

ANTONIO CARLOS DIAS DE TOLEDO
ENGENHEIRO AGRÔNOMO

"BAKANAE" E SEU CONTROLE BIOLÓGICO

Orientador: ELKE J. B. N. CARDOSO

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre.

P I R A C I C A B A
Est. de São Paulo - BRASIL

-1974-

D E D I C O

À memória de meu pai

À minha mãe

À minha esposa e filhos

AGRADECIMENTOS

À Professora Dra. Elke Jurandy Bran Nogueira Cardoso pela orientação precisa e compreensiva e pela revisão dos originais.

Ao Professor Dr. Caio Octavio Nogueira Cardoso pela revisão dos originais e sugestões.

Ao Professor Dr. Hiroshi Kimati pela revisão dos originais.

Ao Professor Dr. Eric Balmer pela revisão dos originais.

Ao Dr. Conradi Antonio Campacci pelo apoio oferecido.

Aos colegas da Seção de Fungicidas por todo o auxílio prestado na execução de alguns dos experimentos.

Aos professores e colegas do Departamento de Fitopatologia pelo apoio e estímulo concedidos.

À Eng.^a Agr.^a Regina Esmeralda de Mello Amaral pelo fornecimento do isolado de *Fusarium moniliforme* Sh. usado neste trabalho.

Ao Eng.^o Agr.^o Derly Machado de Souza pelo fornecimento das sementes de arroz utilizadas neste trabalho.

Ao Eng.^o Agr.^o Geraldo Guimarães pelas facilidades oferecidas quando das coletas de amostras de solo.

Ao Exmo. Sr. Gal. Henrique Palmeiro D'Ávila pelo apoio concedido.

Ao Exmo. Sr. Secretário de Estado Cyro Albuquerque pelo apoio concedido.

À D.^a Cecilia T. Uchôa Gomes pela revisão nas referências bibliográficas.

À Coordenação de Aperfeiçoamento do Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a execução deste trabalho.

ÍNDICE

INTRODUÇÃO.....	pág 1
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	2
MATERIAIS.....	12
SOLOS UTILIZADOS E SUA CARACTERIZAÇÃO....	12
FUNGOS UTILIZADOS NOS EXPERIMENTOS.....	12
PATÓGENO.....	12
PROVÁVEIS ANTAGONISTAS.....	13
MEIOS DE CULTURA UTILIZADOS.....	13
HOSPEDEIRO.....	13
SUBSTRATO E CONDIÇÕES PARA CULTIVO DO HOSPEDEIRO.....	15
MÉTODOS.....	16
AMOSTRAGEM DOS SOLOS.....	16
DILUIÇÃO DO SOLO E PLAQUEAMENTO.....	16
TESTE DE INIBIÇÃO DO <i>FUSARIUM MONILIFORME</i> SH.....	17
PREPARO DOS SUBSTRATOS.....	17
ESTERILIZAÇÃO.....	17
REINOCULAÇÃO DO SOLO.....	17
SUPLEMENTAÇÕES DO SOLO.....	17
PREPARO DOS INÓCULOS.....	18
MÉTODOS DE INOCULAÇÃO.....	18
PATÓGENO.....	18
PROVÁVEIS ANTAGONISTAS.....	19
TRATAMENTO DAS SEMENTES E SEMEADURA.....	19
ISOLAMENTO DE PROVÁVEIS ANTAGONISTAS.....	19
DIRETO.....	19

INDIRETO.....	20
CLASSIFICAÇÃO DOS PROVÁVEIS ANTAGONISTAS..	20
CONSERVAÇÃO DOS FUNGOS.....	21
RECUPERAÇÃO DO PATÓGENO.....	21
AVALIAÇÃO DA DOENÇA.....	21
TESTES DE ANTAGONISMO "IN VITRO".....	21
DESCRIÇÃO DOS EXPERIMENTOS E RESULTADOS OBTI-	
DOS.....	22
DILUIÇÃO DE SOLO E PLAQUEAMENTO.....	22
EFEITO DA ESTERILIZAÇÃO DO SOLO NA EFICIÊN-	
CIA DE INOCULAÇÃO DO <i>FUSARIUM MONILIFORME</i>	
SH.....	23
EFEITO DA REINOCULAÇÃO DO SOLO E SUPLEMEN-	
TAÇÕES.....	27
TESTES DE ANTAGONISMO "IN VIVO".....	32
TESTES DE ANTAGONISMO "IN VITRO".....	37
DISCUSSÃO.....	41
*CONCLUSÕES.....	44
RESUMO.....	45
SUMMARY.....	46
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47

INTRODUÇÃO

O arroz, alimento básico em nossa mesa, é cultivado entre nós ainda em condições pouco satisfatórias. O uso de fertilizantes em níveis muito baixos e o emprego praticamente nulo de defensivos agrícolas contribuem para que a produção atingida esteja muito abaixo daquela obtida por países de orizicultura mais adiantada.

O "bakanae", doença causada por *Fusarium moniliforme* Sh. foi constatado há relativamente pouco tempo no Vale do Paraíba (2), pouco se conhecendo ainda de seu comportamento em nossas condições.

Embora o patógeno seja disseminado principalmente pelas sementes, e o tratamento destas seja considerado seu principal método de controle, também existe a possibilidade de que ele permaneça no solo, em restos de cultura de um para outro ano. Sendo o arroz, normalmente, cultivado sempre nas mesmas áreas, a presença do patógeno no solo poderia tornar-se um fator limitante para a utilização das áreas onde isso viesse a ocorrer. Supondo a possibilidade da ocorrência de controle biológico do *Fusarium moniliforme* Sh. por microrganismos do solo, o presente trabalho visou a constatação dessa possibilidade e a determinação de relações de antagonismo entre microrganismos de dois tipos de solo cultivados com arroz, do Vale do Paraíba e o *Fusarium moniliforme* Sh. Não temos a pretensão de estabelecer a viabilidade prática desse controle biológico, porém apenas contribuir para o conhecimento do comportamento desse patógeno em presença de outros microrganismos normalmente presentes no solo e até que ponto isso afetaria sua capacidade de causar doen

ça em plantas de arroz.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A doença causada em arroz por *Fusarium moniliforme* Sh. e conhecida no Japão desde 1828, tendo sido descrita em 1898 por Hori e o patógeno classificado como *Fusarium heterosporum* Nees. Em 1917 Sawada descreveu a forma perfeita ocorrendo em plantas de arroz, denominando-a *Lisea fujikuroi*. Atualmente o patógeno é classificado como *Gibberella fujikuroi* (Saw.) Wr. sendo sua forma imperfeita *Fusarium moniliforme* Sh. (4, 30, 32, 37).

É largamente distribuída em todas as regiões arrozeiras do mundo, sendo conhecida na África Equatorial Francesa, Austrália, Ceilão, China, Costa do Marfim, Estados Unidos da América, Filipinas, Guiana Inglesa, Índia, Itália, Japão, Quênia, Nigéria, Surinan, Tailândia, Tanzânia, Trinidad, Uganda, Venezuela, Vietnam (30).

É conhecida por diversas denominações, entre elas "bakanae" no Japão, "palay lalake" nas Filipinas e "man rice" na Guiana Inglesa (32).

Foi observada no Brasil, pela primeira vez, em Dezembro de 1966, em Lorena, Estado de São Paulo, ocorrendo nas variedades Taichung 56 e Sanchung 65 (2).

Seus sintomas mais característicos são o crescimento excessivo das plantinhas afetadas, ocorrência de raízes adventícias no primeiro, segundo e às vezes no terceiro nó, coloração marrom na região basal, fasciculação das raízes. As plantinhas apresentam aspecto esguio e coloração amarelada (4, 30, 32, 37).

Filtrados de cultura do fungo aplicados em platinhas ocasionam sintomas semelhantes aos da infecção (2, 3, 4, 37, 43).

A doença é disseminada principalmente pelas sementes, ocorrendo a infecção na ocasião da floração. O fungo pode também, infectar platinhas em início de desenvolvimento, tornando-se sistêmico, mas não penetrando, geralmente, neste caso, órgãos florais. Pode, no entanto, também ser disseminado pelo solo, sendo que um solo artificialmente infestado pode causar 93% de infecção, logo no início, sendo que a porcentagem de infecção decai com o tempo (30, 32).

Em inoculação de platinhas, os melhores resultados são obtidos quando é usada a infestação do substrato (44).

Em solo guardado em ambiente fechado, o fungo conserva-se pelo menos por 3 anos (32).

Levantamentos efetuados em nove solos cultivados com arroz na Califórnia, revelaram a presença de *Fusarium moniliforme* Sh. em três, sendo que o autor salienta a importância do fato com relação à doença (22).

As perdas ocasionadas pela doença são variáveis, podendo em alguns casos atingir até 20% (30, 32).

A temperatura ideal para infecção é 35°C, sendo também a mais favorável para o desenvolvimento das platinhas. Abaixo de 20°C praticamente não se obtém infecção (30). A adubação nitrogenada estimula o aparecimento da doença (32, 34).

Em 1935, Yabuta, Sumiki e Hayashi, isolaram de filtrados de cultura do fungo a giberelina (30).

O estudo da variação de nitrogênio orgânico e açúcares em sementes tratadas com giberelina, por um período de 5

dias, revelou um aumento na liberação de aminoácidos e açúcares redutores, correlacionado a um aumento de atividades de amilase e protease. Observou-se também aumento na absorção de água pelas platinhas, ocasionando maior peso fresco, sendo o peso seco praticamente semelhante ao de platinhas não tratadas (21).

Utilizando seis isolados provenientes da região do Vale do Paraíba conseguiu-se a reprodução dos sintomas e recuperação do patógeno em platinhas de duas variedades: IAC 120 e IAC 435. Medições efetuadas no comprimento total da terceira folha ou apenas na bainha ou limbo, permitiram concluir que a medida mais útil para avaliação da doença é o comprimento do limbo da terceira folha. A giberelina produzida em meio de cultura foi parcialmente purificada, identificada em cromatografia de camada fina, usando giberelina pura como padrão, ressuspensa em água e aplicada em platinhas de arroz, obtendo-se sintomas característicos da doença (43).

O controle recomendado é o uso de fungicidas mercuriais no tratamento de sementes ou o emprego de variedades resistentes (2, 30, 32).

A importância do estudo do controle biológico em casos em que a disseminação do patógeno possa se dar através do solo é evidente, sendo realmente um campo bastante promissor (12).

Embora apresente limitações, notadamente a de propiciar preferencialmente o isolamento de fungos que esporulam abundantemente, a técnica da diluição em série e plaqueamento em agar ainda é a mais recomendável por ser a mais bem estudada e estandardizada para o levantamento de microrganismos do so

10 (17).

Os solos em geral apresentam propriedades fungistáticas, inibindo a germinação de esporos e o desenvolvimento de hifas de fungos. Essa inibição é anulada por esterilização do solo e em alguns casos pela adição de nutrientes. Conídios de *Curvularia tuberculata* e, em menor grau, de *Alternaria brassicicola* tiveram sua germinação inibida em dois solos testados. A autoclavagem ou suplementação com glucose anularam essa inibição (31). Usando conídios de *Helminthosporium sativum* e *Fusarium solani* f. *phaseoli* determinou-se a existência no solo de fatores voláteis fungistáticos que podem ser anulados pelo emprego de nutrientes adequados (35). *Rhizoctonia solani* sobrevive por mais tempo em solo autoclavado, sendo também maior a sobrevivência quando se usa maior quantidade de inóculo. Suplementações influem de forma variável em sua sobrevivência (33).

A reinoculação de solo esterilizado com microrganismos do solo, ou com solo natural restaura seu poder fungistático (41).

Em solos cultivados a muito tempo com trigo observou-se a ocorrência de um fator biológico controlando *Ophiobolus graminis*. A fumigação desses solos com brometo de metila suprime o antagonismo, porém este é restaurado pela reinfestação com 1% de solo não fumigado (38).

Solos autoclavados, quando infestados com actinomicetos, bactérias ou fungos do solo apresentam, em alguns casos, restauração da fungistase, sendo que esta não é relacionada com a produção de zonas de inibição em agar (25).

Amostras de solo esterilizadas por autoclavagem em dois dias consecutivos e infestadas com culturas de bactérias antagonicas em agar a *Fusarium graminearum*, *Fusarium moniliform*

me, *Helminthosporium sativum* e *Rhizoctonia solani*, após incubação por sete dias, inibiram a germinação dos esporos desses fungos (29).

Em solo autoclavado por três dias sucessivos, a infestação com bactérias ocasionou a produção de efeito fungistático, mesmo por parte de microrganismos que não se mostravam antagonistas em meio de cultura (15).

Solo esterilizado por autoclavagem em três dias sucessivos e reinfestado com fungos, bactérias e actinomicetos do solo, apresentou resultados que sugerem a produção por estes últimos de compostos voláteis inibindo a germinação de conídios no solo (16).

A adição de quitina ao solo tem proporcionado aumento em suas propriedades fungistáticas. Em solo esterilizado, reinfestado com actinomicetos, a adição de quitina estimula a produção de compostos voláteis fungistáticos. A germinação de conídios em solo contendo quitina foi consistentemente menor (16).

A supressão de microrganismos prejudiciais pela adição ao solo de suplementações destinadas a favorecer o desenvolvimento de microflora antagonica, independentemente do mecanismo de inibição, pode ser considerada como controle biológico. Em estudo de controle biológico de doenças de *Fusarium* demonstrou-se que a quitina reduz a severidade das mesmas. No caso de *Fusarium solani* f. *phaseoli* o tempo ideal de incubação do solo após a adição de quitina é de duas semanas, sendo que o efeito perdura por pelo menos sete semanas (26).

Observou-se que a adição de quitina ao solo promoveu o controle de doenças causadas por *Fusarium*, que contém quitina em suas paredes, não controlando, no entanto, *Pythium* ou *Agro*

bacterium, cujas paredes celulares não contêm quitina (27).

A suplementação do solo com quitina inibe fortemente a formação de clamidosporos por *Fusarium solani* f. *cucurbitae* (36).

Em solo suplementado com 0,05% de quitina e incubado por três dias o crescimento saprofítico de *Rhizoctonia solani* foi inibido de 35%, atingindo a inibição 73% quando se usou 0,8% de quitina. A esterilização do solo impede a manifestação do efeito da quitina, sendo também que a semeadura imediata ap^os a suplementação não afeta a severidade do ataque de *Rhizoctonia solani* a feijoeiro, porém a incubação reduz muito a severidade da doença. Suplementações com glucose e ou nitrato de amônio não alteram o efeito da quitina (39).

A inibição de *Rhizoctonia solani* por extrato de solo em n-butanol foi da ordem de 20% para solos não suplementados e 52% para solos suplementados com quitina. A incubação por 21 dias proporcionou maior inibição que a incubação por 4 dias (40).

A adição de diversas suplementações orgânicas pode controlar *Fusarium solani* f. *phaseoli*, estando entre elas a quitina (7).

Em dois solos estudados observou-se significante aumento de bactérias e actinomicetos quitinoclásticos dentro de uma semana ap^os a suplementação do solo com quitina (36).

Por observação microscópica direta de pedaços de quitina enterrados no solo verificou-se a decomposição mais rápida da quitina a temperaturas mais altas e a ocorrência principalmente de hifas asseptadas e actinomicetos (28).

Observou-se também que a adição de quitina ao solo estimula o desenvolvimento de microrganismos produtores de

antibióticos, especialmente actinomicetos (27).

Após a adição de quitina a população de fungos decresce, sendo, percentualmente, maior a ocorrência de *Penicillium*, enquanto a população de bactérias e actinomicetos sofre aumento de cerca de duas vezes (26).

É possível o isolamento seletivo de organismos quitinolíticos do solo pelo emprego de quitina como fonte de carbono e nitrogênio em meio de cultura e pelo uso de antibióticos (6).

Quitinase parcialmente purificada, de culturas de *Streptomyces* sp. não lisa micélio vivo de *Glomerella cingulata* ou *Fusarium solani* f. *pisi*, lisando apenas parcialmente micélio morto. Não se observa correlação entre a capacidade de lisar quitina e a lise de micélio vivo ou morto por cultura de *Streptomyces* sp. No entanto, a quantidade de micélio vivo lisado em agar pelo mesmo *Streptomyces* sp. está correlacionada com o tamanho da zona de inibição por ele produzida em placa semeada com conídios do fungo, o que sugere ser a lise um processo autolítico induzido por metabólitos tóxicos produzidos pelo antagonista (24).

Vários fungos patogênicos são lisados em solo natural em 4-8 dias, porém em solo esterilizado por autoclavagem, fumigação ou radiação gama crescem bem, sem apresentar lise. A reinfestação do solo com actinomicetos e bactérias restaura seu poder lítico, sendo que a suplementação com glucose ou peptona anulam-no temporariamente, enquanto que a quitina aumenta esse poder lítico. A suplementação do solo com hifas de fungos resulta em aumento na população de bactérias e actinomicetos. Antibióticos e condições de inanição, separadamente, induzem muito pequeno grau de lise, donde se conclue ser a combinação dos dois fatores a causa de lise de micélio em solo natural (23).

Um grande número de microrganismos do solo produzem enzimas, como quitinase, capazes de hidrolisar constituintes da parede celular dos fungos. No entanto, estudos indicam ser mais provável a ocorrência de autólise induzida por deficiência de nutrientes no solo (20).

Pelo uso de paredes celulares de fungos em agregados de caolinita foi possível estudar o desenvolvimento da atividade de glucanases, que só ocorreu quando se usava parede celular contendo quitina. Nestes casos observou-se aumento nas populações de bactérias e actinomicetos (18).

Em solo contendo 8.10^6 bactérias e 3.10^6 actinomicetos por grama, usando *Fusarium solani* f. *phaseoli* e *Thielaviopsis basicola* como organismos testes, a suplementação com glucose ou peptona tornava mais rápida a lise (8).

De rizoplano de tomateiro foram isolados microrganismos que foram selecionados por suas características de antagonismo "in vitro" ao *Verticillium albo-atrum*. Eram, predominantemente, bactérias e actinomicetos, praticamente não ocorrendo fungos. Cinco deles, testados "in vivo", não apresentaram qualquer efeito na infecção de tomateiros pelo *Verticillium albo-atrum* (19).

Fungos obtidos de diferentes tipos de solo, em placas de diluição, e também isolados de plantas de feijoeiro, foram testados no controle biológico da murcha causada por *Fusarium oxysporum* f. *phaseoli* em feijoeiro, verificando-se que 5 isolados de *Chaetomium*, de *Rhizoctonia* e um de *Macrophomina* foram efetivos. O método mais eficiente para inoculação desses antagonistas foi o da infestação do substrato. Os resultados obtidos "in vitro" não coincidiram com aqueles obtidos "in vivo" (9).

Fungos e bactérias isolados do solo foram testados em placas para antagonismo ao *Fusarium roseum* f. *graminearum*. A adição de colmos de milho infestados com esses microrganismos ao solo revelou que o uso de *Bacillus subtilis* ou *Chaetomium globosum* resultava no controle do patógeno (10).

Bacillus subtilis isolado da rizosfera de cravo mostrou-se antagonista "in vitro" a *Fusarium roseum* f. *dianthi*, sendo também eficiente no controle desse patógeno em condições de estufa, quando era usado no tratamento de estacas (1).

Trinta e oito fungos isolados de rizoplano, rizosfera e não rizosfera de *Phaseolus mungo* foram testados para antagonismo a *Rhizoctonia bataticola*, "in vitro" e "in vivo". *Arachniotus* sp., *Aspergillus aculeatus*, *Cephalosporium humicola* e *Trichoderma lignorum* eram os mais ativos "in vitro", produzindo substâncias tóxicas. *Arachniotus* sp. e *Aspergillus aculeatus* aplicados à semente proporcionaram controle de "damping-off" de pré e pós-emergência, resultando em um "stand" de 73% ou 69,7%, comparados com 1,2% na testemunha (11).

Observou-se nos Estados Unidos da América que a murcha do carvalho causada por *Ceratocystis fagacearum* não ocorre tão intensivamente no sul quanto no norte. Em Arkansas tem permanecido estática desde 22 anos atrás quando foi descoberta, e limitada à parte norte do estado. Atribue-se isso à rápida invasão de árvores doentes pelo competidor *Hypoxylon atropunctatum* que inibe o crescimento de *Ceratocystis fagacearum* (42).

Não encontramos na literatura qualquer estudo referente ao controle biológico de *Fusarium moniliforme* Sh., agente causal de "bakanae" do arroz. Embora a disseminação do patógeno se processe através das sementes, a disseminação pelo solo tam

bem ocorre, pois existe a possibilidade do fungo permanecer no solo. Sendo o arroz cultivado nos mesmos terrenos ano após ano, a presença do patógeno em uma determinada área poderia vir a causar problemas, o que no entanto não vem sendo observado na prática. Tal fato pode ser atribuído à fungistase natural do solo, controlando o patógeno. Também podemos observar de dados da literatura, que, em alguns casos, o cultivo constante de uma mesma planta em um terreno pode influir na ocorrência de fator biológico naturalmente controlando alguns patógenos no solo.

A fungistase natural do solo pode ser eliminada pela esterilização, e restaurada pela reinoculação do solo com microrganismos selecionados, ou com porções de solo não esterilizado, comprovando assim sua natureza biológica.

A adição de nutrientes ao solo pode estimular ou eliminar a fungistase do solo. A quitina em grande número de casos tem estimulado a fungistase do solo, enquanto a glucose em alguns casos tem prejudicado a mesma.

MATERIAIS

SOLOS UTILIZADOS E SUA CARACTERIZAÇÃO

Foram utilizados solos de duas séries, da região do Vale do Paraíba, cujas amostras foram coletadas em terrenos normalmente cultivados com arroz. Ambos os solos pertencem ao Grande Tipo Baixada, Grande Grupo Aluvião, sendo um, coletado em Pindamonhangaba, da série Barro de Telha, e outro, coletado em Taubaté, da série Capituva (47).

Nas ocasiões de coleta de amostras estes solos se encontravam cultivados com arroz. Suas características físicas e químicas, determinadas pelo Centro de Estudos de Solos da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" encontram-se no Quadro I.

QUADRO I - CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS DOS SOLOS UTILIZADOS

Série	Areia	Limo	Argila	C org. %	CTC-e-mg%	pH
Capituva	63,1	10,8	26,1	2,03	8,26	4,5
Barro de Telha	31,2	31,7	37,1	10,73	17,89	4.7

FUNGOS UTILIZADOS NOS EXPERIMENTOS

PATÓGENO

Foi utilizado um isolado de *Fusarium moniliforme* Sh. proveniente da Seção de Micologia Fitopatológica do Instituto

Biológico, por nós identificado pelo numero 17, já utilizado em trabalhos anteriores (43, 44).

PROVÁVEIS ANTAGONISTAS

Foram utilizados fungos do solo, provenientes de isolamento direto, por diluição de solo e plaqueamento em agar e também fungos isolados de tecidos de arroz. Os isolados assim obtidos foram testados em uma série de ensaios preliminares, para inibição do *Fusarium moniliforme* Sh. "in vitro" e "in vivo". Das culturas assim testadas foram selecionadas 30, ou por inibirem o *Fusarium moniliforme* Sh. "in vitro", ou por sugerirem algum efeito de controle da doença "in vivo", embora isso pudesse ser atribuído a falhas na inoculação do patógeno.

Os isolados relacionados no Quadro II, cujos números correspondem à ordem de isolamento, foram utilizados nos testes "in vivo" e "in vitro" a serem descritos.

MEIOS DE CULTURA UTILIZADOS

Foram os seguintes os meios de cultura utilizados nas diversas fases deste trabalho: Meio de Martin (17, 46), Meio MPA (46), Meio BDA (Oxoid), Meio de Armstrong (46).

Todos os meios de cultura foram esterilizados em autoclave por 30 minutos a 1 atmosfera de pressão (120°C).

HOSPEDEIRO

Foram utilizados dois cultivares de arroz, IAC-120 e IAC-435, ambos suscetíveis ao patógeno (2). As sementes usadas foram fornecidas pela Seção de Arroz e Cereais de Inverno do

QUADRO II- ISOLADOS DE PROVÁVEIS ANTAGONISTAS TESTADOS "IN VIVO" E "IN VITRO"

Isolado nº	Gênero	Origem
23	<i>Penicillium</i>	Solo
24	<i>Penicillium</i>	Solo
26	<i>Carpentelles</i>	Solo
28	<i>Carpentelles</i>	Solo
32	<i>Carpentelles</i>	Solo
39	<i>Penicillium</i>	Solo
56	<i>Chaetomium</i>	Tecidos de arroz
57	<i>Chaetomium</i>	Tecidos de arroz
63	<i>Chaetomium</i>	Tecidos de arroz
64	<i>Penicillium</i>	Tecidos de arroz
68	<i>Aspergillus</i>	Tecidos de arroz
69	<i>Aspergillus</i>	Tecidos de arroz
85	<i>Trichoderma</i>	Solo
87	<i>Trichoderma</i>	Solo
88	<i>Trichoderma</i>	Solo
89	<i>Trichoderma</i>	Solo
90	<i>Trichoderma</i>	Solo
94	<i>Penicillium</i>	Solo
96	<i>Penicillium</i>	Solo
98	<i>Penicillium</i>	Solo
99	<i>Penicillium</i>	Solo
100	<i>Penicillium</i>	Solo
110	<i>Penicillium</i>	Solo
120	<i>Penicillium</i>	Tecidos de arroz
121	<i>Penicillium</i>	Tecidos de arroz
123	<i>Penicillium</i>	Tecidos de arroz
125	<i>Penicillium</i>	Tecidos de arroz
128	<i>Penicillium</i>	Tecidos de arroz
132	<i>Chaetomium</i>	Tecidos de arroz
134	<i>Chaetomium</i>	Tecidos de arroz

Instituto Agronômico de Campinas.

SUBSTRATO E CONDIÇÕES PARA CULTIVO DO HOSPEDEIRO

Foram utilizados os solos das duas séries acima citados, misturados com areia lavada de rio, esterilizada por autoclavagem, na proporção 2:1. Em alguns experimentos o substrato utilizado foi areia lavada de rio, esterilizada. Sempre que se utilizou areia lavada como substrato, esta foi regada semanalmente com solução de Hoagland (46).

Em um dos experimentos o solo foi suplementado com quitina grau prático Sigma ou glucose Oxoid, grão bacteriológico, ambas a 0,5% (peso seco de solo).

Foram utilizados copos plásticos com 10 cm de diâmetro superior por 10 cm de altura, como recipientes para o substrato.

As plantas de arroz foram mantidas em casa de vegetação, com temperatura controlada entre 30 e 35°C. Os vasos foram irrigados diariamente com água de torneira, e semanalmente com solução nutritiva quando o substrato era areia, e após as plântulas estarem com duas folhas, inundados e assim conservados até o final do experimento.

MÉTODOS

AMOSTRAGEM DOS SOLOS

De cada um dos dois solos utilizados foram coletadas amostras em 20 locais diferentes, sendo estas acondicionadas em latinhas esterilizadas, usando-se para a coleta das amostras um trado. As amostras foram retiradas na profundidade de 5 a 20 cm, misturadas, secas à sombra, peneiradas em tamiz de 16 mesh, homogeneizadas, após o que foram retiradas amostras de 10 g para determinação da umidade.

Ao mesmo tempo foram retiradas amostras maiores, usando-se uma pá reta, que foram acondicionadas em sacos de polietileno novos, e que foram utilizadas nos ensaios em que se usou solo como substrato.

DILUIÇÃO DO SOLO E PLAQUEAMENTO

Amostras do solo homogeneizado, contendo 10g, base seca, foram suspensas em 90 ml de água destilada e esterilizada, sendo então o frasco agitado em um agitador de Burrel, ação de pulso, por 10 minutos. As amostras foram então diluídas a 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5} , sendo de cada uma das diluições pipetada uma alíquota de 1 ml para uma placa de Petri estéril que recebia a seguir 12 ml de meio de Martin a 45°C , utilizando-se para isso uma seringa esterilizada, e agitando-se a seguir a placa para perfeita distribuição da alíquota da diluição de solo.

TESTE DE INIBIÇÃO DO *FUSARIUM MONILIFORME* SH.

Em placas preparadas com diluição de solo, como descrito acima, após 2 dias de incubação, foi colocada sobre o meio de cultura uma suspensão de conídios de *Fusarium moniliforme* Sh., em agar água a 1,2%, a 45°C, 4 ml por placa. Após a germinação do *Fusarium moniliforme* Sh., as colônias em torno das quais se observavam halos de inibição eram repicadas para tubos com meio BDA inclinados.

PREPARO DOS SUBSTRATOS

ESTERILIZAÇÃO

A esterilização quando usada foi obtida pela autoclavagem do solo a 1 atmosfera (120°C), 3 dias consecutivos, por uma hora. Quando usada areia lavada esta foi esterilizada por autoclavagem também a uma atmosfera, por uma hora.

REINOCULAÇÃO DO SOLO

Neste caso, o solo esterilizado foi misturado com 1% (peso seco para peso seco) do mesmo solo natural e incubado por duas semanas em cubas de vidro, nas condições do meio ambiente.

SUPLEMENTAÇÕES DO SOLO

No experimento em que foi usada, a suplementação do solo foi feita com quitina ou glucose a 0,5% (peso seco de solo), na mesma ocasião da reinoculação, sendo então as amostras incubadas por duas semanas.

PREPARO DOS INÓCULOS

Partindo sempre do fungo conservado em solo (45), era este transferido para placas de Petri contendo meio MPA, destas para tubos inclinados contendo meio BDA, sendo então incubados por uma semana. Dos tubos, usando água estéril, era transferida uma suspensão de esporos para frascos contendo meio de Armstrong, que eram incubados por uma semana, sendo então filtrados em papel de filtro, lavados com água estéril para eliminar o meio de cultura, e ressuspendidos em água estéril, num volume igual ao do meio de cultura e homogeneizados em liquidificador por 30 segundos. O inóculo assim obtido era utilizado diretamente, sem diluição.

O mesmo método foi utilizado sempre para obtenção de inóculo, tanto de *Fusarium moniliforme* Sh. quanto dos prováveis antagonistas a serem testados.

MÉTODOS DE INOCULAÇÃO

PATÓGENO

Para inoculação do patógeno em plantinhas de arroz o método que apresentou melhores resultados foi o da infestação do substrato. Inoculação de sementes com micélio, quando feita logo antes da semeadura apresentou resultados semelhantes aos da infestação do substrato. A inoculação de sementes com conídios e o método de Armstrong foram inefetivos (44).

A infestação do substrato foi feita antes da semeadura, colocando-se em um sulco feito no substrato 20 ml do inóculo anteriormente descrito, em posição inferior àquela em que se

riam colocadas as sementes.

A inoculação de sementes com micélio foi feita misturando as sementes com o inóculo anteriormente descrito, em quantidade suficiente para recobrir as sementes.

PROVÁVEIS ANTAGONISTAS

Estes foram sempre inoculados por infestação do substrato, três dias antes da inoculação do *Fusarium moniliforme* Sh. Para isso, após preparados os vasos com areia lavada de rio, esterilizada, no fundo de um sulco, vertia-se 20 ml do inóculo já descrito. Os vasos foram mantidos sempre úmidos, até a semeadura.

TRATAMENTO DAS SEMENTES E SEMEADURA

As sementes foram lavadas e tratadas com Q'Boa diluída em água (1:1) por 30 minutos. Após isso eram secas à sombra e semeadas no dia seguinte, a profundidade de 1 cm, utilizando-se 20 sementes por vaso.

ISOLAMENTO DE PROVÁVEIS ANTAGONISTAS

DIRETO

Das placas de diluição de solo que receberam suspensão de conídios de *Fusarium moniliforme* Sh., os fungos que deram origem a halos de inibição do *Fusarium moniliforme* Sh. foram transferidos para tubos inclinados com meio BDA.

INDIRETO

Nos experimentos em que se usou solo natural como substrato, a parte basal das plantas que não apresentavam sintomas da doença foi cortada, desinfetada superficialmente com Q'Boa a 10% em água, por 10 minutos, e colocada em placas de Petri contendo meio MPA. Os fungos que cresceram desses segmentos foram transferidos para tubos inclinados com meio BDA.

CLASSIFICAÇÃO DOS PROVÁVEIS ANTAGONISTAS

Para classificação os fungos foram cultivados em placas contendo meio BDA e estas examinadas ao microscópio para observação das frutificações, sendo preparadas lâminas coradas com lactofenol azul, sempre que necessário.

Quando não foi possível a observação das frutificações nas placas ou em lâminas preparadas como acima, os fungos foram cultivados em lâminas. Para isso utilizou-se uma lâmina de vidro contida em uma placa de Petri, apoiada sobre um anel de vidro, sendo autoclavado o conjunto. A seguir, em condições assépticas, com uma alça, pequena quantidade de meio BDA estéril, liquefeito, era espalhada no centro da lâmina, e sobre ele semeado o fungo a ser identificado. No fundo da placa era colocada pequena quantidade de água para conservar úmido o ambiente. Após a incubação pelo tempo necessário ao desenvolvimento do fungo, as lâminas eram levadas ao microscópio, visualizando-se assim com maior facilidade suas frutificações.

As classificações dos gêneros foram feitas de acordo com Barnett (5) e Gilman (13).

CONSERVAÇÃO DOS FUNGOS

Tanto o *Fusarium moniliforme* Sh. quanto os prováveis antagonistas foram sempre conservados em solo esterilizado, conforme técnica descrita por Toussoun e Nelson (45) e sempre que foram utilizados foram obtidos a partir do solo em que estavam conservados.

RECUPERAÇÃO DO PATÓGENO

Nos ensaios em que se utilizaram plantas de arroz, a parte inferior do colmo das plantas, após tratada com Q'Boa a 10% em água, por 10 minutos, foi plaqueada em MPA, sendo as colônias formadas a partir dos segmentos de plantas transferidas para tubos inclinados com meio BDA.

AValiação DA DOENÇA

Tendo observado anteriormente (43) que o comprimento do limbo da terceira folha das plantas é uma medida que se presta à avaliação da doença, usamo-la neste trabalho, em todos os ensaios, representada em cada parcela pela média de 10 plantas tomadas ao acaso.

Os dados foram analisados estatisticamente conforme Pimentel Gomes (14).

TESTES DE ANTAGONISMO "IN VITRO"

Estes foram conduzidos em placas de Petri usando meio BDA, sendo o provável antagonista e o organismo teste (*Fusarium moniliforme* Sh.) colocados em lados opostos, ao mesmo tempo (17).

As placas de Petri foram incubadas em estufa de temperatura controlada a 28^o C.

DESCRIÇÃO DOS EXPERIMENTOS E RESULTADOS OBTIDOS

DILUIÇÃO DE SOLO E PLAQUEAMENTO

Os solos descritos em materiais foram diluídos e plaqueados conforme descrito em métodos, em duas ocasiões. Na primeira, de cada solo foram diluídas 4 amostras e de cada amostra, das diluições 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5} foram preparadas 4 placas. Após 2 dias essas placas receberam 4 ml de uma suspensão de conídios de *Fusarium moniliforme* Sh. em agar água. Na segunda, também de 4 amostras de cada solo, das mesmas diluições, foram preparadas 8 placas, sendo que 4, após 2 dias de incubação, receberam 4 ml de uma suspensão de conídios de *Fusarium moniliforme* Sh. em agar água e outras 4 não.

Quatro dias após o plaqueamento foram contadas as colônias nas placas que não receberam a suspensão de conídios, estando os resultados obtidos, transformados em número de colônias por grama de solo, expressos no Quadro III.

QUADRO III- NÚMERO DE COLÔNIAS DE FUNGOS POR GRAMA DE SOLO

Solo	Amostras de Solo			
	1	2	3	4
Capituva	28,7.10 ⁴	23,2.10 ⁴	19,7.10 ⁴	16,0.10 ⁴
Barro de Telha	29,2.10 ⁴	27,5.10 ⁴	29,5.10 ⁴	20,7.10 ⁴

Nas duas ocasiões, nas placas que receberam a suspensão de conídios de *Fusarium moniliforme* Sh., observou-se a presença de colônias que inibiram a germinação dos conídios. Estas foram repicadas para tubos inclinados com meio BDA.

Levando-se em consideração todas as placas, de todas as diluições obteve-se uma média de $1,69.10^4$ colônias por grama de solo, na série Capituva, e $1,58.10^4$ colônias por grama de solo, na série Barro de Telha, inibindo a germinação de conídios de *Fusarium moniliforme* Sh.

Os fungos obtidos nas duas ocasiões foram classificados até gênero, tendo-se obtido ao todo 15 isolados de *Trichoderma*, 7 de *Carpentelles* e 36 de *Penicillium*.

Observamos para os dois solos utilizados números de microrganismos semelhantes, bem como semelhança também na inibição de *Fusarium moniliforme* Sh.

EFEITO DA ESTERILIZAÇÃO DO SOLO NA EFICIÊNCIA DE INOCULAÇÃO DO *FUSARIUM MONILIFORME* SH.

Em 2 experimentos foram usados como substrato solos das 2 séries, naturais ou esterilizados por autoclavagem, bem como areia estéril. No primeiro deles utilizou-se apenas o cultivar IAC-435, enquanto no segundo utilizaram-se os cultivares IAC-120 e IAC-435. Em ambos foi utilizado o isolado nº 17 do patógeno, sendo a inoculação feita por infestação do substrato e inoculação de sementes com micélio, havendo para todos os casos testemunha sem *Fusarium*. O total de tratamentos foi, no primeiro experimento, 20 e, no segundo experimento, 40, sendo 6 e 3 o número de repetições, respectivamente. Em ambos os experimentos o delineamento foi inteiramente casualizado.

Os resultados obtidos nos 2 experimentos foram semelhantes, encontrando-se expressos no Quadro IV aqueles obtidos no 2º experimento, em que se utilizaram dois cultivares de arroz. As figuras I a IV mostram os resultados obtidos no primeiro dos dois experimentos.

QUADRO IV - EFEITO DA ESTERILIZAÇÃO DO SOLO NA EFICIÊNCIA DE INOCULAÇÃO DO *FUSARIUM MONILIFORME* SH.

Cultivar	Método de inoculação	Comprimento médio do limbo da 3ª folha (mm)					Médias
		Substrato					
		Natural		Estéril		Areia	
		Capit.	B.Telha	Capit.	B.Telha	Areia	
IAC-120	Sementes	210,8	197,8	253,1	184,1	184,0	206,0
	Testemunha	181,0	178,5	180,0	171,7	150,7	172,3
	Substrato	193,3	185,5	340,2	330,8	259,2	261,8
	Testemunha	171,3	188,3	181,3	170,0	170,2	176,3
IAC-435	Sementes	240,5	225,8	275,5	236,3	198,0	235,2
	Testemunha	210,3	218,8	213,7	207,3	191,7	208,4
	Substrato	216,8	219,0	374,7	337,8	292,0	288,1
	Testemunha	215,8	234,7	223,5	209,8	196,0	216,0
Médias		205,0	206,1	255,3	231,0	205,2	220,5

C.V. = 7,36%

Na análise da variância foram obtidos valores de F significativos para inóculo, método de inoculação, substrato e cultivar. A diferença significativa para inóculo reflete a eficiência do mesmo, enquanto a diferença para método de inoculação confirma aquela já obtida em trabalho anterior (44). A diferença significativa para substrato reflete, principalmente,



FIGURA I - Plantinhas de arroz do cultivar IAC-435, inoculadas com *Fusarium moniliforme* Sh., isolado 17.
1- Solo natural 2- Solo estéril 3- Areia estéril

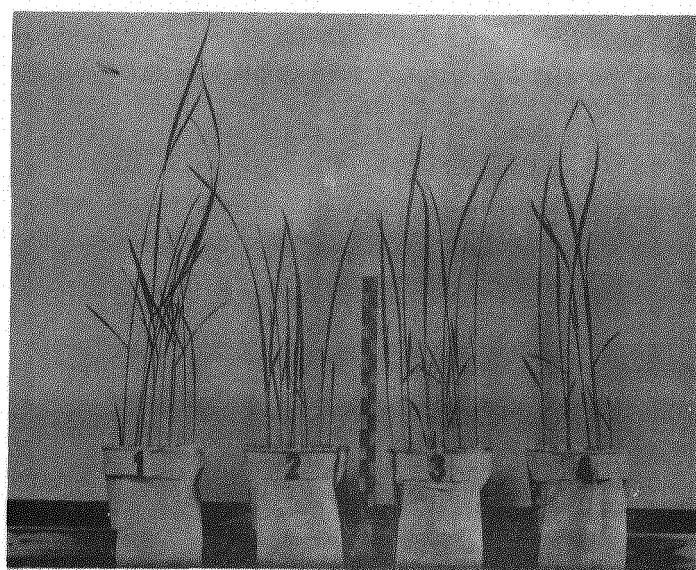


FIGURA II- Plantinhas de arroz do cultivar IAC-435, cultivadas em solo natural.
1 e 2 - Solo Capituva 3 e 4 - Solo Barro de Telha
1 e 3 - Com *Fusarium* 2 e 4 - Sem *Fusarium*

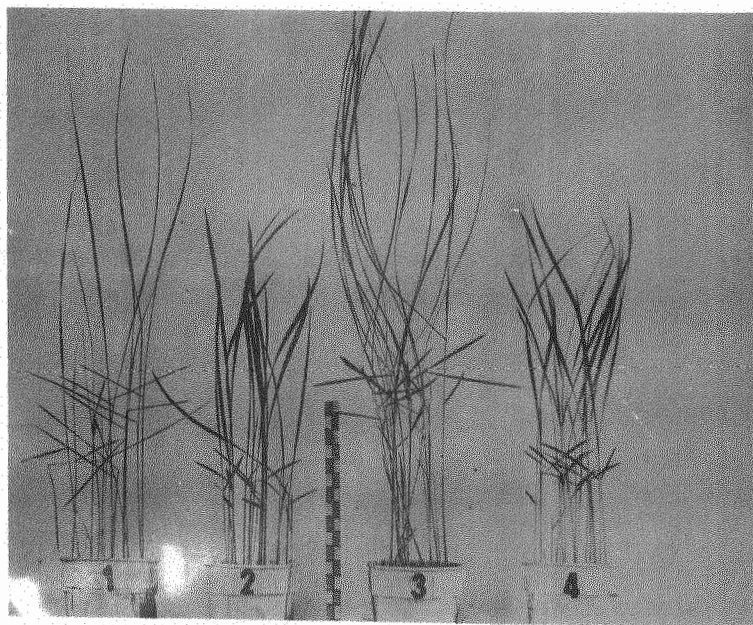


FIGURA III- Plantinhas de arroz do cultivar IAC-435, cultivadas em solo estéril.

1 e 2 - Solo Capituva

3 e 4 - Solo Barro de Telha

1 e 3 - Com *Fusarium*

2 e 4 - Sem *Fusarium*

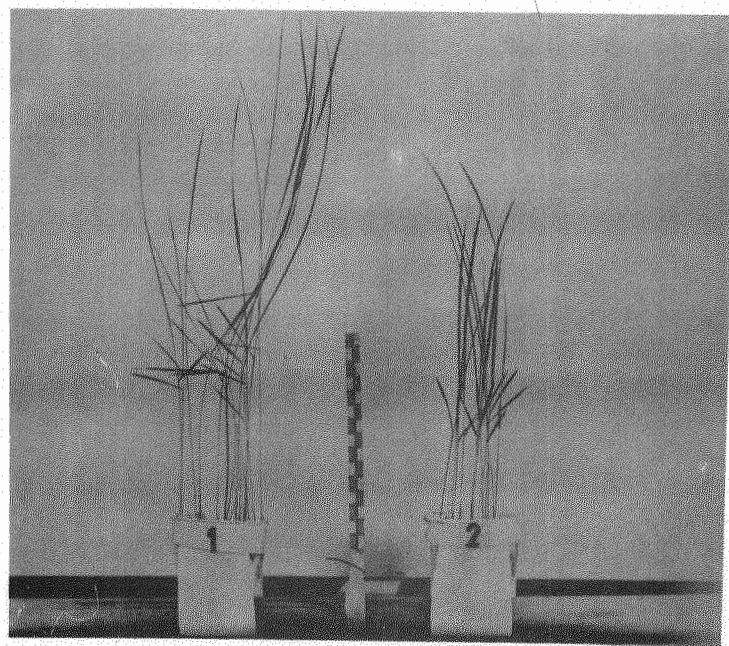


FIGURA IV - Plantinhas de arroz do cultivar IAC-435, cultivadas em areia estéril.

1 - Com *Fusarium*

2 - Sem *Fusarium*

o controle biológico proporcionado pelo substrato natural. A D.M.S. ao nível de 5% (teste de Tukey) para comparação das médias dos substratos é 13,39 mm, evidenciando diferença significativa entre os substratos naturais e esterilizados.

O valor significativo de F para cultivar reflete diferença normal de tamanho entre os dois cultivares utilizados, não ocorrendo interação entre cultivares e outros tratamentos.

A interação que apresenta maior interesse é a que ocorre entre inoculação e substrato, apresentando um valor de F significativo a 1%. Comparando os substratos dentro de inoculação, o valor da D.M.S. a 5% é 18,96 mm, evidenciando diferença significativa entre os substratos naturais e esterilizados quando inoculados, diferença que não ocorre quando não há inoculação. As plantinhas cultivadas em substrato natural apresentam nível de doença inferior àquele apresentado pelas plantinhas cultivadas em substrato estéril.

As plantinhas, nos 2 experimentos, foram plaqueadas em meio MPA, recuperando-se o patógeno dos tratamentos inoculados em que o substrato era esterilizado. Dos tratamentos em que o substrato era natural foram obtidos diversos isolados que classificados ao nível de gênero forneceram 7 *Penicillium*, 15 *Chaetomium*, 27 *Trichoderma* e 4 *Aspergillus*.

EFEITO DA REINOCULAÇÃO DO SOLO ESTERILIZADO E SUPLEMENTAÇÕES

Usando como substrato os dois solos anteriormente descritos e sementes de arroz do cultivar IAC-120, foi instalado um ensaio em que se introduziram os seguintes tratamentos do substrato: esterilização, esterilização e reinoculação e solo natural. Além disso o substrato foi suplementado com quitina ou

glucose, havendo uma testemunha sem suplementação. Todos os tratamentos foram inoculados com o isolado número 17 de *Fusarium moniliforme* Sh., havendo para todos os casos uma testemunha sem o patógeno.

O total de tratamentos foi 36, o número de repetições 3, e o delineamento inteiramente casualizado.

Os resultados obtidos encontram-se expressos no Quadro V (vide figuras V a VIII).

QUADRO V - EFEITO DA REINOCULAÇÃO DO SOLO ESTERILIZADO E SUPLEMENTAÇÃO COM QUITINA

Tipos de solo	Tratamento do solo	Isolado	Comprimento médio do limbo da terceira folha (mm)			Média
			Suplementações Quitina	Glucose	Testemunha	
Capitua	Estéril	17	216,16	174,33	220,66	203,72
		Test.	166,83	103,00	146,16	138,66
	Reinoculado	17	178,83	192,00	174,83	181,88
		Test.	187,33	117,83	166,00	157,05
	Natural	17	172,00	157,83	153,00	160,94
		Test.	179,83	121,33	142,50	147,88
Barro de Telha	Estéril	17	265,33	205,00	237,66	236,00
		Test.	181,66	93,33	192,16	155,72
	Reinoculado	17	208,16	227,83	178,50	204,83
		Test.	169,16	114,00	167,66	150,27
	Natural	17	174,66	124,00	148,66	149,11
		Test.	189,33	127,50	155,16	157,33
Média			190,77	146,49	173,58	170,28

C.V. = 8,73%

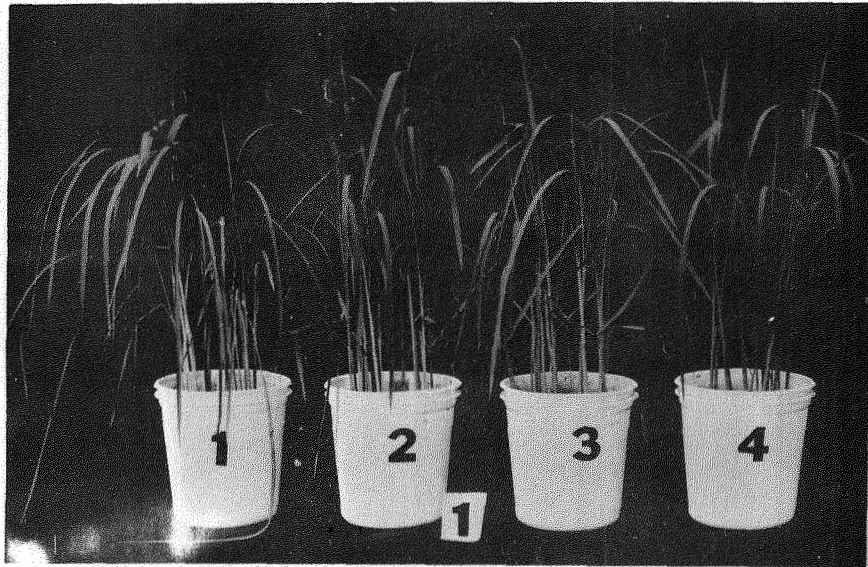


FIGURA V - Plantinhas de arroz do cultivar IAC-120, cultivadas em solo suplementado com quitina.

1 e 4 - Solo autoclavado 2-Solo reinoculado 3-Solo natural
1, 2 e 3- Com *Fusarium* 4- Sem *Fusarium*

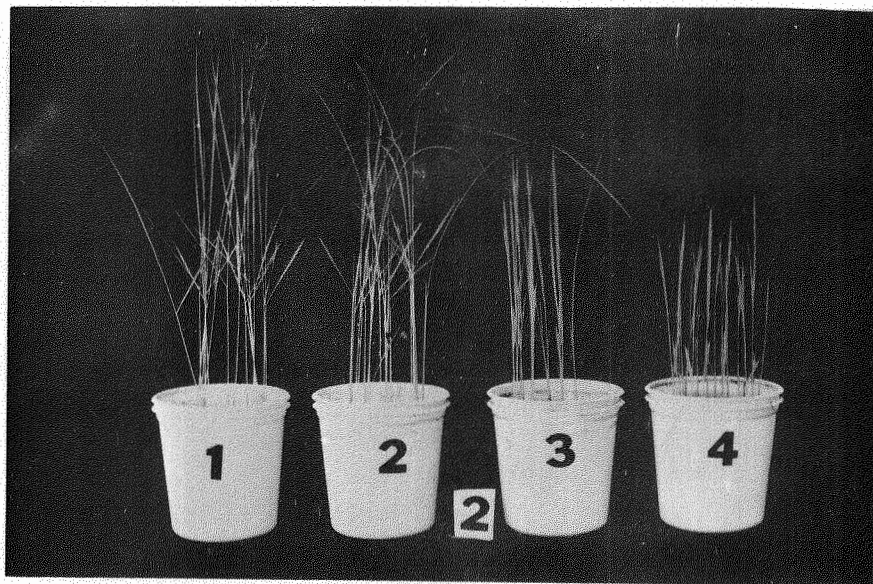


FIGURA VI- Plantinhas de arroz do cultivar IAC-120, cultivadas em solo suplementado com glucose.

1 e 4- Solo autoclavado 2-Solo reinoculado 3-Solo natural
1, 2 e 3 - Com *Fusarium* 4- Sem *Fusarium*



FIGURA VII - Plantinhas de arroz do cultivar IAC-120, cultivadas em solo sem suplementação.

1 e 4 - Solo autoclavado 2-Solo reinoculado 3-Solo natural
1, 2 e 3 - Com *Fusarium* 4- Sem *Fusarium*



FIGURA VIII- Plantinhas de arroz do cultivar IAC-120, cultivadas em solo reinoculado.

1- Suplementado com quitina 2- Suplementado com glucose
3 e 4- Sem suplementação
1, 2 e 3 - Com *Fusarium* 4- Sem *Fusarium*

Na análise da variância foram obtidos valores de F significativos para solos (atribuível à diferença de fertilidade), para inóculo (eficiência do inóculo), tratamento do solo e suas suplementações.

A D.M.S. a 5% para comparar as médias das suplementações é 8,17 mm, mostrando diferenças significativas entre suplementação com quitina, glucose e testemunha. A suplementação com quitina ocasionou maior desenvolvimento das plantas, enquanto a suplementação com glucose ocasionou desenvolvimento menor que a testemunha, com aspecto de deficiência de nitrogênio.

A D.M.S. a 5% para comparação das médias dos tratamentos do solo (autoclavagem e reinoculação) é também 8,17 mm e permite observar efeito de controle da doença em solo natural e, em menor grau, no solo reinoculado.

Foram ainda significativos os valores de F para as interações entre inóculo e tratamentos do solo, bem como entre inóculo e suplementações e a interação tripla entre estes três fatores.

A D.M.S. a 5% para inóculo dentro de tratamentos do solo é 9,92 mm, sendo o mesmo valor encontrado para inóculo dentro de suplementações.

A D.M.S. a 5% para inóculo dentro de tratamentos do solo e de suplementações é 17,24 mm.

O efeito do inóculo dentro dos tratamentos do solo evidencia o controle da doença em solo natural e, em menor grau, em solo reinoculado.

O efeito do inóculo dentro das suplementações mostra a tendência de aumento do controle pela suplementação com quitina e diminuição quando se usa glucose. A comparação de médias que proporciona observações mais interessantes é a do efeito

do inóculo dentro de suplementações e de tratamentos do solo. Neste caso observamos controle da doença nos solos reinoculados e naturais suplementados com quitina e sem suplementação, o que não ocorre nos solos suplementados com glucose. Neste caso o comportamento dos dois tipos de solo não é uniforme, observando-se efeito mais acentuado da glucose no solo Capituva. No solo autoclavado, no entanto, observamos o desenvolvimento da doença com qualquer suplementação.

TESTES DE ANTAGONISMO "IN VIVO"

Usando plantas do cultivar IAC-120, tendo como substrato areia lavada de rio, foram testados os 30 isolados que constam do Quadro II.

Os isolados foram divididos em 4 ensaios, sendo em todos eles o delineamento inteiramente casualizado, com 4 repetições. O provável antagonista foi inoculado por infestação do substrato, 3 dias antes da inoculação com *Fusarium moniliforme* Sh. que também foi feita por infestação do substrato, na véspera da sementeira, tudo conforme descrito em métodos. A avaliação também feita como descrito anteriormente, 30 dias após a sementeira. Das parcelas inoculadas com o patógeno procedeu-se ao reisolamento do mesmo, conforme anteriormente descrito.

Os resultados obtidos acham-se expressos nos Quadros VI, VII, VIII e IX.

QUADRO VI- EFEITO DE PROVÁVEIS ANTAGONISTAS SOBRE A INCIDÊNCIA DE "BAKANAE" DO ARROZ

Isolado	Comprimento médio do limbo da 3 ^a folha (mm)		Médias
	Inoculado com <i>Fusarium</i>	Não inoculado	
23	255,50 a	131,63 a	193,56
24	275,38 ab	130,88 a	203,13
26	269,38 ab	130,75 a	200,06
28	275,63 ab	124,75 a	200,19
32	270,00 ab	126,88 a	198,44
39	265,00 a	129,38 a	197,19
56	279,00 ab	126,00 a	202,50
Testemunha	291,50 b	127,00 a	209,25
Médias	272,67	128,41	200,54

C.V. = 5,57%

Obs. As médias seguidas da mesma letra, numa mesma coluna, não diferem estatisticamente.

Na análise da variância o valor de F para o efeito do patógeno foi altamente significativo, não sendo significativo para o efeito dos prováveis antagonistas. Tendo ocorrido interação entre os dois efeitos (valor significativo de F), calculamos a D.M.S. a 5% para o efeito de antagonistas dentro da inoculação, obtendo o valor 23,92 mm.

Comparando as médias dos prováveis antagonistas na coluna inoculada com o patógeno observamos efeito significativo dos isolados 23 e 39, reduzindo o nível da doença, em relação à testemunha. Comparando as médias na coluna não inoculada, observamos que os valores não diferem entre si.

QUADRO VII - EFEITO DE PROVÁVEIS ANTAGONISTAS SOBRE A INCIDÊNCIA DE "BAKANAÉ" DO ARROZ

Isolado	Comprimento médio do limbo da 3ª folha (mm)		Médias
	Inoculado com <i>Fusarium</i>	Não inoculado	
57	208,00 b	112,63 a	153,50 ab
63	196,75 a	111,50 a	154,13 ab
64	200,50 a	113,50 a	157,00 ab
68	224,38 c	110,25 a	167,31 c
69	233,25 cd	114,63 a	173,94 cd
85	240,63 d	113,13 a	176,88 d
87	207,00 b	111,00 a	159,00 b
88	204,00 b	109,00 a	156,50 ab
Testemunha	191,63 a	113,00 a	152,25 a
Médias	211,90	112,07	161,28

C.V. = 2,70%

Obs. As médias numa mesma coluna seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente.

Na análise da variância os valores de F para efeito do patógeno, efeito de prováveis antagonistas e interação entre os dois efeitos foram significativos ao nível de 1%.

A D.M.S. a 5% para comparação das médias dos prováveis antagonistas é 6,68 mm, e para a comparação das médias destes dentro da inoculação com *Fusarium* 9,60 mm.

Nas parcelas inoculadas com o patógeno observamos efeito significativo dos isolados 57, 68, 69, 85, 87 e 88, elevando o nível da doença em relação à testemunha. Nas parcelas não inoculadas observamos que os dados não diferem significativamente.

QUADRO VIII - EFEITO DE PROVÁVEIS ANTAGONISTAS SOBRE A INCIDÊNCIA DE " BAKANAÉ " DO ARROZ

Isolado	Comprimento médio do limbo da 3. ^a folha (mm)		Médias
	Inoculado com <i>Fusarium</i>	Não inoculado	
89	266,00 bc	118,87 a	192,43 a
90	247,37 ab	116,50 a	181,93 a
94	256,87 abc	131,75 ab	194,31 a
96	242,87 a	147,25 b	195,06 a
98	249,00 abc	129,12 ab	189,06 a
99	237,12 a	126,12 ab	181,62 a
100	249,12 abc	126,37 ab	187,75 a
Testemunha	270,75 c	124,25 a	197,50 a
Médias	252,39	127,53	189,96

C.V. = 5,60%

Obs. As médias numa mesma coluna seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente.

Na análise da variância os valores de F foram significativos para efeito do patógeno, efeito de prováveis antagonistas e interação entre os dois efeitos.

A D.M.S. a 5% para comparação das médias dos prováveis antagonistas é 16,10 mm e das médias dos prováveis antagonistas dentro da inoculação com *Fusarium* é 22,79 mm.

Pela comparação das médias observamos que os isolados 90, 96 e 99 interagiram com o patógeno reduzindo significativamente os níveis da doença.

QUADRO IX - EFEITO DE PROVÁVEIS ANTAGONISTAS SOBRE A INCIDEN-
CIA DE "BAKANAE" DO ARROZ

Isolado	Comprimento médio do limbo da 3. ^a folha (mm)		Médias
	Inoculado com <i>Fusarium</i>	Não ino- culado	
110	245,50	132,13	188,81
120	254,13	128,00	191,06
121	251,13	126,63	193,88
123	247,88	130,63	189,25
125	258,38	135,25	196,81
128	245,50	129,88	187,69
132	261,13	132,00	196,56
134	256,88	122,38	189,63
Testemunha	266,38	133,13	199,75
Médias	254,10	131,11	192,60

C.V. = 6,26%

Na análise da variância os valores de F, com exceção do calculado para efeito da inoculação com o patógeno, não foram significativos.

TESTES DE ANTAGONISMO "IN VITRO"

Estes testes foram conduzidos em placas de Petri de 12 cm de diâmetro, com meio BDA. Da margem de colônias em meio MPA foram transferidos discos de micélio de 5 mm de diâmetro, cortados com um furador de rolhas, para as placas com meio BDA. Em cada placa foi colocado um provável antagonista e o *Fusarium moniliforme* Sh. em lados opostos, conservando entre si uma distância de 6 cm. O delineamento foi inteiramente casualizado e o número de repetições 4.

O desenvolvimento das colônias foi observado diariamente e após 14 dias foi medido o desenvolvimento da colônia do *Fusarium moniliforme* Sh., a partir do ponto de semeadura, em direção ao provável antagonista. Foram medidos também os halos de inibição, quando produzidos.

Os resultados obtidos acham-se expressos nos Quadros X e XI.

Apenas os isolados 24, 94, 99 e 128 não reduziram significativamente o crescimento do *Fusarium moniliforme* Sh. em meio BDA.

Quanto à produção de halos de inibição houve variação significativa, destacando-se os isolados 23, 99 e 110 por produzirem os maiores halos, significativamente, e os isolados 24, 69, 94, 96 e 128 por produzirem os menores halos. Os demais isolados produziram halos cujas medidas se agruparam no centro, sendo que nem todos diferiram significativamente dos extremos.

QUADRO X - EFEITO ANTAGÔNICO DOS DIFERENTES ISOLADOS A
FUSARIUM MONILIFORME SH. "IN VITRO"

ISOLADO	CRESCIMENTO DA COLONIA DE <i>FUSARIUM</i> (mm)				MÉDIA	
	REPETIÇÕES					
23	26	28	27	25	26,50	def
24	27	26	28	28	27,25	defg
26	25	24	29	25	25,75	def
28	26	25	27	25	25,75	def
32	26	25	27	26	26,00	def
39	25	26	27	26	26,00	def
56*	15	16	15	15	15,25	c
57*	24	20	22	24	22,50	d
63*	18	29	25	30	25,50	def
64*	24	23	24	24	23,75	de
68	15	15	20	14	16,00	c
69	23	26	25	22	24,00	de
85**	9	8	5	11	8,25	a
87**	7	9	10	10	9,00	ab
88**	13	12	13	14	13,00	abc
89**	10	11	12	12	11,25	abc
90**	15	14	15	13	14,25	bc
94	28	29	33	29	29,75	fg
96	24	27	29	26	26,50	def
98	25	26	24	28	25,75	def
99	29	30	27	28	28,50	efg
100	26	25	27	23	25,25	def
110	24	25	25	29	25,75	def
120	26	20	24	24	23,50	de

121	25	20	24	22	22,75	d
123	25	23	20	25	23,25	de
125	15	25	24	24	22,00	d
128	28	27	26	28	27,25	defg
132*	24	23	24	25	24,00	de
134*	25	25	24	25	24,75	def
Testemunha	33	32	33	31	32,25	g

C.V. = 8,81%

D.M.S. -5% = 5,64 mm

* - Não produziram halo de inibição.

** - O provável antagonista cresce em volta da colônia de

Fusarium moniliforme Sh.

Obs. As médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente.

QUADRO XI - EFEITO ANTAGÔNICO DOS ISOLADOS A *FUSARIUM MONILIFORME* SH. "IN VITRO"

Isolado	Halos de inibição em mm				Médias
	Repetições				
23	4,8	5,8	6,0	8,2	6,20 ab
24	0,8	0,6	0,6	0,6	0,65 f
26	3,6	4,6	5,2	3,6	4,25 cde
28	2,6	3,2	3,0	2,6	2,85 cdef
32	1,4	2,6	2,4	1,6	2,00 def
39	2,0	1,6	2,4	1,2	1,80 def
68	1,2	-	3,2	2,6	2,33 cdef
69	1,4	1,0	1,0	0,8	1,05 f
94	1,6	1,2	1,2	1,2	1,30 ef
96	0,6	1,0	0,8	0,6	0,75 f
98	3,0	7,4	4,6	3,4	4,60 abcd
99	6,0	5,8	9,6	6,0	6,85 a
100	4,6	4,4	4,8	3,6	4,35 abcd
110	4,2	3,8	10,6	6,6	6,30 ab
120	3,0	3,2	4,2	3,4	3,45 bcdef
121	5,0	4,6	4,8	2,6	4,25 abcde
123	3,8	-	2,6	2,8	3,06 cdef
125	4,2	4,6	6,4	5,8	5,25 abc
128	1,0	1,0	0,6	0,8	0,85 f

C.V. = 35,06% D.M.S. - 5% = 2,99mm

Obs, As médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente.

DISCUSSÃO

Embora a constituição física e química dos solos difira consideravelmente, a população fúngica de ambos é numericamente semelhante. Trata-se de solos submetidos a uma mesma cultura e ao mesmo regime de inundação o que talvez possa ter concorrido para que esta semelhança ocorresse. Também quanto ao número de colônias inibindo *Fusarium moniliforme* Sh. os dois solos se assemelham.

Observamos para os dois solos um efeito natural de controle biológico do *Fusarium moniliforme* Sh., efeito esse que é mais evidente quando se inocula o patógeno por infestação do substrato. Essa maior evidência do controle deve-se apenas à superioridade do método de inoculação, o que está de acordo com trabalho anterior (44).

Os cultivares comportam-se de maneira uniforme em relação ao inóculo e substratos, o que nos levou em experimentos posteriores a utilizar apenas um cultivar de arroz.

Com a finalidade de tornar mais evidente a natureza biológica do controle em solo natural procuramos lançar mão da reinoculação do solo esterilizado e também de suplementações, procurando evidenciar a influência que estas teriam no controle.

A suplementação com quitina produziu um efeito nas plantas semelhante àquele produzido por uma adubação nitrogenada. Provavelmente organismos quitinolíticos presentes no solo tenham-na decomposto, com mineralização do nitrogênio que assim se tornou disponível para as plantas. Por outro lado, a suplementação com glucose ocasionou nas plantas sintomas semelhantes àqueles produzidos pela deficiência de nitrogênio. O for-

necimento de carbono orgânico deve ter favorecido o desenvolvimento de microrganismos do solo, ocasionando consequentemente a imobilização do nitrogênio que deve ter sido a causa dessa deficiência. O fato desse tipo de sintoma ter sido mais evidente no solo da série Capituva, mais pobre em carbono orgânico vem reforçar essa hipótese.

O efeito de controle biológico do "bakanae" oferecido pelo solo natural continua evidente no experimento em que se procedeu à reinoculação do solo esterilizado, ocorrendo também, em menor grau, no solo reinoculado.

O efeito da quitina foi bastante evidente favorecendo o controle biológico em solo natural e reinoculado, enquanto a suplementação com glucose chega a prejudicá-lo em solo natural. Em solo autoclavado a quitina não oferece qualquer efeito de controle, evidenciando a natureza biológica do mesmo, estando os dados de acordo com aqueles citados na revisão bibliográfica (39).

Procurando verificar o efeito dos microrganismos isolados, separadamente, observamos que os isolados 23, 39, 90, 96 e 99 apresentaram efeito, reduzindo o nível da doença, significativamente. Destes isolados apenas o 90 pertence ao gênero *Trichoderma*, sendo os demais do gênero *Penicillium*.

Os isolados 57, 68, 69, 85, 87 e 88 interagiram com o *Fusarium moniliforme* Sh. ocasionando aumento no nível da doença. Em ausência do patógeno estes microrganismos não produziram qualquer efeito nas plantinhas de arroz, evidenciando a ocorrência de interação. Estes isolados, pertencentes aos gêneros *Chaetomium*, *Aspergillus* e *Trichoderma*, parecem ter, de alguma maneira favorecido o desenvolvimento ou penetração do *Fusarium moniliforme* Sh. Desses isolados os tres primeiros foram obtidos de tecidos de arroz, o que nos permite aventar a hipótese

de que possam favorecer a penetração do patógeno nas plantinhas de arroz. Pode também ocorrer que esses fungos do solo forneçam nutrientes ao *Fusarium moniliforme* Sh., favorecendo seu desenvolvimento e subsequente penetração nas plantinhas de arroz.

Todos os isolados que, nos testes de antagonismo "in vivo", evidenciaram controle da doença em algum nível são provenientes do solo por isolamento direto. Nenhum dos fungos provenientes de tecidos de arroz ofereceu controle da doença em qualquer nível. Esses fatos permitem formular a hipótese de que, neste caso, o controle se processa no solo, antes da penetração do patógeno na planta, e não como se observou em estudo de controle biológico de *Fusarium oxysporum* f. *phaseoli* em feijoeiro, onde foi observada a ocorrência de fungos promovendo o controle biológico dentro dos tecidos da planta(9).

Nos testes de antagonismo "in vitro" observamos inibição do crescimento do *Fusarium moniliforme* Sh. por todos os isolados, com exceção do 24, 94, 99 e 128. Dentre estes, o isolado 99 reduziu significativamente o nível da doença "in vivo". No entanto, quanto à produção de halos de inibição o mesmo isolado 99 encontra-se entre aqueles que o produziram maior. Da mesma forma, o isolado 23 que proporcionou controle "in vivo" encontra-se entre os que produziram maior halo de inibição. Com exceção do isolado 90, do gênero *Trichoderma*, todos os isolados que proporcionaram controle "in vivo" também produziram halos de inibição. A formação de halo de inibição evidencia a produção, pelo microrganismo, de substância que impede o desenvolvimento do organismo teste, no caso o *Fusarium moniliforme* Sh. Este fato leva-nos a pensar que o controle neste caso seja atribuível à produção pelos microrganismos do solo

próximo às raízes, de substâncias que impeçam o desenvolvimento do patógeno e conseqüentemente sua penetração. No caso do microrganismo do gênero *Trichoderma*, cujo crescimento muito mais rápido que o do *Fusarium moniliforme* Sh. impede o desenvolvimento deste "in vitro", acreditamos que o controle seja atribuível à sua taxa de crescimento muito elevada que interfere com o desenvolvimento do patógeno, por falta de nutrientes adequados.

CONCLUSÕES

1. As populações fúngicas dos solos estudados são numericamente semelhantes.

2. Ocorre nos solos estudados um efeito natural de controle biológico do *Fusarium moniliforme* Sh., que pode ser anulado pela esterilização do solo e restaurado pela sua re inoculação com solo natural.

3. A suplementação do solo com quitina favorece a ocorrência desse controle, enquanto a suplementação com glucose a prejudica.

4. Quatro isolados de *Penicillium* e um de *Trichoderma* reduzem a incidência da doença, quando comparados com os outros tratamentos. Todos esses isolados são provenientes do solo, por isolamento direto.

5. Todos os isolados que apresentaram controle da doença "in vivo" mostraram algum efeito sobre o *Fusarium moniliforme* Sh. "in vitro".

RESUMO

Em dois solos normalmente cultivados com arroz, da região do Vale do Paraíba foi realizado o levantamento da população fúngica. Esses dois solos apresentaram um efeito natural de controle biológico do *Fusarium moniliforme* Sh., agente causal do "bakanae" do arroz. Esse controle pode ser anulado pela esterilização do solo e restaurado pela sua reinoculação com solo natural. Suplementação dos solos com quitina favorece esse controle biológico enquanto a suplementação com glucose o prejudica.

Fungos isolados do solo diretamente e também indiretamente, de plantas de arroz cultivadas nesses solos foram testados no controle do *Fusarium moniliforme* Sh., por infestação do substrato. Observou-se que quatro isolados de *Penicillium* e um de *Trichoderma*, todos provenientes diretamente do solo controlaram "in vivo" o *Fusarium moniliforme* Sh., reduzindo os níveis da doença, em experimentos de casa de vegetação.

SUMMARY

Two different soil series of Taubaté and Pindamonhangaba were analysed for their fungal populations. Both presented a natural biological control of *Fusarium moniliforme* Sh., the causal agent of "bakanae" disease in rice. This control may be nullified by autoclaving the soil and may be restored by its reinoculation with natural soil. Supplementation with chitin favors the biological control whereas glucose is harmful, diminishing the disease control.

Some fungi isolated directly from soil and others isolated from rice plants cultivated in these soils were tested in controlling *Fusarium moniliforme* Sh., by substrate infestation. Four *Penicillium* and one *Trichoderma* isolates, all directly isolated from soil reduced the disease level "in vivo", in greenhouse experiments.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALDRICH, JANE & BAKER, R. - Biological control of *Fusarium roseum* f. sp. *dianthi* by *Bacillus subtilis*. *Plant Dis. Rep.*, 54:446-8, 1970.
2. AMARAL, REGINA E. M. - Estudos sobre a doença "bakanae" do arroz. *Biológico*, 36:235-40, 1970.
3. ATKINS, J. G. - First report of the "bakanae" disease of rice for USA and preliminary studies on growth stimulation by cultural filtrates. *Plant Dis. Rep.*, 41:860-2, 1957.
4. BALDACCI, E. - Recherche ed esperienze sulla malattie del riso. III. Sulla biologia ed sulla patogenicità dei ceppi italiani del *Fusarium moniliforme* Sh. *Atti Ist. Bot. Univ. Lab. Crittogam. Pavia*, Ser. 5. 5: 190-248, 1945.
5. BARNETT, H. L. - *Illustrated genera of imperfect fungi*. 2nd ed. Minneapolis, Burgess Publishing Co., 1960. 225 p.
6. BAXBY, PAMELA & GRAY, T. R. G. - Chitin decomposition in soil. I. Media for isolation of chitinoclastic micro-organisms from soil. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 51:287-92, 1968.
7. BENSON, D. M. & BAKER, R. - Rhizosphere competition in model soil systems. *Phytopathology*, 60:1058-61, 1970.
8. BUMBIERIS, M. & LLOYD, A. B. - Influence of nutrients on lysis of fungal hyphae in soil. *Aust. J. Biol. Sci.*, 20:1169-72, 1967.
9. CARDOSO, ELKE J. B. N. - Contribuição ao estudo do controle biológico da murcha de *Fusarium oxysporum* f. pha-

- seoli* (Schlecht) Kendr. e Snyder. em *Phaseolus vulgaris* L. Piracicaba, 1968. (Tese - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz") 58p.
10. CHANG, I. & KOMMEDAHL, T. - Biological control of seedling blight of corn by coating kernels with antagonistic micro-organisms. *Phytopathology*, 58:1395-401, 1968.
11. DHINGRA, O. D. & KHARE, M. N. - Biological control of *Rhizoctonia bataticola* on urid bean. *Phytopatol. Z.*, 76:23-9, 1973.
12. GARRET, S. D. - Toward biological control of soil borne plant pathogens. In: BAKER, K. F. & SNYDER, W. C. ed. *Ecology of soil-borne plant pathogens*. Berkeley, Univ. California Press, 1965. p. 4-17.
13. GILMAN, J. C. - *A manual of soil fungi*. Ames, Iowa State College Press, 1957. 450 p.
14. GOMES, F. P. - *Curso de estatística experimental*. 4^a ed. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 1970. 430 p.
15. GRIFFIN, G. J. - Production of a fungistatic effect by soil microflora in autoclaved soil. *Phytopathology*, 52:90-1, 1962.
16. HORA, T. S. & BAKER, R. - Soil fungistasis: Microflora producing a volatile inhibitor. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 59:497-500, 1972.
17. JOHNSON, L. F.; CURL, E. A.; BOND, J. H.; FRIBOURG, H. A. - *Methods for studying soil microflora-plant disease relationships*. Minneapolis, Burgess Publishing Co., 172 p.
18. JONES, D. & WEBLEY, D. M. - A new enrichment technique for

- studying lysis of fungal cell walls in soil. *Plant Soil*, 28:147-57, 1968.
19. KERR, A. - A study of tomato root surface organisms antagonistic to *Verticillium albo-atrum*. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 44:365-71, 1961.
 20. KO, W. & LOCKWOOD, J. L. - Mechanism of lysis of fungal mycelia in soil. *Phytopathology*, 60:148-54, 1970.
 21. KUO, T. T. & YANG, S. E. - Physiology of "bakanae" disease. 1. Effect of GA₃ on the metabolic changes in germinating rice seeds. *Bot. Bull. Acad. Sin., Taipei*, 8:199-206, 1967.
 22. LIM, G. - *Fusarium* populations in rice field soils. *Phytopathology*, 57:1152-3, 1967.
 23. LLOYD, A. B. & LOCKWOOD, J. L. - Lysis of fungal hyphae in soil and its possible relation to autolysis. *Phytopathology*, 56:595-602, 1966.
 24. LLOYD, A. B.; NOVEROSKE, R. L.; LOCKWOOD, J. L. - Lysis of fungal mycelium by *Streptomyces* spp. and their chitinase systems. *Phytopathology*, 55:871-5, 1965.
 25. LOCKWOOD, J. L. & LINGAPPA, B. T. - Fungitoxicity of sterilized soil inoculated with soil microflora. *Phytopathology*, 53:917-20, 1963.
 26. MITCHELL, R. & ALEXANDER, M. - Microbiological processes associated with the use of chitin for biological control. *Soil Sci. Soc. Proc.*, 556-8, 1963.
 27. MITCHELL, R. - Addition of fungal cell-wall components to soil for biological disease control. *Phytopathology*, 53: 1068-71, 1963.
 28. OKAFOR, N. - Ecology of micro-organisms on chitin buried in soil. *J. Gen. Microbiol.*, 44:311-27, 1966.

29. OLD, K. M. - Fungistatic effects of soil bacteria on root-rotting fungi with particular reference to *Helminthosporium sativum*. *Phytopathology*, 55:901-5, 1965.
30. OU, S. H. - Bakanae disease and foot rot. In: _____
Rice diseases. Kew, Surrey, Commonwealth Mycological Institute, 1972. p. 247-56.
31. PADMAVATHY, K. & RAMARAO, P. - A study of fungistasis in Indian soils. *Indian Phytopathol.*, 23:100-4, 1970.
32. PADWICK, G. W. - Bakanae disease and foot rot. In: _____
Manual of rice diseases. Kew, Surrey, Commonwealth Mycological Institute, 1950. p. 74-84.
33. PAPAIVIZAS, G. C. - Survival of root-infecting fungi in soil. XI. Survival of *Rhizoctonia solani* as affected by inoculum concentration and various soil amendments. *Phytopathol. Z.*, 64:101-12, 1971.
34. PAVGI, M. S. & SINGH, J. - Bakanae and foot rot of rice in Uttar Pradesh, India. *Plant Dis. Rep.*, 48:340-2, 1964.
35. ROMINE, MAUREEN & BAKER, R. - Soil fungistasis. Evidence for an inhibitory factor. *Phytopathology*, 63:756-9, 1973.
36. SCHIPPERS, B. & DE WEYER, W. M. M. M. - Chlamydospore formation and lysis of macroconidia of *Fusarium solani* f. *cucurbitae* in chitin-amended soil. *Neth. J. Plant. Pathol.*, 78:45-54, 1972.
37. SETO, F. - The reactions of rice seedlings to infection of the causal fungus of the "bakanae" disease and to filtrates of its cultures. *Mem. Coll. Agric. Kyoto Imp. Univ.*, 7:23-8, 1928.
38. SHIPTON, P. J.; COOK, R. J.; SITTON, J. W. - Occurrence

- and transfer of a biological factor in soil that suppresses take-all of wheat in Eastern Washington. *Phytopathology*, 63:511-7, 1973.
39. SNEH, B.; KATAN, J.; HENIS, Y. - Mode of inhibition of *Rhizoctonia solani* in chitin-amended soil. *Phytopathology*, 61:1113-7, 1971.
40. SNEH, B. & HENIS, Y. - Production of antifungal substances active against *Rhizoctonia solani* in chitin-amended soil. *Phytopathology*, 62:595-600, 1972.
41. STEINER, G. S. & LOCKWOOD, J. L. - Soil fungistasis: Mechanism in sterilized, reinoculated soil. *Phytopathology*, 60:89-91, 1970.
42. TAINTER, F. H. & GUBLER, W. D. - Natural biological control of oak wilt in Arkansas. *Phytopathology*, 63:1027-31, 1973.
43. TOLEDO, A. C. D. & CARDOSO, C. O. N. - Relação entre patogenicidade de *Fusarium moniliforme* Sh. ao arroz e capacidade de produção de giberelina "in vitro". *Arq. Inst. Biol., São Paulo*, 41(4): 1974 (no prelo).
44. TOLEDO, A. C. D. & CARDOSO, ELKE J. B. N. - Eficiência comparada de métodos de inoculação de *Fusarium moniliforme* Sh. em platinhas de *Oryza sativa* L. (Apresentado ao Congresso da Sociedade Brasileira de Microbiologia, 5º, Rio de Janeiro, 1974)
45. TOUSSOUN, T. A. & NELSON, P. E. - *A pictorial guide to the identification of Fusarium species*. University Park, Pennsylvania State University Press, 1968. 51 p.
46. TUIITE, J. - *Plant pathological methods. Fungi and bacteria*.

Minneapolis, Burgess Publishing Co., 1968. 239 p.

47. VERDADE, F. C.; HUNGRIA, L. S.; RUSSO, R.; NASCIMENTO, A. C.; GROHMAN, F.; MEDINA, H. P. - Solos da Bacia de Taubatê (Vale do Paraíba). *Bragantia*, 20:43-322, 1961.

A P Ê N D I C E

TABELA I - DADOS EXPERIMENTAIS DO ENSAIO DE ESTERILIZAÇÃO DO SOLO

SUBSTRATO	COMPRIMENTO DO LIMBO DA TERCEIRA FÓLHA (mm)											
	CULTIVAR	Método de inoculação			Infestação do substrato							
		Inoculação das sementes Isolado	Testemunha	17	Isolado	Testemunha						
Capituva natural	228,5	188,0	216,0	177,0	183,0	183,0	189,5	210,5	180,0	171,5	168,0	174,5
Capituva estéril	241,5	244,5	235,5	180,0	224,0	227,0	180,0	219,5	206,0	210,0	208,0	229,5
B.de Telha natural	227,0	254,5	278,0	181,0	166,5	192,5	181,0	344,0	345,5	184,0	187,5	173,0
B.de Telha estéril	286,5	276,0	264,0	201,5	221,0	218,5	201,5	359,5	380,5	204,5	223,0	243,0
Areia es-téril	199,0	209,5	185,0	178,5	167,0	190,0	178,5	194,5	195,0	195,5	182,0	187,5
	182,0	275,5	220,0	214,0	207,0	235,5	214,0	211,5	250,0	208,5	239,5	256,0
	184,5	193,5	174,5	162,5	172,0	180,5	162,5	336,5	304,5	173,5	170,0	166,5
	232,5	230,0	246,5	199,5	191,0	231,5	199,5	340,5	351,0	205,5	216,0	208,0
	183,5	186,5	182,0	148,5	138,0	165,5	148,5	237,5	272,5	165,0	170,0	175,5
	188,0	189,0	217,0	187,0	201,0	187,0	187,0	271,5	298,5	195,5	193,5	199,0

TABELA II - ANÁLISE DA VARIÂNCIA DO ENSAIO DE ESTERILIZAÇÃO DO SOLO

Causa de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
1. Inóculo	1	89216,53	89216,53	338,07**
2. Método de inoculação	1	27060,03	27060,03	102,54**
3. Substrato	4	48042,89	12010,72	45,51**
4. Cultivar	i	32275,20	32275,20	122,30**
Interação 1 x 2	1	17690,41	17690,41	67,03**
" 1 x 3	4	47441,82	11860,46	44,94**
" 1 x 4	1	765,08	765,08	2,90
" 2 x 3	4	25572,57	6393,14	24,23**
" 2 x 4	1	1,01	1,01	0,00383
" 3 x 4	4	234,98	58,75	0,22
" 1 x 2 x 3	4	25900,07	6475,02	24,54**
" 2 x 3 x 4	4	871,98	218,00	0,83
" 1 x 3 x 4	4	15,66	3,92	0,015
" 1 x 2 x 4	1	83,33	83,33	0,32
" 1 x 2 x 3 x 4	4	1439,10	359,78	1,36
Total tratamentos	39	316610,66	-	
Resíduo	80	21112,33	263,90	
T O T A L	119	337722,99		

TABELA III - DADOS EXPERIMENTAIS DO ENSAIO DE REINOCULAÇÃO E SUPLEMENTAÇÃO DO SOLO

SOLO	TRATAMENTO	ISOLADO	COMPRIMENTO DO LIMBO DA TERCEIRA FOLHA (mm)								
			Quitina			Glucose			Sem Suplementação		
SUPLEMENTAÇÃO DO SOLO											
CAPI-TUVA	Autoclavado	17	233,0	214,5	201,0	172,0	191,0	160,0	230,0	236,5	195,5
	Reinoculado	Testemunha	157,0	168,0	175,5	96,0	111,5	101,5	146,5	144,5	147,5
	Natural	17	189,5	189,0	158,0	188,0	193,0	195,0	170,0	174,5	180,0
		Testemunha	166,5	207,0	188,5	130,0	119,0	104,5	161,5	170,0	166,5
BARRO DE TELHA	Autoclavado	17	171,0	167,5	177,5	167,0	150,5	156,0	158,5	158,5	142,0
	Reinoculado	Testemunha	177,0	173,0	189,5	113,5	114,0	136,5	133,0	150,5	144,0
	Natural	17	290,5	247,0	258,5	212,5	214,0	188,5	261,0	228,0	224,0
		Testemunha	171,5	173,0	200,5	100,5	91,0	88,5	195,0	218,5	163,0
BARRO DE TELHA	Autoclavado	17	228,5	206,0	190,0	220,0	232,0	231,5	173,0	177,0	185,5
	Reinoculado	Testemunha	163,5	173,0	171,0	107,5	125,0	109,5	153,5	194,5	155,0
	Natural	17	173,5	172,5	178,0	116,5	118,0	137,5	143,5	148,0	154,5
		Testemunha	211,0	207,5	149,5	140,0	138,5	104,0	137,5	167,0	161,0

TABELA IV - ANÁLISE DA VARIÂNCIA DO ENSAIO DE REINOCULAÇÃO
E SUPLEMENTAÇÃO DO SOLO

Causa da Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
1. Solos	1	2987,2	2987,20	13,51 **
2. Tratamentos do Solo	2	16448,2	8224,10	37,19 **
3. Suplement. do Solo	2	35876,2	17938,10	81,12 **
4. Inóculo	1	39521,9	39521,90	178,73 **
Interação 1 x 2	2	3090,4	1545,20	6,99 **
" 1 x 3	2	549,4	274,70	1,24
" 1 x 4	1	420,1	420,10	1,90
" 2 x 3	4	9145,9	2286,48	10,34 **
" 2 x 4	2	21236,2	10618,10	48,02 **
" 3 x 4	2	11412,4	5706,20	25,80 **
" 1 x 2 x 3	4	1371,9	342,98	1,55
" 2 x 3 x 4	4	5717,2	1429,30	6,46 **
" 1 x 2 x 4	2	4104,2	2053,10	9,28 **
" 1 x 3 x 4	2	1870,0	935,00	4,23 *
" 1 x 2 x 3 x 4	4	666,3	166,58	0,75
Total tratamentos	35	154419,5	-	
Resíduo	72	15921,7	221,13	
T O T A L	107	170341,2		

TABELA V - DADOS EXPERIMENTAIS DOS TESTES DE ANTAGONISMO"IN VIVO" (experimento nº 1)

ISOLADOS	Com <i>Fusarium</i>				Testemunha			
23	253,5	248,5	263,5	256,5	131,5	132,5	133,0	129,5
24	262,0	289,5	294,0	256,0	136,5	128,0	132,0	127,0
26	279,0	276,5	259,0	263,0	133,0	128,5	132,5	129,0
28	320,0	263,5	271,5	247,5	130,0	132,0	118,5	118,5
32	258,5	285,5	278,5	257,5	124,0	125,0	125,0	133,5
39	271,0	261,5	263,5	264,0	130,5	129,0	128,5	129,5
56	279,0	282,5	278,5	276,0	125,0	126,0	125,0	128,0
Testemunha	289,5	309,5	284,5	282,5	129,5	133,0	118,0	127,5

TABELA VI - DADOS EXPERIMENTAIS DOS TESTES DE ANTAGONISMO"IN VIVO" (experimento nº 2)

ISOLADOS	Com <i>Fusarium</i>				Testemunha			
57	217,5	228,5	178,0	-	121,5	115,5	107,0	106,5
63	199,5	177,0	195,0	215,5	110,0	110,0	114,0	112,0
64	193,0	202,5	234,5	172,0	106,5	116,5	109,5	121,5
68	219,5	214,0	223,0	241,0	108,5	106,0	111,0	115,5
69	237,0	227,0	243,0	226,0	119,0	116,5	110,5	112,5
85	253,5	241,5	244,5	223,0	125,0	118,0	99,5	110,0
87	216,0	228,5	202,0	181,5	105,0	124,5	107,0	107,5
88	216,0	178,5	192,5	229,0	116,0	107,5	98,0	114,5
Testemunha	183,5	211,0	177,0	195,0	121,0	112,5	112,0	106,5

TABELA VII - DADOS EXPERIMENTAIS DOS TESTES DE ANTAGONISMO
"IN VIVO" (experimento nº3)

ISOLADOS	Com <i>Fusarium</i>				Testemunha			
89	265,0	270,0	280,0	249,0	123,0	108,5	122,5	121,5
90	240,5	251,0	245,5	252,5	118,5	110,0	119,5	118,0
94	269,0	228,5	261,0	269,0	131,5	147,5	128,0	120,0
96	227,0	250,0	238,0	256,5	139,5	154,0	141,0	154,5
98	251,5	260,0	236,0	248,5	114,5	132,0	130,5	139,5
99	245,5	227,0	251,0	225,0	129,0	133,5	125,0	117,0
100	252,5	257,5	238,5	248,0	139,5	125,0	123,5	117,5
Testemunha	286,0	254,5	266,0	276,5	122,0	134,0	121,0	120,0

TABELA VIII - DADOS EXPERIMENTAIS DOS TESTES DE ANTAGONISMO
"IN VIVO" (experimento nº 4)

ISOLADOS	Com <i>Fusarium</i>				Testemunha			
110	247,5	259,5	219,5	255,5	134,0	141,0	128,0	125,5
120	275,0	252,0	247,5	242,0	119,0	130,5	131,5	131,0
121	241,5	275,0	243,0	245,0	143,5	132,5	128,5	142,0
123	240,0	268,5	247,0	236,0	131,0	126,0	128,0	137,5
125	244,5	276,0	269,0	244,0	142,0	135,5	130,5	133,0
128	240,5	261,5	239,5	240,5	122,5	135,5	125,0	136,5
132	267,5	235,5	272,5	269,0	126,5	127,0	137,0	137,5
134	250,5	240,5	277,0	259,5	122,5	116,5	122,5	128,0
Testemunha	258,0	286,5	278,0	243,0	130,5	132,5	131,5	138,0

TABELA IX - ANÁLISE DA VARIÂNCIA DOS TESTES DE ANTAGONISMO
"IN VIVO" (experimento nº 1)

Causa de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Antagonistas	7	1209,24	172,74	1,38
Inóculo	1	333001,64	333001,64	2666,15 **
Interação	7	2105,46	300,78	2,41 *
Total de tratam.	15	336316,34	-	
Resíduo	48	5995,35	124,90	
T O T A L	63	342311,69		

TABELA X - ANÁLISE DA VARIÂNCIA DOS TESTES DE ANTAGONISMO
"IN VIVO" (experimento nº 2)

Causa de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Antagonistas	8	536,60	67,07	3,54 **
Inóculo	1	176863,80	176863,80	933,32 **
Interação	8	8783,60	1097,95	57,93 **
Total de tratam.	17	186184,00	-	
Resíduo	53	1004,59	18,95	
T O T A L	70	196229,90		

TABELA XI - ANÁLISE DA VARIÂNCIA DOS TESTES DE ANTAGONISMO
"IN VIVO" (experimento nº 3)

Causa da Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Antagonistas	7	1979,94	282,84	2,49*
Inóculo	1	249437,82	249437,82	2198,65**
Interação	7	4152,71	593,24	5,22**
Total tratamentos	15	255570,47	-	-
Resíduo	48	5445,69	113,45	
T O T A L	63	261016,16		

TABELA XII - ANÁLISE DA VARIÂNCIA DOS TESTES DE ANTAGONISMO
"IN VIVO" (experimento nº4)

Causa de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Antagonistas	8	1176,87	147,10	1,01
Inóculo	1	272260,50	272260,50	1871,20**
Interação	8	1073,91	134,23	0,92
Total tratamentos	17	274511,28	-	-
Resíduo	54	7857,19	145,50	
T O T A L	71	282368,47		