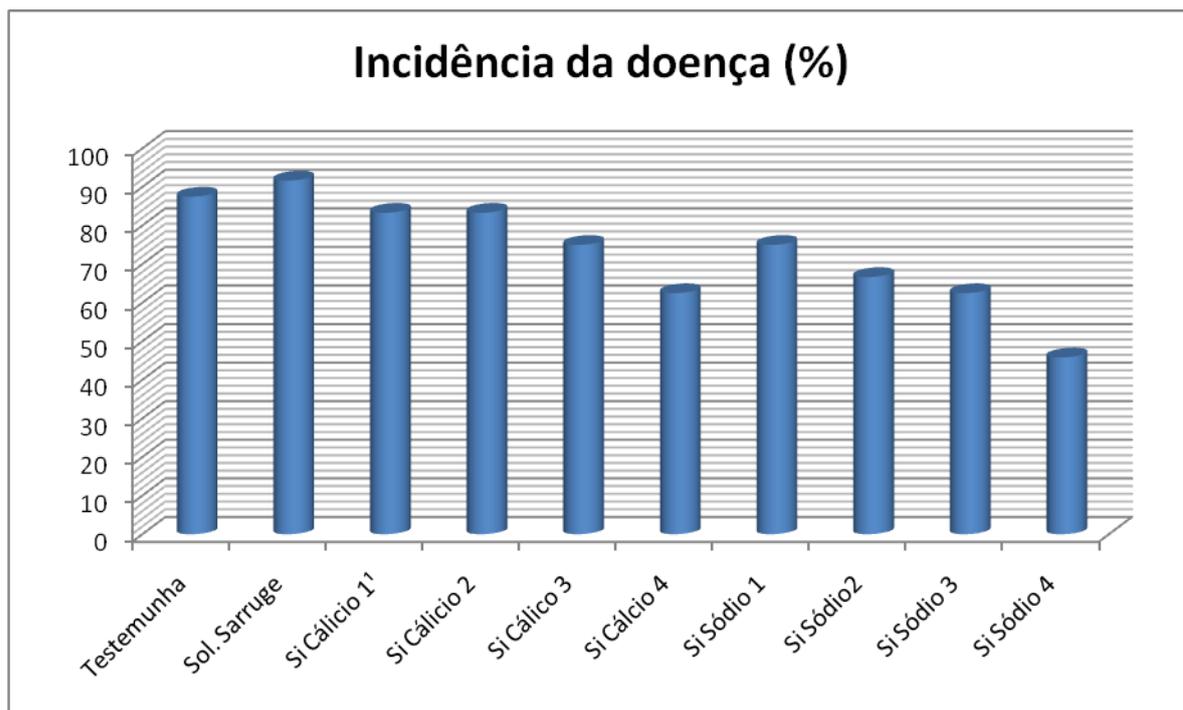


FIGURA 10 – Incidência da podridão radicular (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) em mudas de feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.], após incorporação de solução nutritiva. ¹Concentrações utilizadas para cada tratamento 1 (50mg/L⁻¹), 2 (100mg/L⁻¹), 3 (500mg/L⁻¹) e 4 (1000mg/L⁻¹).

Analisando-se os dados de crescimento das plantas de feijão-caupi tratadas com solução nutritiva verifica-se que todos os tratamentos não diferiram significativamente da testemunha (8,96 cm) na altura das plantas (Tabela 4). Os tratamentos com o silicato de cálcio (50mg/L⁻¹) e de sódio (1000mg/L⁻¹) obtiveram as maiores valores com 9,93 e 9,86 cm, respectivamente. Resultados semelhantes foram encontrados por Marchezan et al. (2004) cujas aplicações de silicato de cálcio em mudas de arroz não diferiram dos demais tratamentos. Assis et al. (2000) trabalhando com limitações nutricionais em arroz em solos orgânicos sob inundação também não verificaram diferenças no crescimento das plantas de arroz irrigado quando acrescentaram silício à adubação.

Medeiros et al. (2006) também não obtiveram diferenças significativas da altura de plantas de tomateiro no controle da murcha de *Verticillium* sp. com aplicação de silicato de sódio em comparação a testemunha.

A aplicação da solução de Sarruge também não teve influência no crescimento das plantas. No entanto, estudos realizados por Sobral et al. (2007) no controle da podridão negra das raízes da mandioca, mostraram que a adição de solução de Sarruge teve efeito positivo na altura das plantas.

TABELA 4 – Altura da parte aérea, comprimento da raiz, peso fresco e peso seco de plantas de feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] inoculadas com *Sclerotium rolfsii* Sacc., após incorporação de solução nutritiva.

Tratamento	Altura da Parte Aérea (cm) ^{1,2}	Comprimento da Raiz (cm) ^{1,2}	Peso Fresco (g) ^{1,2}	Peso Seco (g) ^{1,2}
Testemunha	8,96 a	3,75 a	3,60 ab	1,51 ab
Solução de Sarruge	9,17 a	3,60 a	3,74 ab	1,55 ab
Silicato de Cálcio ³ 1	9,93 a	3,86 a	4,12 a	1,68 a
Silicato de Cálcio 2	9,16 a	4,00 a	3,80 ab	1,55 ab
Silicato de Cálcio 3	8,96 a	3,37 a	3,53 ab	1,48 ab
Silicato de Cálcio 4	8,13 a	2,97 a	3,00 ab	1,36 ab
Silicato de Sódio 1	9,02 a	4,13 a	4,06 a	1,62 ab
Silicato de Sódio 2	7,89 a	3,48 a	3,21 ab	1,38 ab
Silicato de Sódio 3	8,80 a	3,17 a	2,71 b	1,29 b
Silicato de Sódio 4	9,86 a	4,21 a	3,70 ab	1,52 ab
C.V.	11,68%	17,12%	17,74%	10,97%

¹ Para comparação das médias os dados foram transformados em raiz quadrada $\sqrt{x + 1}$. ² Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. ³Concentrações utilizadas para cada tratamento 1(50mg/L⁻¹), 2 (100mg/L⁻¹), 3 (500mg/L⁻¹) e 4 (1000mg/L⁻¹).

Com relação ao crescimento da raiz principal, nenhum tratamento diferiu da testemunha (3,75 cm), tendo as maiores médias os tratamentos com silicato de sódio (1000mg/L⁻¹) e (50mg/L⁻¹) com 4,21 e 4,13 cm, respectivamente.

O silicato de cálcio e o silicato de sódio (50mg/L⁻¹) proporcionaram 4,12 e 4,06g de peso fresco, respectivamente, diferindo do silicato de sódio (500mg/L⁻¹) com 2,71g, que foi semelhantes aos demais tratamentos, inclusive da testemunha.

Com relação ao peso seco, o tratamento silicato de cálcio (50mg/L⁻¹) apresentou maior média com 1,68g, diferindo apenas do silicato de sódio (500mg/L⁻¹). Os demais tratamentos não apresentaram diferenças significativas entre si. Discordando de Franco & Prado (2006) que observaram semelhança no acúmulo de matéria seca total em mudas de goiabeira, empregando diferentes soluções nutritivas.

2.3 Conclusão

- 1) Os isolados de rizobactérias R14, C21, ENF 24 e o isolado de *Trichoderma harzianum* Rifai apresentaram antagonismo *in vitro* sobre o fungo *Sclerotium rolfsii* Sacc.;
- 2) *Trichoderma* foi capaz de hiperparasitar as hifas do patógeno e competir por espaço e nutriente, enquanto as bactérias atuaram através da produção de antibióticos;
- 3) A incorporação de matéria orgânica no solo não foi eficiente no controle da podridão radicular em plantas de *Vigna unguiculata* (L.) Walp.;
- 4) A microbiolização de sementes com agentes antagonistas possibilitou a redução da incidência da doença, mas não apresentou diferença em relação ao desenvolvimento vegetativo;
- 5) O uso de extratos e óleos vegetais não foi capaz de controlar a podridão de colo, sendo o fungicida, tiofanato metílico, influente no crescimento vegetativo;
- 6) O silicato de sódio (500 e 1000mg/L⁻¹) e silicato de cálcio (1000mg/L⁻¹) foram capazes de reduzir a incidência da doença, sem influenciar no seu crescimento.

2.4 Considerações Finais

A busca por um ambiente livre de agrotóxicos tem levado muitos pesquisadores a procurar novas fontes alternativas para o controle de doenças de plantas.

A incorporação de matéria orgânica no controle de doenças veiculadas por patógenos de solo vem sendo muito estudada. Diversas matérias orgânicas dependendo do patossistema podem aumentar na incidência e/ou na severidade da doença. Fato que provavelmente pode ter acontecido com o trabalho em questão. Desta forma, espera-se que a associação com outros métodos de controle possam vir a ter resultados mais promissores, como é o caso da associação da solarização com a incorporação de matéria orgânica.

Na maioria das variáveis estudadas, os substratos com marisco (20%) e cascas de mandioca (10%), mesmo não diferindo da testemunha, se destacaram. Dessa forma, pode-se testar a incorporação dessas matérias orgânicas juntamente com a solarização do solo para obtenção de melhores resultados no controle da podridão radicular.

Microrganismos com ação antagônica têm grande potencial no controle de fitopatógenos. A atuação dos isolados de rizobactérias, com destaque para o isolado R14 que em ambos os controles, demonstraram grande capacidade para reduzir o desenvolvimento de *Sclerotium rolfsii*. Contudo, estudos posteriores devem ser desenvolvidos para melhor esclarecimento contra esse patógeno.

Da mesma forma, o uso de extratos e óleos vegetais vem sendo demonstrado por vários pesquisadores uma eficiência 'in vitro', mas para o controle 'in vivo' existe uma grande carência. Diante disso, novos estudos devem ser realizados para esse patossistema, a fim de obter um extrato e/ou óleo essencial adequado para o controle 'in vivo'.

As informações sobre a interação patógeno e nutrição do hospedeiro e sua relação causal com o nível de dano observado, bem como a influência do uso de solução nutritiva na redução de índice de doença, ainda são incipientes e carecem de maiores estudos.

Referências

Agrios GN (2005) Plant pathology. 5ª. Ed. Elsevier Academic Press. pp.393-396; 599-600.

Amaral MFZJ, Bara MTF (2005) Avaliação da atividade antifúngica de extratos de plantas sobre o crescimento de fitopatógenos. Revista Eletrônica de Farmácia. 2:5-8.

Andrade Júnior AS (2000) Viabilidade da irrigação, sob risco climático e econômico, nas microrregiões de Teresina e Litoral Piauiense. Piracicaba. Tese de Doutorado. Piracicaba SP. ESALQ. Universidade de São Paulo.

Andrade Júnior AS, Santos AA, Athayde Sobrinhos C, Bastos EA, Melo FB, Viana FMP, Freire Filho FR, Carneiro JS, Rocha MM, Cardoso MJ, Silva PHS, Ribeiro VQ (2003) Cultivo de Feijão-Caupi. Embrapa Meio-Norte. <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/FeijaoCaupi/autores.htm>

Andrade FWR (2008) Doenças da bananeira (*Musa* sp.) no Estado de Alagoas e controle alternativo do moko (*Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al.). Dissertação de Mestrado. Rio Largo AL. Universidade Federal de Alagoas.

Anuário estatístico da agricultura brasileira (1998) Agriannual 98. FNP Consultoria & Comércio. pp. 247-253.

Araújo FJF (2007) Aproveitamento de resíduos de caranguejo uçá gerados pelas barracas da paraia do futuro como fonte alternativa de adubo orgânico na cultura de feijão caupi. Dissertação de Mestrado. Fortaleza CE. Universidade Federal do Ceará.

Araújo FMMC (1997) Características bioquímicas de sementes de cultivar de caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). Dissertação de Mestrado. Fortaleza CE. Universidade Federal do Ceará.

Assis MP, Carvalho JG, Curi N, Bertoni JC, Andrade WEB. (2000) Limitações nutricionais para a cultura do arroz em solos orgânicos sob inundação. I. Crescimento. Ciência Agrotécnica. Lavras. 24: 87-95.

Athayde Sobrinho C, Viana FMP, Santos AA (2000) Doenças do feijão caupi. In: Cardoso MJ (Org.) A Cultura do Feijão Caupi no Meio-Norte do Brasil. Embrapa Meio-Norte. Circular Técnica 28. pp. 264.

Athayde Sobrinho C, Viana FMP, Santos AA (2005) Doenças fúngicas e bacterianas. In: Freire Filho FR, Lima JAA, Ribeiro VQ (Eds.). Feijão-caupi: avanços tecnológicos. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. pp.463-486.

Baptista MJ, Souza RB, Pereira W, Lopes CA, Carrijo OA (2006) Efeito da solarização e biofumigação na incidência da murcha bacteriana em tomateiro no campo. Horticultura Brasileira 24: 161-165.

Bendendo IP (1995) Damping off. In: Bergamin Filho AB, Kimati H, Amorin L (Eds.). Manual de Fitopatologia. São Paulo SP. Agronômica Ceres, 3º ed. pp.820-828.

Bell OK, Wells HD, Markham CR (1982) *In Vitro* antagonist of *Trichoderma* species against sex fungal plant pathogens. Phytopathology. 72: 379-82.

Bettiol W (1991) Componente do controle biológico de doenças de plantas. In: Bettiol, W. (ed.). Controle biológico de doenças de plantas. Jaguariúna. CNPDA/EMBRAPA. pp.1-5.

Bettiol W, Ghini R (2005) Solos supressivos. In: Michereff SJ, Andrade DEGT, Menezes M (Eds.) Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais. Recife. UFRPE. pp. 125-152.

Bevitori R, Neves BP, Rios GP, Oliveira IP, Guazzelli RJ (1992) A cultura do caupi. Informe Agropecuário, Belo Horizonte. 16: 12-20.

Bezerra FML, Saunders LCU (1992) Irrigação de dois cultivares de feijão-de-corda (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) em três épocas de plantio sob níveis de irrigação no Vale do Curu. Ciências Agrônômica. 23: 39-44.

Bezerra AAC (1997) Variabilidade e diversidade genética em caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) precoce, de crescimento determinado e porte ereto e semi-ereto. Dissertação de Mestrado. Recife PE. Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Bizi RM (2006) Alternativas de controle do mofo-cinza e do oídio em mudas de eucalipto. Dissertação de Mestrado. Curitiba PR. Universidade Federal do Paraná.

Blum LEB, Rodríguez-Kábana R (2004) Effect of soil organic amendments on sclerotial germination, mycelial growth, and *Sclerotium rolfsii* – induced diseases. Fitopatologia Brasileira 29: 66-74.

Blum LEB, Carvalho RCP, Inácio CA (2006) Patógenos de solo: uma introdução. In: Bulm LEB (Ed.) Fitopatologia: o estudo das doenças de plantas. Otimismo. pp. 226-233.

Broadbent P, Baker KF, Waterworth Y (1971) Bacteria and actinomycetes to fungal root pathogens in Australian soils. Aust. J. Biol. Sci. 24: 925-944.

Cardoso JE (1994) Podridão de colo. In: Sartorato A, Rava CA (Eds.). Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle. EMBRAPA. Brasília. pp. 165-174.

Cañizares KA, Costa PC, Goto R, Vieira ARM (2002) Desenvolvimento de mudas de pepino em diferentes substratos com e sem uso de solução nutritiva. Horticultura Brasileira. 20: 227-229.

Chaves KC, Costa JLS (1999) Influência do método de inoculação e da quantidade de inóculo de *Sclerotium rolfsii* na severidade de podridão do colo do feijoeiro. Summa Phytopathologica. 25: 298-302.

Cereda MP (2001) Manejo, uso e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca. Série culturas de tuberosas amiláceas latinoamericanas. São Paulo. Fundação Cargill. pp 340.

Dallemole-Giaretta R, Zooca RJF, Freitas LG, Neves WS, Ferraz S, Fabry CFS (2006) *Pochonia chlamydosporia* como promotor de crescimento de plântulas de tomateiro. In: Fitopatol. bras. 31(Suplemento): 188. (Resumo).

Elad Y, Chet I, Boyle P, Hennis Y (1983) Parasitism of *Trichoderma* spp. on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* on electron microscopy and fluorescence microscopy. Phytopathology. St Paul. 73: 85.

Fall L, Diouf D, Fall-Ndiaye MA, Badiane FA, Gueye M (2003) Genetic diversity in cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] varieties determined by ARA and RAPD techniques. African Journal of Biotechnology. 2: 48-50.

Fichtner EJ (2010) *Sclerotium rolfsii* Sacc.: 'Kudzu of the Fungal World'. NC State University. <http://www.cals.ncsu.edu/course/pp728/Sclerotium/Srolfsii.html>

Fiori MP (2006) Comportamento de cultivares de tomateiro quanto à utilização de escórias siderúrgicas em ambiente protegido. Dissertação de Mestrado. Marília SP Universidade de Marília.

Franco CF, Prado RM (2006) Uso de soluções nutritivas no desenvolvimento e no estado nutricional de mudas de goiabeira: macronutrientes. Acta Scientiarum. 28: 199-205.

Freire FCO (2001) Uso da manipueira no controle do oídio da cerigueleira: resultados preliminares. Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico. Fortaleza70: 1-3. Disponível em: www.ceinfo.cnpat.embrapa.br/arquivos/artigo_2594.pdf.

Freire Filho FR, Lima JAA, Ribeiro VQ (2005) Feijão-Caupi. Avanços Tecnológicos. Embrapa Informação Tecnológica. pp. 519.

Freire Filho FR, Rocha MM, Ribeiro VQ, Ramos SRR, Machado CF (2007) Novo gene produzindo cotilédone verde em feijão-caupi. Rev. Ciên. Agron. 38: 286-290.

Freitas SS, Aguilar Vildoso CI (2004) Rizobactérias e promoção do crescimento de plantas cítricas. R. Bras. Ci. Solo. 28:987-994.

Frota KMG (2007) Efeito do feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) e da proteína isolada no metabolismo lipídico em hamsters hipercolesterolemizados. Dissertação de Mestrado. São Paulo SP. Universidade de São Paulo.

Furtado, DCM (2006) Efeito de óleos essenciais e extratos vegetais no controle de *Fusarium semitectum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Curvularia lunata* e *Curvularia eragrostidis* em *Tapeinochilus Ananassae*. Dissertação de Mestrado. Rio Largo AL. Universidade Federal de Alagoas.

Garcia Júnior D, Vechiato MH, Menten JOM (2008) Efeito de fungicidas no controle de *Fusarium graminearum*, germinação, emergência e altura de plântulas em sementes de trigo. Summa phytopathol. 34: 280-283.

Gamliel A, Stapleton JJ (1993a) Effect of chicken compost or ammonium phosphate and solarization on pathogen control, rhizosphere microorganisms, and lettuce growth. Plant Disease 77: 886-891.

Gamliel A, Stapleton JJ (1993b) Characterization of antifungal volatile compounds evolved from solarized soil amended with cabbage residues. Phytopathology 83: 899-905.

Gamliel A, Austerweil M, Kritzman G (2000). Non-chemical approach to soilborne pest management- organic amendments. Crop Protection. 19: 847-853.

Ghini R (1991) Integração do controle biológico com outros métodos de controle de doenças de plantas In: Bettiol, W. (ed.). Controle biológico de doenças de plantas. Jaguariúna. CNPDA/Embrapa. pp 201-217.

Ghini R, Bettiol W (2005) Controle físico de doenças radiculares. In: Michereff SJ, Andrade DEGT, Menezes M (Eds.) Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais. UFRPE. pp. 323-344.

Gomes Filho RR, Tahin JF (2002) Respostas fisiológicas de cultivares de caupi (*Vigna unguiculata* L.) eretos e decumbentes a diferentes níveis de irrigação. Engenharia na agricultura 10: 56-60.

Harman GE, Howell CR, Viterbo A, Chet I, Lorito M (2004) *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature Reviews Microbiology. 2: 43-56.

Homechin M (1983) Tratamento de semente com *Trichoderma* sp. para controle do tombamento de soja. Fitopatologia Brasileira. 8: 554.

Huber DM (1991) The use of fertilizants end organic amendmets in the control of plant disease. In: Pimentel D, Hanson AA (eds.) Handbook of pest management in agriculture. Boca Haton Florida. Vol. 1 2^a ed. pp. 405-494.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) (2006) Censo agropecuário. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/servidor_arquivos_est

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) (2010) Estatística de produção agrícola. pp. 40. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/default.shtm>

Izidine S (1995) Estudo da germinação e emergência da plântulas de diferentes variedades de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. em laboratório e campo. Dissertação de Mestrado. Maputo Moçambique. Universidade Eduardo Mondlane.

Leite LFC, Araújo ASF, Costa CN, Ribeiro AMB (2009) Nodulação e produtividade de grãos do feijão-caupi em resposta ao molibdênio. Rev. Ciênc. Agron. Fortaleza. 40: 492-497.

Lima GA (1980) Cultura do feijão-de-corda. Fortaleza: Imprensa Oficial do Ceará. pp 199.

Lima LHC, Ulhoa CJ, Fernandes AP, Felix CR (1997) Purification of a chitinase from *Trichoderma* sp. And its action on *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani* cell walls. J. Gen. Appl. Microbiol. 43: 31-37.

Lopes RB (2009) A indústria no controle biológico: produção e comercialização de microrganismos no Brasil In: Bettioli W, Morandi MAB (Eds.) Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas. Embrapa Meio Ambiente. pp 15-28.

Lohmann TR, Pazuch D, Stangarlin JR, Selzlein C, Nacke, H (2007) Seleção de isolados de *Trichoderma* spp. para controle de *Sclerotium rolfsii* em soja. Rev. Bras. de Agroecologia. 2:1665-1668.

Marchezan EM, Villa SCC, Marzari V, Korndörfer GH, Santos FM (2004) Aplicação de silício em arroz irrigado: efeito nos componentes da produção. Biosci. J. 20: 125-131.

Mariano RLR (1993) Métodos de seleção in vitro para o controle microbiológico de patógenos de plantas. Revisão Anual de Patologia de Plantas. 1: 369-409.

Mariano RLR, Silveira EB, Assis SMP, Gomes AMA, Nascimento ARP, Donato RMTS (2004) Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica. Recife. 1:89-111.

Mariano RLR, Silveira EB, Gomes AMA (2005) Controle biológico de doenças radiculares. In: Michereff SJ, Andrade DEGT, Menezes M (Eds.) Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais. UFRPE. pp.303-322.

Mariano RLR, Silveira EB (Coords.). (2005) Manual de práticas em Fitobacteriologia. 2.ed. Recife. UFRPE.

Mathur SB, Sarbhoy AK (1976) Physiological studies on *Sclerotium rolfsii* causing root rot of sugarbeet. Indian Phytopathol. 29: 454-455.

Medeiros FCL, Resende MLV, Vilas-Bôas CH, Pádua MA, Saar BR (2006) Avaliação de fontes de silício no controle da murcha de *Verticillium* em tomateiro. Fitopatol. bras. 31(Suplemento): 341-342. (Resumo).

Melo FB, Beltrão NEM, Silva PHS (2003) Cultivo da mamona (*Ricinus communis* L.) consorciada com feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.) no Semi-Árido. Teresina: Embrapa Meio-Norte. pp 89.

Melo FMP (2005) Atividade antifúngica de metabólitos secundários produzidos pelos endófitos de mandioca *Bacillus pumilus* MAIIM4a. Dissertação de Mestrado. Piracicaba SP. ESALQ. Universidade de São Paulo.

Mello SCM, Ávila ZR, Braúna LM, Pádua RR, Gomes D (2007) Cepas de *Trichoderma* spp. para el control biológico de *Sclerotium rolfsii* Sacc. Fitosanidad 11:3-9.

Melo IS (1998) Agentes microbianos no controle de fungos fitopatogênicos. In: Melo IS, Azevedo JL (Eds.) Controle biológico. Vol.1. Jaguariúna SP. EMBRAPA. pp.17-67.

Melo IS (1996) *Trichoderma* e *Gliocadium* como bioprotetores de plantas. Revisão Anual de Patologia de Plantas. 4: 261-296.

Melo IS (1991) Potencialidades da utilização de *Trichoderma* spp. no controle biológico de doenças de plantas. In: Bettiol, W. (ed.). Controle biológico de doenças de plantas. Jaguariúna. CNPDA/EMBRAPA. pp.135-156.

Michereff SJ, Andrade DEGT, Peruch LAM, Menezes M (2005) Importância dos patógenos e das doenças radiculares em solos tropicais. In: Michereff S J, Andrade DEGT, Menezes M (Eds.). Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais. Recife. UFRPE Imprensa Universitária. pp 1-18.

Moraes LAS, Carmo MGF, Viegas EC, Ferreira JL (2001) Tinturas caseiras de erva cidreira (*Lippia alba*), cavalinha (*Esquisetum* spp) e elixir paregorico (*Ocimum selloi*) no controle in vitro de *Xanthomonas campestris* pv. *Phaseoli* var. *fuscans*. In: Jornada paulista de plantas medicinais: Natureza, ciência e comunidade. Botucatu:UNESP 5: 51. (Anais).

Moraes SRG, Pozza EA, Pozza AAA, Carvalho JG, Souza PE (2009) Nutrição do feijoeiro e intensidade da antracnose em função da aplicação de silício e cobre. Acta Scientiarum. Agronomy. 31: 283-291.

Moraes JGL (2007) Comportamento de genótipos de feijão-de-corda sob infestação de pragas. Dissertação de Mestrado. Fortaleza CE. Universidade Federal do Ceará.

Morandi MAB, Bettiol W (2009) Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. In: Bettiol W, Morandi MAB. Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas. Embrapa Meio Ambiente. pp. 7-14.

Morgado LB (2006) Estudo sobre densidade de plantio de sorgo e feijão-caupi consorciados no semi-árido brasileiro. Revista Ciência Agronômica. 37: 357-363.

Mota JCO, Pessoa MNG (2003) Utilização de óleo essencial e extrato foliar de *Lippia sidoides* Cham. no controle de fungos de sementes de graviola. Sociedade Brasileira de Fitopatologia. Uberlândia. Resumos Expandidos. CD-ROM.

Munnecke DE, Kolbezen MJ, Bricker JL (1982) Effect of moisture, chloropicrin, and methyl bromide singly and in mixture on sclerotia of *Sclerotium rolfsii* and *Verticillium albo-atrum*. Phytopathology. 72: 1235-1238.

Nascimento LC, Nery AR, Rodrigues LN (2008) Controle de Controle de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamoeiro, utilizando extratos vegetais, indutores de resistência e fungicida. Acta Sci. Agron. Maringá. 30: 313-319.

Neves VA, Pereira DD, Shoshima AHR, Tavano OL (2003) Características da solubilidade protéica e isolamento da globulina principal de caupí *Vigna unguiculata* (L.) Walp.) cultivar BR 14-Mulato. Alim. Nutr.14: 47-55.

Nechet KL, Vieira BAH (2006) Doenças do Feijão-caupi em Roraima. Embrapa: Circular técnica. pp16.

Nolla A, Konrdörfer GH, Arruda DG, Lemes EM, Kahlau J (2004). Eficiência de silicato de cálcio e calcário no controle de cercospora sojina na cultura da soja. In: Simpósio sobre silício na agricultura, 3.Uberlândia. Resumos expandidos Uberlândia: Grupo de Pesquisa Silício na Agricultura. (CD ROM).

Oliveira IP (1998) A Cultura do caupi nas condições de clima e solo dos trópicos úmido e semi-árido do Brasil. In: Araújo JPP, Watt EE (Org.). O Caupi no Brasil. IITA/Embrapa. pp 722.

Oliveira AP, Tavares Sobrinho J, Nascimento JT, Alves AU, Albuquerque IC, Bruno GB (2002) Avaliação de linhagens e cultivares de feijão-caupi, em Areia, PB. Horticultura Brasileira. 20: 180-182.

Oliveira AP, Bruno RLA, Bruno GB, Alves EU, Pereira EL (2001) Produção e qualidade de sementes de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), em função de doses e formas de aplicação de nitrogênio. Revista Brasileira de Sementes. 23: 215-221.

Paula Júnior TJ, Vieira RF, Teixeira H, Carneiro JES (2009) Foliar application of calcium chloride and calcium silicate decreases white mold intensity on dry beans. Tropical Plant Pathology. 34: 171-174.

Peixinho GS (2009) Avaliação dos efeitos de indutores de resistência no controle de antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) em inflorescências de bastão do imperador (*Etlintera elatior* Smith.). Trabalho de Conclusão de Curso. Rio Largo AL. Universidade Federal de Alagoas.

Pieterse CMJ, Van Pelt JA, Van Wees SCM, Ton J, Verhagen BWM, Léon-Kloosterziel K, Hase S, De Vos M, Van Oosten V, Pozo M, Spoel S, Van der Ent S, Koornneef A, Chalfun-Junior A, Resende MLV, Van Loon LC (2005) Indução de resistência sistêmica por rizobactérias e comunicação na rota de sinalização para uma defesa refinada. Revisão Anual de Patologia de Planta. 13:277-295.

Pinto NFJA (2002) Controle químico associados a sementes de sorgo e proteção contra fungos de solo. Pesq. Agropec. Bras. 37: 723-728.

Pozza AAA, Pozza EA, Botelho DMS (2004a) O silício no controle de doenças de plantas. Revisão Anual de Patologia de Planta. 12: 373-402.

Pozza AAA, Alves E, Pozza EA, Carvalho JG, Montanari M, Guimarães PTG, Santos DM (2004b) Efeito do silício no controle da cercosporiose em três variedades de cafeeiro. Fitopatologia Brasileira. 29: 185-188.

Pozo YR, Flores DV, Romero LC, Pérez EG, Álvarez-Rivera VP (2007) Selección de cepas de *Bacillus* y otros géneros relacionados para el control biológico de hongos fitopatógenos. Fitosanidad. 11: 35-39.

Punja ZK, Rahe JE (1992) *Sclerotium rolfsii*. In: Singleton LL, Mihail JD, Rush CM (Eds.) Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi. APS Press. pp. 166-170.

Punja ZK (1985) The biology, ecology and control of *Sclerotium rolfsii*. Annual Review of Phytopathology 23: 97-127.

Reis EM, Casa RT, Hoffmann LL (2005) Controle cultural de doenças radiculares. In: Michereff SJ, Andrade DEGT, Menezes M (Eds.) Ecologia e Manejo de Patógenos Radiculares em Solos Tropicais. UFRPE. pp. 279-301.

Reis THP, Figueiredo FC, Guimarães PTG, Botrel PP, Rodrigues CR (2008) Efeito da associação silício líquido solúvel com fungicida no controle fitossanitário do cafeeiro. Coffee Science. 3: 76-80.

Rios GP (1990) Principais doenças do caupi no Brasil. EMBRAPA. pp. 27-28.

Robbs CF (1991) Controle biológico de doenças de plantas. Informe Agropecuário. 15: 63-72.

Rodrigues FA, Carvalho EM, Vale FXR (2002) Severidade da podridão-radicular de *Rhizoctonia* do feijoeiro influenciada pela calagem, e pelas fontes e doses de nitrogênio. Pesq. agropec. bras. 37: 1247-1252.

Rodrigues AAC, Menezes M (2002) Detecção de fungos endofíticos em sementes de caupi provenientes de serra talhada e de caruaru, Estado de Pernambuco. Fitopatologia Brasileira. 27: 532-537.

Rollan M, Monaco C, Nico A (1999) Efecto de la temperatura sobre la interaccion in vitro entre especies de *Trichoderma* y *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. minor* y *Sclerotium rolfsii*. Invest. Agr.: Prod. Prot. Veg. 14:1-16.

Rondón TR, Gutiérrez GR, Zayas ADP, Pérez LA, Cutiño YL (2007) Efectividad in vitro de *Trichoderma harzianum* Rifai para el biocontrol de *Rhizoctonia solani* Kühn y

Pyricularia grisea sacc. aislados en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.). Fitosanidad 11: 29-34.

Sales Jr. R, Medeiros EV, Andrade DEGT, Peruch LAM, Rodrigues VJLB (2005) Controle químico de doenças radiculares. In: Michereff S J, Andrade DEGT, Menezes M (Eds.). Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais. Recife. UFRPE. pp 345-366.

Santos Botelho DM, Pozza EA, Pozza AAA, Carvalho JG, Botelho CE, Souza PE (2005) Intensidade da cercosporiose em mudas de cafeeiro em função de fontes e doses de silício. Fitopatologia Brasileira 30: 582-588.

Santos GR, Café-Filho AC, Saboya LMF (2005) Controle químico do crestamento gomoso do caule em melancia. Fitopatol. bras. 30: 155-163.

Santos I, Tomazeli VN, Morales RGF (2009a) Resíduos orgânicos e solarização para o controle das doenças do feijoeiro causadas por *Sclerotium rolfsii*. In: Bettioli W, Morandi MAB. Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas. Jaguariúna. Embrapa Meio Ambiente. pp.209-223.

Santos FS, Souza PE, Resende MLV, Pozza EA, Miranda JC, Ribeiro Júnior PM, Manerba FC (2007) Efeito de extratos vegetais no progresso de doenças foliares do cafeeiro orgânico. Fitopatologia Brasileira. 32: 059-063.

Santos JF, Grangeiro JIT, Brito CH, Santos MCCA (2009b) Produção e componentes produtivos de variedades de feijão-caupi na microregião cariri paraibano. Engenharia Ambiental - Espírito Santo do Pinhal. 6: 214-222.

Saraiva FZ, Sampaio SC, Silvestre MG, Queiroz MMF, Nóbrega LHP, Gomes BM (2007) Uso de manipueira no desenvolvimento vegetativo do milho em ambientes protegido. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental. 11: 30-36.

Schwan-Estrada KRF, Stangarlin JR, Cruz MES (2000) Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. Revista Floresta. 30: 129-137.

Schwan-Estrada KRF, Stangarlin JR (2001) Plantas medicinais no controle de fitossanitário. In: Jornada paulista de plantas medicinais: natureza, ciência e comunidades. Botucatu.UNESP. 5: 43-48. (Anais).

Schoenmaker IAS, Ghini R (2001) Biofumigação do solo para o controle de *Pythium* spp. Summa Phytopathologica. 27: 308-312.

Secretaria do Meio Ambiente e Recursos Hídricos (2009) Zoneamento Climático – Feijão-caupi. Disponível em: http://www.semarh.al.gov.br/tempo%20e%20clima/zoneamento-de-risco-climatico/ano-2009/cultivos/feijao_caupi.xls/view

Shiomi HF, Melo IS, Minhoni MTA (2008) Seleção de bactérias endofíticas com ação antagonica a fitopatogenos. *Scientia Agraria*. 9: 535-538.

Silva FF (2003) Impacto da aplicação de efluente de fecularia de mandioca em solo e na cultura do sorgo (*Sorghum bicolor*). Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Maringá. pp. 69.

Silva JC (2007) Uso de óleos essenciais, extratos vegetais e indutores de resistências no controle alternativo do Mal-do-panamá da bananeira. Dissertação de mestrado. Rio Largo AL. Universidade Federal de Alagoas.

Silva Júnior MVC (2009) Controle biológico e físico da Podridão-do-colo (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) em feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). Trabalho de Conclusão de Curso. Rio Largo AL. Universidade Federal de Alagoas.

Silva AC, Sales NLP, Araújo AV, Caldeira Júnior CF (2009) Efeito in vitro de compostos de plantas sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. isolado do maracujazeiro. *Ciênc. agrotec., Lavras*. 33: 1853 -1860.

Silva AC, Souza GM, Caldeira Júnior CF, Sales NLP (2008) Incidência da pinta-preta em mudas de mamoeiro em função da aplicação de silicato de cálcio e calcário dolomítico. *Tropical Plant Pathology*. 33 (suplemento): 174. (Resumo).

Singh BB, Ehlers JD, Sharma B, Freire-Filho FR (2002) Recent progress in cowpea breeding. In: Fatokun CA, Tarawali SA, Singh BB, Kormawa PM, Tamo M (Eds.). *Challenges and oportunites for enhancing sustainable cowpea production*. Ibadan: IITA. pp 22-40.

Soares LPR (2007) Controle alternativo de *Phytophthora palmivora* em mamoeiro (*Carica papaya* cv Sunrise solo). Relatório Final. Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica – PIBIC/UFAL/FAPEAL.

Soares LPR (2009) Controle da podridão do fruto de mamoeiro (*Phytophthora palmivora* butler), utilizando extratos vegetais, óleos essenciais e hidroterapia. Trabalho de Conclusão de Curso. Rio Largo AL. Universidade Federal de Alagoas.

Sobral MF, Carnaúba JP, Silva JC, Amorim EPR (2007) Uso de isolados de *Trichoderma* spp. e solução nutritiva no controle da podridão negra das raízes da mandioca. *Summa Phytopathol*. 33(suplemento): 22. (Resumo).

Spiegel Y, Chet I (1998) Evolution of *Trichoderma* spp. as a biocontrol agent against soilborne fungi and plant parasitic nematodes in Israel. *Integrated Pest Management Review*. 3: 167-175.

Stangarlin JR, Schwan-Estrada KRF, Cruz MES, Nozaki MH (1999) Plantas medicinais e o controle alternativo de fitopatógenos. *Biotechnology. Ciências & Desenvolvimento*. 11: 16-21.

Teixeira LDD, Ferraz LCL, Sala FC, Costa CP, Kimati H (2006) Efeito da solarização do solo com e sem incorporação de matéria orgânica no controle de *Thielaviopsis basicola* em alface. *Fitopatol. bras.* 31(Suplemento): 193. (Resumo).

Utkheder RS, Rahe JE (1983) Interactions of antagonistic and pathogens in biological control of onion white rot. *Phytopathology*.73: 890-893.

Vinale F, Sivasithamparam K, Ghisalberti EL, Marra R, Woo SL, Lorito M (2008) *Trichoderma* – plant – pathogen interactions. *Soil Biology & Biochemistry*. 40: 1-10.

Wheeler T, Rush CM (2001) Soil inhabitant. In: Maloy, O.C. & Murray, T.D. (Eds.) *Encyclopedia of Plant Pathology*. New York. JohnWiley & Sons. pp.933-934.

Wosiack G, Cereda MP (2002) Valorização de resíduos do processamento de mandioca. *Publicatio UEPG: Exact and soil sciences*. 8: 27-43.

Xavier GR, Martins, LMV, Rumjanek, NG, Freire Filho, FR (2005) Variabilidade genética em acessos de caupi analisada por meio de marcadores RAPD. *Pesq. agropec. bras.* 40: 353-359.

Zambolim L, Costa H, Vale FXR (2005) Nutrição Mineral e Patógenos Radiculares. In: Michereff SJ, Andrade DEGT, Menezes M (Eds.) *Ecologia e Manejo de Patógenos Radiculares em Solos Tropicais*. UFRPE. pp.153-181.

Referências elaboradas de acordo com a Revista Tropical Plant Pathology modificada (Anexo 1).

Anexo

ANEXO 1 – Normas da revista Tropical Plant Pathology.

Tropical Plant Pathology - Fitopatologia Brasileira

NORMAS PARA PREPARO E SUBMISSÃO DE MANUSCRITOS - RESUMO

Escopo da Revista

A revista *Tropical Plant Pathology* é um periódico internacional, de periodicidade bimestral, publicado pela Sociedade Brasileira de Fitopatologia. Tem como objetivo a publicação de resultados de pesquisa básica e aplicada sobre todos os aspectos da Fitopatologia. Trabalhos sobre prospecção ou avaliação de produtos naturais e sintéticos ou sobre elementos de resistência a patógenos podem ser aceitos como artigo somente se apresentarem informações inéditas sobre o modo de ação ou mecanismos de resistência. Primeiros relatos de fitodoeças devem ser apresentados no formato "Comunicação". Embora *Tropical Plant Pathology* seja órgão oficial da Sociedade Brasileira de Fitopatologia, contribuições de membros e não-membros da Sociedade são bem vindas.

Submissão de Manuscritos**Manuscritos devem ser enviados para:**

Ludwig H. Pfenning, Editor Chefe
Tropical Plant Pathology – Comissão Editorial
Universidade Federal de Lavras
Cx. Postal 3066
37200-000 Lavras MG

Documentos necessários para submissão de manuscrito:

- a) Uma carta de encaminhamento, assinada por todos os autores, declarando a sua anuência com a submissão do manuscrito e que a matéria não está sendo avaliada nem publicada em outro periódico;
- b) Declaração de transferência de direitos autorais à Editora, disponível na página da revista na Web;
- c) Uma versão impressa do manuscrito, incluindo fotografias e demais elementos gráficos;
- d) Cópia digital do texto e tabelas em plataforma Windows, Figuras em TIFF ou JPEG, gravadas em arquivos separados. CD's e disquetes devem ser identificados com o nome e sobrenome do primeiro autor;
- e) Comprovante de depósito da taxa de tramitação no valor de R\$ 50, em favor de Banco do Brasil, agência 0364-6, conta no. 36.981-0.

A falta de qualquer elemento pode causar atrasos na tramitação ou devolução do manuscrito mesmo antes da revisão. A Comissão Editorial aprecia os esforços envidados pelos autores para que o texto seja elaborado em linguagem correta antes da submissão.

Artigo Científico

O texto do manuscrito deve ser redigido em Inglês, em espaço duplo usando fonte 12 pt, impresso em papel A4 em um só lado, com margens de 2,5 cm, numeração contínua de páginas e linhas, começando pela primeira página, incluindo Agradecimento, Referências, Tabelas e Legendas. Manuscritos redigidos em Português ou Espanhol também serão aceitos.

A **Página inicial** deve conter o título, de preferência com não mais de 150 caracteres com espaços; nome dos autores, local de trabalho ou local da realização do trabalho, incluindo Departamento ou Setor, Instituição, CEP, cidade, estado e país; nome do autor para correspondência, incluindo endereço de e-mail. O "Abstract" deve ser redigido em parágrafo único com não mais de 200 palavras. Até seis palavras chave devem ser incluídas, diferentes de termos mencionados no título. Todos os manuscritos incluem também um Resumo em português. Manuscritos redigidos em português ou espanhol incluem também um *Abstract* em inglês. O texto deve ser redigido da forma mais sucinta e objetiva possível e incluir os seguintes elementos Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão.

Tabelas devem ser inseridas após a seção Referências Bibliográficas e receber um título conciso e informativo no cabeçalho. Devem ser numeradas de acordo com sua citação no texto. Rodapés devem ser indicados com números sobrescritos. **Figuras** devem ser numeradas de acordo com sua citação no texto, sendo formatadas aproximadamente de acordo com a largura das colunas da revista. Gráficos e fotografias devem ser apresentados em formato TIFF ou JPEG, gravados em arquivos separados. As legendas devem ser apresentadas no manuscrito em página própria, após a seção Referências Bibliográficas. Os autores devem inserir chaves e barra diretamente na figura. As imagens precisam ter resolução mínima de 300 dpi. Desenhos e gráficos necessitam resolução mínima de 600-1200 dpi.

Comunicação

Publicação de resultados e observações que não justifiquem a publicação de um artigo completo, e de relatos originais de fitodoeças para o território brasileiro ou outros países. Registros novos para regiões ou estados da Federação são aceitos somente em casos específicos. Devem possuir 12 páginas ou menos, já incluindo referências. Todos os manuscritos incluem também um Resumo em português. O texto deve ser redigido em seqüência única, incluindo Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão. São aceitáveis até duas figuras e duas tabelas. O formato da primeira página e da seção Bibliografia segue o do Artigo.

Autoria

Quem submete manuscritos para *Tropical Plant Pathology* deve respeitar a pesquisa de seus pares, evitando a desvalorização da co-autoria. Cada autor deve ter oferecido contribuição intelectual substancial quanto ao desenho, a condução, análise ou interpretação do estudo. Cada autor precisa aprovar a versão final do manuscrito a ser publicado e estar disposto a assumir publicamente responsabilidade por sua contribuição no trabalho. O primeiro autor, assim como o autor para correspondência, devem assumir responsabilidade pública para o trabalho na íntegra.

Versão completa disponível em
www.sbfito.com.br/tpp ou www.scielo.org