

**EFEITO DE ROTAÇÕES DE CULTURA
SOBRE MICRORGANISMOS DO SOLO ANTAGÔNICOS À
Fusarium oxysporum f. *vasinfectum* (ATK) SNYD. & HANS.**

MARIA LUCIA ROSA ZAKSEVSKAS

ENGENHEIRO AGRÔNOMO
INSTITUTO AGRONÔMICO
CAMPINAS - S P

**Tese apresentada à Escola Superior de
Agricultura "Luiz de Queiroz", da Uni-
versidade de São Paulo, para obtenção
do título de "Magister Scientiae"**

Orientador : PROF. DR. ERIC BALMER

**PIRACICABA
SÃO PAULO
1972**

Errata

página 13 - ítem 3.3.2.2. Isolamento de actinomicetos
na segunda linha do 3º parágrafo onde se lê
250g leia-se 25,0g

página 40 - CONCLUSÕES

acrescente-se no final do ítem 3:

Aspergillus, Penicillium e Trichoderma, sendo também isolados actinomicetos e bactérias.

Aos meus pais,

- dedico

A G R A D E C I M E N T O S

A autora apresenta seus mais sinceros agradecimentos:

Ao Dr. Eric Balmer pela orientação, estímulo e sugestões durante a realização do presente trabalho e redação da tese.

Ao Dr. Hiroshi Kimati pela colaboração, incentivo e sugestões na revisão dos originais.

À Dra. Elke J. B. N. Cardoso pelas valiosas sugestões por ocasião da instalação dos experimentos.

Ao Dr. Ferdinando Galli e ao Departamento de Fitopatologia pelas facilidades oferecidas para execução deste trabalho.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pela bolsa concedida, tornando possível a realização de parte deste trabalho.

À Seção de Algodão do Instituto Agrônomo de Campinas pela autorização para uso do Experimento de Rotação de Culturas.

Ao colega Francisco Lombardi Neto pela valiosa colaboração na instalação dos experimentos.

Ao colega Oswaldo A. P. Pereira e acadêmicos Walter S. P. Pereira e Maria Aparecida de Souza pela ajuda nos trabalhos de laboratório.

Ao Dr. Adauto I. Milanez e Nelly Pacheco de Lima pela identificação de alguns isolamentos.

Aos funcionários do Departamento de Fitopatologia, especialmente aos Srs. D. Pachane e P. Ortolan pelo preparo de material para os experimentos.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Í N D I C E

	Página
1. <u>INTRODUÇÃO</u>	1
2. <u>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</u>	2
3. <u>MATERIAIS E MÉTODOS</u>	8
3.1. SISTEMA DE ROTAÇÃO DE CULTURAS	8
3.2. CORANTES E MEIOS DE CULTURA	9
3.3. MÉTODOS DE ISOLAMENTO DOS MICRORGANISMOS DO SOLO	10
3.3.1. Isolamento dos microrganismos pelo método da placa de perfil	10
3.3.2. Isolamento dos microrganismos pelo método da diluição em série	12
3.3.2.1. Isolamento de fungos	12
3.3.2.2. Isolamento de actinomicetos.	13
3.4. PRESERVAÇÃO E PURIFICAÇÃO DAS CULTURAS..	14
3.5. IDENTIFICAÇÃO DOS MICRORGANISMOS	15
3.5.1. Observação de lâminas	15
3.5.2. Laminula suspensa em bloquinho de agar	15
3.6. TESTE DE ANTAGONISMO	16
3.6.1. Obtenção das culturas de <u>Fusarium</u> <u>oxysporum</u> f. <u>vasinfectum</u>	16
3.6.2. Teste com microrganismos isolados pelo método da placa de perfil ...	17

3.6.2.1. Preparo das culturas de <u>Fusarium</u> do algodoeiro	17
3.6.2.2. Preparo das culturas dos microrganismos a serem testados como prováveis antagonicos	17
3.6.2.3. Instalação do teste de antagonismo	17
3.6.3. Teste com os microrganismos isolados pelo método da diluição em série	18
3.6.3.1. Preparo das culturas de <u>Fusarium</u> do algodoeiro	18
3.6.3.2. Técnica de plaqueamento dos microrganismos	18
4. <u>RESULTADOS</u>	19
4.1. Levantamento de microrganismos do solo pelo método da placa de perfil	19
4.1.1. Microrganismos isolados no ano agrícola 68/69	
4.1.2. Microrganismos isolados no ano agrícola 71/72	22
4.2. Levantamento de microrganismos do solo antagonicos ao <u>Fusarium</u> do algodoeiro, isolados pelo método da placa de perfil..	23
4.2.1. Teste de antagonismo com microrganismos isolados no ano agrícola 68/69, na primeira amostragem	23
4.2.2. Teste de antagonismo com microrganismos isolados no ano agrícola 68/69, na segunda amostragem	26

4.2.3. Teste de antagonismo com microrganismos isolados no ano agrícola 71/72..	28
4.3. Levantamentos de microrganismos do solo, isolados pelo método da diluição em série, antagonísticos ao <u>Fusarium</u> do algodoeiro, no ano agrícola 71/72	30
4.3.1. Isolamento utilizando como meio de cultura o meio de Martin	30
4.3.1.1. Microrganismos antagonísticos obtidos na primeira amostragem.	30
4.3.1.2. Microrganismos antagonísticos obtidos na segunda amostragem..	30
4.3.2. Isolamento utilizando meios de cultura indicados para actinomicetos	33
4.3.2.1. Microrganismos antagonísticos obtidos na primeira amostragem	33
4.3.2.2. Microrganismos antagonísticos obtidos na segunda amostragem..	33
5. <u>DISCUSSÃO</u>	37
6. <u>CONCLUSÕES</u>	40
7. <u>RESUMO</u>	41
8. <u>SUMMARY</u>	43
9. <u>BIBLIOGRAFIA CITADA</u>	45
APÊNDICE	48

1. INTRODUÇÃO

Entre as principais culturas, a do algodão ocupa lugar de destaque na economia brasileira, sendo que, em 1969, foram produzidas 2.110.775 toneladas, num valor de Cr\$ 1.048.687.861,00. Dentre os Estados produtores destacou-se o de São Paulo, com a produção de 551.493 toneladas, correspondendo a um valor de Cr\$ 299.973.990,00 (8).

No entanto, as doenças que afetam essa cultura, conforme a severidade de sua incidência, podem concorrer para uma diminuição da produção, resultando em prejuízo para os cotonicultores. Entre as doenças mais severas está a murcha do algodoeiro, causada pelo fungo Fusarium oxysporum f. vasinfectum (Atk.) Snyd. & Hans. Esta doença foi relatada no Brasil em 1935, no Estado da Paraíba (14) e, em São Paulo, apareceu com caráter epifítico na região da Alta Sorocabana, no ano de 1957 (3).

O plantio seguido de uma cultura acarreta, de um modo geral, aumento na frequência das doenças, podendo este aumento chegar até um ponto em que a produção deixe de ser econômica. Tal prejuízo poderia ser evitado mediante o uso de um sistema de rotação de culturas, planejando as rotações em função dos agentes fitopatogênicos (15, 22, 24).

O efeito benéfico das rotações de culturas é de corrente, em parte, de mudanças na microflora do solo, que podem ser devidas a alterações no teor e tipo de nutrientes disponíveis. Estes nutrientes consistem em exsudatos de raízes, raízes em decomposição, restos de cultura e não resta dúvida que esses fatores variam de cultura para cultura (15, 22, 23).

A presente pesquisa teve por finalidade:

- a. um levantamento da microflora do solo associada às culturas de algodão quando em diferentes sistemas de rotação, utilizando-se dois métodos de amostragem e isolamento de microrganismos
- b. testar "in vitro" o possível antagonismo dos microrganismos isolados para Fusarium oxysporum f. vasinfectum do algodoeiro.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Vários métodos de amostragem e isolamento de microrganismos têm sido propostos. No entanto, todos eles apresentam limitações, não havendo, até o momento, um considerado plenamente satisfatório.

O método da diluição em série tem sido o mais utilizado nos trabalhos de microbiologia, por ser o único bem estudado e padronizado, embora alguns autores façam restrições ao seu uso, tais como: obtenção em maior quantidade de isolamentos de fungos de esporulação abundante e menor quantidade de basidiomicetos, apesar destes serem numerosos no solo (9,10,13,15,18,20,23,24).

MUELLER e DURREL (18) propuseram o uso de um tubo plástico de centrífuga contendo meio de cultura e com orifícios em espiral cobertos com fita isolante, técnica esta que foi uma modificação da de Chesters que utilizou tubos de vidro. Esses autores visaram o isolamento de fungos de crescimento mais lento e daqueles que apresentavam uma produção pequena de esporos em relação, por exemplo,

aos do gênero Penicillium.

Com relação ao estudo da microflora na região da rizosfera da planta, ANDERSEN e HUBER (1) utilizaram uma placa plástica contendo orifícios com as aberturas todas voltadas para um mesmo lado e preenchidas com meio de cultura, colocando-a contra um perfil de solo aberto próximo à rizosfera da planta. A placa permanecia no solo por 5-6 dias, sendo depois trazida ao laboratório e o agar dos orifícios repicado para tubo de ensaio. Esses autores fizeram uma comparação para a porcentagem de isolamentos obtidos para determinados fungos, comparando o uso das técnicas da placa de perfil e da diluição em série de uma suspensão do solo. Os fungos isolados, com suas respectivas porcentagens para o total de isolamentos feitos, foram para a placa de perfil: Penicillium e Aspergillus (1-4%), Fusarium (46-61%), Rhizoctonia (18-25%), enquanto que, para a diluição em série, foram isolados: Penicillium e Aspergillus (35-60%), Fusarium (4-12%) e Rhizoctonia (0-1%)

No estudo da microflora do solo, muitos meios de cultura foram sugeridos para o isolamento dos microrganismos. KAUFMAN, WILLIAMS e SUMNER (10), estudando o efeito do meio de cultura utilizado e da temperatura de incubação das placas sobre o isolamento dos microrganismos do solo, observaram que, dos cinco meios estudados, o meio OAES foi o mais transparente, controlou melhor bactérias e actinomicetos e retardou o crescimento de fungos de crescimento muito rápido, sendo, portanto, o preferido pelos autores.

SCHMITTHENNER e WILLIAMS (20), estudando métodos para o estudo de fungos do solo, testaram alguns meios de cultura, indicando o uso do meio OAES em vez do meio de

Warcup ou do meio de Martin.

Por outro lado, CARDOSO (5), pesquisando o controle biológico da marcha de Fusarium oxysporum f. sp. phaseoli em feijoeiro, utilizou os meios de cultura de Martin, OAES e Warcup, optando, posteriormente, pela utilização do meio de Martin.

No tocante ao uso de substâncias adicionais aos meios de cultura convencionais, BUTLER e HINE (4) adicionaram novobiocin, numa concentração de 100mg/ml ao meio de batata-dextrose-agar (BDA), conseguindo, assim, impedir o crescimento de bactérias e actinomicetos. Esses autores concluíram que esse meio de cultura para o isolamento de fungos do solo foi comparável, porém superior em alguns aspectos, ao meio de peptona-dextrose-agar suplementado com rosa bengal e estreptomicina.

Com relação ao isolamento de microrganismos de difícil obtenção pela técnica da diluição em série, KENDRICK e JACKSON (12) estudaram diversas combinações de umidade, temperatura, período de incubação e meio de cultura, concluindo que usando corn meal agar e incubando as placas por 10-14 dias a 24°C foi possível o isolamento das mesmas espécies de fungos isolados com isca de semente de milho. ANDERSEN e HUBER (1) também utilizaram o corn meal agar para o isolamento de fungos do solo e o estudo de suas atividades nas proximidades das raízes.

Com referência aos meios de cultura utilizados para o isolamento de actinomicetos, as preferências são variadas. TSAO, LEBEN e KEITT (21) isolaram actinomicetos do solo usando o meio de soybean meal glucose agar, ajustado a um pH 7,9 - 8,1 e utilizando uma diluição de

1:30.000.000, enquanto que HERR (6) relatou o isolamento de actinomicetos em meio de agar-água a 1%.

JOHNSON, PAPAVIDAS e outros (11) preferiram, para o isolamento de actinomicetos, o meio de Conn, utilizando diluições da ordem de 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6} . Esses mesmos autores relataram um novo método, sendo, neste caso, as diluições seriadas da suspensão do solo feitas em meio de agar-água a 1% e plaqueadas, em seguida, em caixa de Petri contendo uma camada basal de meio de agar-água a 1,5% vertida no dia anterior. As diluições foram da ordem de 1:50.000, 1:500.000 e 1:5.000.000.

Várias pesquisas foram realizadas com o fim de estudar os diferentes fatores que afetam a microflora do solo. WILLIAMS e SCHMITTNER (22) estudaram os efeitos de diferentes culturas e de seus resíduos quando incorporados ao solo, sobre a população fúngica do mesmo. Nos experimentos realizados por estes autores, ficou evidenciado que certos grupos de fungos foram afetados diferentemente ou pelas culturas ou por seus resíduos. MENON e WILLIAMS (15) também estudaram os efeitos de diferentes culturas e de seus resíduos quando incorporados ao solo, bem como a influência da temperatura e umidade do solo sobre a população fúngica do mesmo. Esses autores observaram que a microflora do solo foi mais influenciada pelas culturas, não havendo, no entanto, grandes variações qualitativas ou quantitativas que pudessem ser atribuídas à temperatura e umidade.

Diversos são os relatos que mostraram haver um efeito de sistemas de rotações de culturas sobre os microrganismos do solo. WILLIAMS e SCHMITTNER (23) concluíram que os sistemas de rotação de culturas propiciaram um

microflora muito mais rica e variada, quando comparados com os sistemas de monocultura também estudados. WILLIAMS e KAUFMAN (24) estudaram a influência de monoculturas sôbre a população fúngica antagônica a Fusarium roseum f. cerealis e mostraram que a população de fungos antagônicos variou mais qualitativa do que quantitativamente para as diferentes culturas amostradas. KOMMEDAHL e BROCK (13) obtiveram maior porcentagem de tombamento de seedlings de trigo, quando o mesmo foi plantado em solo proveniente de monocultura de trigo em comparação com a porcentagem de tombamento observada nos solos das monoculturas de milho, aveia e alfafa. Após o plantio sucessivo de duas culturas de trigo em solo procedente da monocultura de alfafa, a porcentagem de incidência de tombamento se elevou de 30 para 78%, respectivamente, para o 1º e 2º plantios de trigo.

Um interêsse maior pelo estudo de contrôles biológico desenvolveu-se, a partir de 1926, quando SANFORD (19) sugeriu que o contrôles da sarna da batatinha, pela incorporação de adubo verde, era devido a um aumento da população de certas bactérias saprófitas antagônicas.

WILLIAMS e KAUFMANN (24), estudando a microflora do solo, fizeram isolamentos de fungos antagônicos ao Fusarium roseum f. cerealis, usando a técnica de camada dupla de agar e relataram a existência de 11.000 a 22.000 antagônicos por grama de solo (6-19% do total de colônias isoladas). Os microrganismos antagônicos mais comuns pertenciam ao gênero Penicillium.

WOOD e TVEIT (25) fizeram uma revisão bibliográfica sôbre contrôles biológico de doenças de plantas, principalmente as causadas por fungos do solo.

MEREDITH (16) relatou o antagonismo de uma espécie de Actinomyces ao Fusarium oxysporum cubense, sendo que a partir do quinto dia foi observado o início de lise na colônia de Fusarium e depois de nove dias a colônia desapareceu, apresentando o Actinomyces sp um crescimento similar ao das placas testemunhas. Este mesmo autor (17), relatou o isolamento de 122 colônias de actinomicetos antagonísticos ao Fusarium oxysporum cubense, sendo os isolamentos feitos pelo método da diluição com 0,00001 a 0,000001g de solo por placa.

HERR (6) referiu-se à técnica da camada tripla de agar para o isolamento de actinomicetos antagonísticos ao Fusarium roseum, Rhizoctonia solani, Pythium ultimum e Verticillium albo-atrum, discutindo a análise estatística e os microrganismos antagonísticos obtidos por placa.

TSAO, LEBEN e KEITT (21) testaram o antagonismo de actinomicetos para Alternaria solani, Fusarium oxysporum f. vasinfectum, Glomerella cingulata, Helminthosporium victoriae e Verticillium albo-atrum, sendo que, de aproximadamente 40.000 colônias de actinomicetos obtidas dos 81 solos examinados, 214 foram antagonísticos efetivos a todos os cinco fungos, mostrando, assim, que uma mesma espécie de actinomiceto pode ser antagonística a diferentes espécies de fungos.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. SISTEMA DE ROTAÇÃO DE CULTURAS

O sistema de rotação de culturas utilizado foi o projeto nº 68 da Seção de Algodão, do Instituto Agrônomo de Campinas, iniciado em 1959 e intitulado "Rotação de Culturas no controle de Meloidogyne incognita".

O experimento, localizado na Estação Experimental Theodureto de Camargo, em Campinas, ocupa uma área de 694m² contendo 24 canteiros de 4,20 x 5,0m e 1m entre canteiros, sendo o delineamento do experimento o de blocos ao acaso, com 4 tratamentos e 3 repetições.

O experimento foi conduzido de tal modo que em 18 canteiros houvesse, separadamente, o plantio alternado das culturas de soja, amendoim e mucuna com a do algodão e em 6 canteiros o plantio contínuo do algodão.

O QUADRO I, do apêndice, mostra a distribuição das culturas nos canteiros, no ano agrícola 67/68 e a aplicação do nematicida W.40 nas quadras IA, IIA e IIIB, plantadas com algodão. Nas quadras IB, IIB e IIIA foram cultivadas as culturas da soja, amendoim, mucuna e algodão.

No ano agrícola 68/69, respectivamente, em janeiro e junho de 1969, foram realizadas duas amostragens pelo método da placa de perfil, nas quadras IB, IIB e IIIA plantadas com algodão, conforme pode ser verificado no QUADRO II, do apêndice. Foram utilizados os canteiros:

1,10,17	correspondentes ao tratamento algodão contínuo
9,12,18	" à rotação algodão/soja
2, 3,19	" à rotação algodão/amendoim.
4,11,20	" à rotação algodão/mucuna

No ano agrícola 71/72 foi realizada, em março de 1972, uma amostragem utilizando o método da placa de perfil e duas amostragens, em março e abril do mesmo ano, para o isolamento de microrganismos pelo método da diluição em série.

Devido ao fato do experimento de rotação estar encerrado nas quadras IB, IIB e IIIA, optamos pelas quadras IA, IIA e IIIB, conforme mostra o QUADRO III, do apêndice, sendo utilizados os seguintes canteiros:

3, 8,16	correspondentes	ao tratamento algodão contínuo
6,15,23	"	à rotação algodão/soja
5,14,22	"	à rotação algodão/amendoim
7,21,24	"	à rotação algodão/mucuna

3.2. CORANTES E MEIOS DE CULTURA UTILIZADOS

No preparo das lâminas para identificação dos microrganismos, utilizou-se como corante o lactofenol.

Os meios de cultura usados foram os seguintes:

corn meal agar, meio de Martin, meio de Czapeck (11), meio de Jensen (9), meio de batata-dextrose-agar (batata 200g, glicose 20g, agar 15g e 1000ml de água), meio de maltose-peptona-agar (maltose 4g, peptona 2g, agar 15g e 1000ml de água), meios de agar-água a 2,0 1,5 e 1,0% (respectivamente 20, 15 e 10g de agar em 1000ml de água).

3.3. METODOS DE ISOLAMENTO DOS MICRORGANISMOS DO SOLO

3.3.1. Isolamento dos microrganismos pelo método da placa de perfil

Para o isolamento dos microrganismos pelo método da placa de perfil, foram realizadas duas amostragens no ano agrícola 68/69 e uma em março de 1972, conforme já citado em 3.1.

A técnica utilizada foi a descrita por ANDERSEN e HUBER (1), sendo usadas placas de acrílico de 20 x 30cm e 1,0cm de espessura, contendo cada uma 77 orifícios, todos voltados para um mesmo lado, de 0,5cm de diâmetro por 0,8cm de profundidade, espaçados de 2,5cm de centro a centro, sendo 7 orifícios colocados verticalmente e 11 horizontalmente.

As placas foram embrulhadas em fôlha de papel aluminizado, esterilizadas e guardadas assêticamente, sendo, posteriormente, os orifícios enchidos com corn meal agar esterilizado, com o auxílio da seringa Pitkin. Em seguida, os orifícios foram recobertos com uma fita adesiva tipo "autoclave", da 3M, esterilizada, e as placas, novamente enroladas em fôlhas de papel aluminizado, mantidas assêticamente até a colocação no solo.

Para o levantamento da população de microrganismos foram utilizadas 13 placas de acrílico, sendo colocada uma placa em cada canteiro correspondente às rotações de cultura. Sendo um total de 12 tratamentos, a 13.^a placa ficou como testemunha. As placas foram colocadas ao acaso nos diferentes tratamentos, desprezando-se as linhas das bordaduras.

Com o auxílio de uma chapa de aço, de maiores dimensões que as da placa, foi feito um perfil de solo, nas proximidades das raízes das plantas.

No momento da colocação da placa contra o perfil do solo, com uma agulha estéril e asséticamente, foram feitas perfurações na fita adesiva, nos lugares correspondentes aos orifícios cheios de meio de cultura, os quais foram colocados em contato com o perfil exposto, sendo que a placa foi colocada de modo tal que aderisse perfeitamente ao perfil de solo obtido.

As placas foram deixadas no campo por 6 dias e depois trazidas ao laboratório, sendo o agar contido nos orifícios repicado para tubos de ensaio contendo meio de batata-dextrose-agar (BDA), que foram mantidos à temperatura ambiente.

Tendo cada placa de perfil 77 orifícios contendo o meio de cultura e sendo um total de 12 placas, cada amostragem implicou na repicagem e posterior identificação de aproximadamente 924 tubos de ensaio.

As porcentagens dos microrganismos isolados em cada canteiro, foram calculadas tomando-se como 100% o número de orifícios colonizados por placa de perfil, não se levando em consideração o número de tubos de ensaio que permaneceram estéreis após a repicagem, para os mesmos, do bloquinho de meio de cultura retirado dos orifícios da placa de perfil. A porcentagem de tubos nessas condições foi computada, nos quadros, como falhas.

3.3.2. Isolamento de microrganismos pelo método da diluição em série

3.3.2.1. Isolamento de fungos

No ano agrícola 71/72, foram realizadas duas amostragens, uma em março e a outra em abril de 1972, conforme citado em 3.1.

Os canteiros amostrados foram os seguintes:

8,13,16	correspondendo	ao	tratamento	algodão	contínuo
6,15,23	"		à	rotação	algodão/soja
5,14,22	"		à	rotação	algodão/amendoim
7,21,24	"		à	rotação	algodão/mucuna

De cada canteiro, desprezadas as bordaduras, foram coletadas, ao acaso, 10 amostras de solo de aproximadamente 100cc. Estas amostras foram acondicionadas em latinhas próprias e esterilizadas.

No laboratório, as 30 amostras correspondentes a cada tratamento foram misturadas e postas a secar, à sombra, por 24-48 horas, conforme o grau de umidade.

Quando sêco, o solo foi peneirado, fazendo-se a uniformização da amostra agitando-se em um moinho de bola durante 30 minutos, retirando-se, em seguida, 5-10g de terra para determinação da umidade.

Após o preparo do solo tomou-se uma alíquota de 10,0g que foi suspensa em 90,0ml de água destilada e esterilizada, contendo 1% de carboximetilcelulose. Promoveu-se uma agitação do frasco por 10 minutos, sendo feitas em seguida as diluições 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} . Trabalhou-se apenas com as diluições 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5} , sendo que, de cada uma das diluições, pipetou-se uma alíquota de 1ml para cada caixa de Petri contendo uma camada

de agar-água de 5ml, vertida com um dia de antecedência . Em seguida, utilizando-se uma seringa estéril, foram vertidos 12ml do meio de Martin, citado no ítem 3.2., mantido líquido a 48°C em banho-maria, agitando-se depois a placa, mediante movimento circular, com a finalidade de distribuir uniformemente o meio de cultura.

As placas foram incubadas a 24°C, por 24 horas, sendo depois utilizadas para o teste de antagonismo que será descrito posteriormente.

3.3.2.2. Isolamento de actinomicetos

Para o isolamento de actinomicetos, a amostragem utilizada foi a mesma feita para fungos, descrita no sub-ítem 3.3.2.1. O preparo do solo é que diferiu, pois, após a mistura das 30 amostras correspondentes a cada tratamento, retirou-se uma alíquota de cerca de 500g, que foi colocada em saco plástico para conservação da umidade.

A técnica seguida foi a descrita por JOHNSON, PAPA VIZAS e outros (10).

No momento da instalação do ensaio, para cada um dos tratamentos, foram pesadas 250g do solo acondicionado, colocando-as num erlenmeyer contendo 250ml de água destilada e esterilizada (diluição 10^{-1}). A seguir, o frasco foi colocado num shaker e agitado por 30 minutos.

Da diluição 10^{-1} foram preparadas as diluições seguintes, transferindo-se 10ml dessa diluição, com uma pipeta esterilizada, para 90ml de água estéril (diluição 10^{-2}). A partir desta, preparou-se a diluição 10^{-3} , da qual 10ml foram pipetados para 40ml de água estéril, ob-

tendo-se a diluição de 1:5.000. Agitou-se o frasco e, desta suspensão, 10ml foram transferidos para 90ml do meio de cultura agar-água a 1%, obtendo-se a diluição 1:50.000. A partir desta, foram preparadas as diluições 1:500.000 e 1:5.000.000. Durante o processamento das diluições, os frascos foram mantidos em banho-maria, a uma temperatura de 46 a 48°C.

De cada uma das três diluições finais foram pipetados 5ml para cada uma das caixas de Petri contendo uma camada basal de 5ml de agar-água a 1,5%, vertida no dia anterior à instalação do experimento. Quando os 5ml da diluição foram pipetados, agitou-se a caixa de Petri, mediante um movimento circular, a fim de obter uma camada bem homogênea.

A mesma técnica foi usada com o meio de Jensen (1% de agar), citado em 3.2.

Foram feitas 6 repetições para cada uma das diluições, mantendo-se as placas de Petri dos experimentos a 24°C por 48 horas, após o que foi instalado o teste de antagonismo a ser descrito posteriormente.

3.4. PRESERVAÇÃO E PURIFICAÇÃO DAS CULTURAS

Os microrganismos isolados pelo método da placa de perfil e os fungos isolados pelo método da diluição em série foram mantidos em tubos de ensaio contendo meio de batata-dextrose-agar (BDA), inclinado. Os actinomicetos foram repicados para o meio de Jensen.

A purificação das culturas obtidas, usando o método da placa de perfil, foi necessária uma vez que cada

tubo de ensaio podia conter mais de um microrganismo. A purificação foi feita repicando o inóculo do tubo de ensaio para caixas de Petri contendo o meio de batata-dextrose-agar ou maltose-peptona-agar descritos no item 3.2. Com o desenvolvimento das colônias, nova repicagem foi realizada, desta feita transferindo-se o inóculo de cada colônia para nova caixa de Petri. Repicagens sucessivas foram efetuadas até a obtenção de colônias puras a serem utilizadas nos testes de antagonismo.

3.5. IDENTIFICAÇÃO DOS MICRORGANISMOS

3.5.1. Observação de lâminas

As lâminas para identificação dos microrganismos foram preparadas transferindo-se o inóculo, do tubo de ensaio para a lâmina contendo uma gota de corante, por meio de uma alça de platina esterilizada. A seguir, foi colocada a lamínula e feita a identificação, utilizando-se a chave de classificação de fungos imperfeitos de BARNETT (2).

3.5.2. Lamínula suspensa em bloquinho de agar

Para os microrganismos impossíveis de serem identificados pela observação das lâminas conforme descrito em 3.5.1., lançou-se mão da técnica da lamínula suspensa em bloquinho de agar.

Esta técnica constou do seguinte: assêticamente foram colocados numa caixa de Petri um suporte e uma lâmina devidamente flambados. A seguir, transferiu-se para a

lâmina um bloquinho de meio de cultura, inoculando-o com o microrganismo a ser identificado e colocando sôbre o mesmo uma lamínula flambada. Em cada caixa de Petri foram pipetados de 8 a 10ml de água estéril para manter a umidade. Depois de 5-8 dias a lamínula foi retirada e transferida para uma lâmina contendo uma gôta do corante, fazendo-se, a seguir, a identificação.

A lâmina contendo o bloquinho de meio foi observada diretamente ao microscópio, complementando, assim, a identificação.

3.6. TESTE DE ANTAGONISMO

3.6.1. Obtenção das culturas de Fusarium oxysporum f. vasinfectum

O inóculo de Fusarium foi obtido a partir de plantas exibindo sintomas de murcha, coletadas em campo. Pedços de caule foram desinfetados durante 1 minuto em uma solução contendo uma parte de hipoclorito de sódio a 5% de cloro ativo (QBoa) e 3 partes de água, lavando-se, em seguida, em 3 porções de água estéril. Asseticamente, pedços de caule exibindo os vasos escurecidos foram transferidos para placas de Petri contendo meio de agar-água.

As placas foram incubadas em condições ambientais de laboratório, sendo, depois, fragmentos do micélio transferidos para tubos de ensaio contendo meio inclinado de batata-dextrose-agar (BDA).

3.6.2. Teste com microrganismos isolados pelo método da placa de perfil

3.6.2.1 Preparo das culturas de Fusarium de algodoeiro

Uma semana antes da instalação do teste de antagonismo "in vitro", as culturas de Fusarium, mantidas em tubos de ensaio, foram transferidas para placas de Petri contendo meio de batata-dextrose-agar, incubando-as à temperatura ambiente.

3.6.2.2. Preparo das culturas dos microrganismos a serem testados como prováveis antagonísticos

Seguiu-se a mesma técnica descrita para Fusarium em 3.6.2.1. para o preparo dos inóculos dos microrganismos a serem testados como prováveis antagonísticos.

3.6.2.3. Instalação do teste de antagonismo

Os microrganismos a serem testados como inibidores do Fusarium e o próprio Fusarium foram repicados para posições opostas, em uma caixa de Petri contendo meio BDA, no mesmo dia.

A repicagem dos fungos para as placas foi feita com o auxílio de uma alça de platina com diâmetro constante, sendo as placas incubadas à temperatura ambiente. Esta técnica foi seguida para cada fungo testado, sendo as leituras feitas depois do 6º dia de incubação, tomando-se, como evidência de um efeito inibidor, a formação de halos.

3.6.3. Teste com os microrganismos isolados pelo método da diluição em série

3.6.3.1. Preparo das culturas de Fusarium do algodoeiro

O inóculo de Fusarium, conforme descrito no sub-ítem 3.6.1, mantido em tubo de ensaio com meio inclinado de batata-dextrose-agar, foi transferido para erlenmeyers contendo 100ml do meio de Czapeck líquido. Os frascos inoculados foram colocados num shaker, sendo agitados por um período de 7 dias.

3.6.3.2. Técnica de plaqueamento dos microrganismos

O inóculo de Fusarium, preparado conforme descrito no ítem anterior, foi batido em liquidificador esterilizado, filtrando-se, a seguir, o líquido em algodão e funil esterilizados, sendo o filtrado mantido a uma temperatura de 48°C, em banho-maria.

Volumes iguais do inóculo filtrado e do meio de Czapeck com 2% de agar, estéril e mantido líquido a 48°C, foram misturados agitando-se bem o frasco para perfeita homogeneização. Com o auxílio de uma pipeta estéril, foram transferidos 5ml da suspensão para cada caixa de Petri contendo as diluições do solo.

O plaqueamento desta terceira camada com o inóculo de Fusarium foi feito 48 após a incubação das placas com as diluições para os actinomicetos e 24 horas para os fungos.

Conforme já citado no item 3.3.2, foram feitas 6 repetições para cada uma das diluições, incubando-se as placas, a seguir, a 24°C, sendo a leitura efetuada depois de 5-6 dias, mediante a contagem do número de colônias que apresentavam halos de inibição.

4. RESULTADOS

4.1. LEVANTAMENTO DE MICRORGANISMOS DO SOLO PELO MÉTODO DA PLACA DE PERFIL

4.1.1. Microrganismos isolados no ano agrícola 68/69

No ano agrícola 68/69, foram realizados dois levantamentos de microrganismos do solo, pelo método da placa de perfil, utilizando o sistema de rotação de culturas citado em 3.1 e fazendo-se as amostragens nos canteiros correspondentes aos tratamentos-

algodão/algodão	-	canteiros	1,10,17
algodão/soja	-	"	9,12,18
algodão/amendoim	-	"	2, 3,19
algodão/mucuna	-	"	4,11,20

Os resultados obtidos dos dois levantamentos realizados em janeiro e junho de 1969, são apresentados nos quadros 1 e 2, respectivamente. Os resultados obtidos para cada tratamento são a média da porcentagem obtida para três repetições, estando os detalhes sobre cada tratamento nos QUADROS de IV a XI, do apêndice.

Os quadros 1 e 2 mostram que a maior porcentagem

Quadro 1 - Microrganismos isolados pelo método da placa de perfil, no ano agrícola 68/69, primeira amostragem

Microrganismos isolados	% de microrganismos nos tratamentos [†]			
	A	B	C	D
<u>Fusarium</u> spp	79,71 ^{††}	79,56	86,07	84,48
<u>Trichoderma</u> spp	22,73	8,62	10,76	18,13
<u>Gliocladium</u> spp	1,13	1,87	1,37	5,32
<u>Verticillium</u> spp	0,46	2,27	3,62	5,80
<u>Penicillium</u> spp	11,07	7,68	9,96	10,24
<u>Aspergillus</u> spp	4,21	6,03	4,02	1,81
<u>Rhizoctonia</u> spp	0,46	8,22	7,75	6,59
<u>Macrophomina</u> spp	-	-	0,91	1,33
<u>Cephalosporium</u> spp	-	0,49	-	-
<u>Chaetophoma</u> spp	0,46	1,47	-	-
Bactérias	1,69	2,79	0,43	3,14
Actinomicetos	-	-	0,46	0,46
Não identificados	2,56	2,30	1,34	2,66
Falhas	9,96	4,76	3,03	3,46

† A= ALGODÃO/ALGODÃO
 B= ALGODÃO/SOJA
 C= ALGODÃO/AMENDOIM
 D= ALGODÃO/MUCUNA

†† média de 3 repetições

Quadro 2 - Microrganismos isolados pelo método da placa de perfil, no ano agrícola 68/69, segunda amostragem

Microrganismos isolados	% de microrganismos nos tratamentos †			
	A	B	C	D
<u>Fusarium</u> spp	58,40	49,66	48,73	45,90
<u>Trichoderma</u> spp	12,70	3,66	9,50	14,64
<u>Gliocladium</u> spp	18,36	26,30	13,48	11,24
<u>Verticillium</u> spp	13,98	24,60	13,48	22,67
<u>Penicillium</u> spp	7,61	9,26	8,18	22,54
<u>Aspergillus</u> spp	4,60	6,59	8,62	6,70
<u>Rhizoctonia</u> spp	4,11	-	-	0,48
<u>Macrophomina</u> spp	1,37	0,90	0,94	2,63
<u>Chaetophoma</u> spp	0,48	-	-	-
<u>Diplodia</u> spp	0,92	-	0,47	0,45
<u>Alternaria</u> spp	0,48	0,46	-	-
<u>Memnoniella</u> spp	-	2,31	-	0,45
Bactérias	6,10	2,78	7,18	3,28
Actinomicetos	0,94	0,50	0,47	-
Não identificados	1,83	2,75	2,35	2,80
Falhas	5,63	6,49	9,53	12,56

† A= ALGODÃO/ALGODÃO
 B= ALGODÃO/SOJA
 C= ALGODÃO/AMENDOIM
 D= ALGODÃO/MUCUNA

†† média de 3 repetições

de isolamento obtida foi para o gênero Fusarium para todos os tratamentos nas duas amostragens, sendo que, na primeira, as porcentagens obtidas foram bem superiores às da segunda.

Comparando-se a frequência para os microrganismos isolados nas duas amostragens realizadas, foi observado que os gêneros Verticillium e Gliocladium foram isolados mais frequentemente na segunda amostragem e o gênero Penicillium teve uma porcentagem de isolamento bem maior no tratamento algodão/mucuna (D), na segunda amostragem em relação à primeira.

O gênero Rhizoctonia foi isolado com maior frequência na primeira amostragem, aparecendo em todos os tratamentos, ao passo que, na segunda, apareceu em apenas dois. Os demais gêneros isolados apareceram com uma frequência muito baixa nas duas amostragens realizadas.

Os microrganismos não identificados foram aqueles que, ou somente apresentaram crescimento micelial ou que não formaram uma estrutura típica que permitisse sua classificação, mesmo lançando mão de técnicas como o uso de lamínula suspensa em bloquinho de agar, descrita em 3.5.2.

4.1.2. Microrganismos isolados no ano agrícola 71/72

No ano agrícola 71/72, foi feito um levantamento realizando-se as amostragens, conforme citado em 3.1. nos canteiros correspondentes aos tratamentos:

algodão/algodão	(canteiros	8,13,16)
algodão/soja	(" 6,15,23)
algodão/amendoim	(" 5,14,22)
algodão/mucuna	(" 7,21,24)

Os resultados dos isolamentos obtidos são apresentados no quadro 3, estando os detalhes sôbre as porcentagens obtidas para cada tratamento nos QUADROS XII, XIII, XIV e XV, do apêndice.

Nesta amostragem, de maneira semelhante ao que ocorreu no ano agrícola 68/69, os microrganismos mais isolados pertenceram aos gêneros Fusarium, Trichoderma, Gliocladium, Verticillium e Penicillium. Em menor porcentagem foram isolados os gêneros Aspergillus e Rhizoctonia.

Na amostragem do ano agrícola 71/72, um maior número de gêneros foi isolado, comparando-se com as amostragens realizadas no ano agrícola 68/69.

4.2. LEVANTAMENTO DE MICRORGANISMOS DO SOLO, ANTAGÔNICOS AO FUSARIUM DO ALGODOEIRO, ISOLADOS PELO MÉTODO DA PLACA DE PERFIL

4.2.1. Teste de antagonismo com microrganismos isolados no ano agrícola 68/69, na primeira amostragem

Dos microrganismos isolados na primeira amostragem pelo método da placa de perfil, no ano agrícola 68/69, foram testados como possíveis antagonicos:

<u>Fusarium</u> spp	17 isolados	<u>Trichoderma</u> spp	25 isolados
<u>Gliocladium</u> spp	5 "	<u>Verticillium</u> spp	13 "
<u>Penicillium</u> spp	12 "	<u>Aspergillus</u> spp	10 "
<u>Chaetophoma</u> spp	2 "	<u>Macrophomina</u> spp	1 isolado
<u>Botriodiplodia</u> spp	1 isolado	<u>Actinomiceto</u>	1 "

Os resultados dêste teste são apresentados no quadro 4, sendo que, dos 87 isolados testados, apenas 2 revelaram ser antagonicos ao Fusarium do algodoeiro, sendo um

Quadro 3 - Microrganismos isolados pelo método da placa de perfil, no ano agrícola 71/72

Microrganismos isolados	% de microrganismos nos tratamentos			
	A	B	C	D
<u>Fusarium</u> spp	83,06 ^{‡‡}	81,34	82,06	78,93
<u>Trichoderma</u> spp	13,87	9,65	9,15	11,77
<u>Gliocladium</u> spp	11,30	10,17	8,15	10,64
<u>Verticillium</u> spp	14,78	14,20	10,56	14,71
<u>Penicillium</u> spp	15,67	14,25	13,98	19,51
<u>Aspergillus</u> spp	0,87	3,32	4,22	1,61
<u>Rhizoctonia</u> spp	1,31	1,06	0,45	14,57
<u>Macrophomina</u> spp	3,48	0,45	1,80	1,52
<u>Cephalosporium</u> spp	0,87	-	-	-
<u>Chaetophoma</u> spp	0,43	0,89	-	-
<u>Diplodia</u> spp	3,04	1,95	0,89	1,18
<u>Alternaria</u> spp	-	0,61	0,45	-
<u>Pyricularia</u> spp	-	0,61	-	-
<u>Fusidium</u> spp	-	-	0,45	-
<u>Sclerotium</u> spp	-	-	0,44	-
Bactérias	2,16	2,55	3,23	1,18
Actinomicetos	-	-	1,26	-
Não identificados	0,87	1,78	2,15	1,51
Falhas	0,43	11,69	12,56	17,75

‡ A= ALGODÃO/ALGODÃO
 B= ALGODÃO/SOJA
 C= ALGODÃO/AMENDOIM
 D= ALGODÃO/MUCUNA

‡‡ média de 3 repetições

Quadro 4 - Microrganismos antagônicos ao Fusarium do algodoeiro isolados pelo método da placa de perfil, no ano agrícola 68/69, primeira amostragem

Microrganismos testados	T r a t a m e n t o s *							
	A		B		C		D	
	Nº ††	ANT †††	Nº	ANT	Nº	ANT	Nº	ANT
<u>Fusarium</u> spp	4	-	4	-	3	-	6	-
<u>Trichoderma</u> spp	9	-	9	1	4	-	3	-
<u>Gliocladium</u> spp	1	-	1	-	1	-	2	-
<u>Verticillium</u> spp	-	-	4	-	3	-	6	-
<u>Penicillium</u> spp	3	-	2	-	4	-	3	-
<u>Aspergillus</u> spp	4	-	3	-	1	-	2	-
<u>Macrophomina</u> spp	-	-	-	-	-	-	1	-
<u>Chaetophoma</u> spp	-	-	2	-	-	-	-	-
<u>Botriodiplodia</u> spp	-	-	1	-	-	-	-	-
Actinomicetos	-	-	-	-	1	1	-	-
Total	21	0	26	1	17	1	23	0

* A= ALGODÃO/ALGODÃO (canteiros 1,10,17)
 B= ALGODÃO/SOJA (" 9,12,18)
 C= ALGODÃO/AMENDOIM (" 2, 3,19)
 D= ALGODÃO/MUCUNA (" 4,11,20)

†† número de isolados testados

††† número de isolados antagônicos

dêles um isolado de Trichoderma spp isolado do canteiro 12, correspondente ao tratamento ALGODÃO/SOJA, e o outro um provável actinomiceto isolado do canteiro 19, correspondente ao tratamento ALGODÃO/AMENDOIM.

Detalhes sôbre o número de isolados testados dos canteiros correspondentes aos tratamentos são apresentados no QUADRO XVI, do apêndice.

4.2.2. Teste de antagonismo com microorganismos isolados no ano agrícola 68/69, na segunda amostragem

Dos microorganismos isolados pelo método da placa de perfil, na segunda amostragem, foram testados para antagonismo ao Fusarium do algodoeiro, os seguintes:

<u>Fusarium</u> spp	78 isolados	<u>Trichoderma</u> spp	70 isolados
<u>Gliocladium</u> spp	83 "	<u>Verticillium</u> spp	77 "
<u>Penicillium</u> spp	56 "	<u>Aspergillus</u> spp	37 "
<u>Macrophomina</u> spp	8 "	<u>Rhizoctonia</u> spp	3 "
<u>Diplodia</u> spp	3 "	<u>Memnoniella</u> spp	2 "
<u>Alternaria</u> spp	1 isolado	<u>Stemphillium</u> spp	1 isolado
Bactérias	24 isolados	Actinomicetos	3 isolados

Os resultados dêste teste são apresentados no quadro 5. O maior número de antagônicos pertenceu aos gêneros Penicillium, Aspergillus e Trichoderma, sendo, também, obtidos bactérias e actinomicetos antagônicos.

Os maiores números de antagônicos foram obtidos para os tratamentos ALGODÃO/ALGODÃO e ALGODÃO/SOJA, respectivamente, nos canteiros 10 e 9, sendo, nos demais canteiros para os mesmos tratamentos, obtido um número menor de antagônicos.

Quadro 5 - Microrganismos antagônicos ao Fusarium do algodoeiro isolados pelo método da placa de perfil, no ano agrícola 68/69, segunda amostragem

Microrganismos testados	T r a t a m e n t o s *							
	A		B		C		D	
	Nº **	ANT ***	Nº	ANT	Nº	ANT	Nº	ANT
<u>Fusarium</u> spp	21	-	19	-	14	-	24	-
<u>Trichoderma</u> spp	24	2	6	-	18	-	22	1
<u>Gliocladium</u> spp	25	-	32	-	15	-	11	-
<u>Verticillium</u> spp	19	-	28	-	15	-	25	-
<u>Penicillium</u> spp	9	4	10	5	11	-	26	3
<u>Aspergillus</u> spp	7	1	7	2	12	3	11	-
<u>Macrophomina</u> spp	2	-	2	-	1	-	3	-
<u>Rhizoctonia</u> spp	3	-	-	-	-	-	-	-
<u>Diplodia</u> spp	1	-	-	-	-	-	2	-
<u>Alternaria</u> spp	1	-	-	-	-	-	-	-
<u>Memnoniella</u> spp	-	-	1	-	-	-	1	-
<u>Stemphillium</u> spp	-	-	-	-	1	-	-	-
Bactérias	6	-	5	-	9	3	4	1
Actinomicetos	1	1	1	1	1	-	-	-
Total	119	8	111	8	97	6	129	5

* A= ALGODÃO/ALGODÃO (canteiros 1,10,17)
 B= ALGODÃO/SOJA (" 9,12,18)
 C= ALGODÃO/AMENDOIM (" 2, 3,19)
 D= ALGODÃO/MUCUNA (" 4,11,20)

** número de isolados testados

*** número de isolados antagônicos

Detalhes sôbre o número de microrganismos isolados dos canteiros e testados para antagonismo ao Fusarium do algodoeiro são encontrados no QUADRO XVII, do apêndice.

4.2.3. Teste de antagonismo com microrganismos isolados no ano agrícola 71/72

Dos microrganismos isolados pelo método da placa de perfil em 1972, foram testados para antagonismo ao Fusarium do algodoeiro, os seguintes:

<u>Fusarium</u> spp	116	isolados	<u>Trichoderma</u> spp	83	isolados
<u>Gliocladium</u> spp	24	"	<u>Verticillium</u> spp	37	"
<u>Penicillium</u> spp	100	"	<u>Aspergillus</u> spp	15	"
<u>Macrophomina</u> spp	15	"	<u>Rhizoctonia</u> spp	18	"
<u>Diplodia</u> spp	9	"	<u>Chaetophoma</u> spp	2	"
<u>Fusidium</u> spp	1	isolado	<u>Sclerotium</u> spp	1	isolado
Bactérias	12	isolados	Actinomicetos	1	"

Os resultados do teste de antagonismo são apresentados no quadro 6. Semelhantemente ao que ocorreu na segunda amostragem do ano agrícola 68/69, o maior número de antagônicos obtidos pertenceu aos gêneros Penicillium, Aspergillus, Trichoderma e bactérias e actinomicetos.

Detalhes sôbre o número de microrganismos testados para antagonismo, isolados dos diferentes canteiros correspondentes aos tratamentos, podem ser observados no QUADRO XVIII, do apêndice.

Quadro 6 - Microrganismos antagônicos ao Fusarium do algodoeiro isolados pelo método da placa de perfil, no ano agrícola 71/72

Microrganismos testados	T r a t a m e n t o s *							
	A		B		C		D	
	Nº**	ANT***	Nº	ANT	Nº	ANT	Nº	ANT
<u>Fusarium</u> spp	19	-	32	-	31	-	34	-
<u>Trichoderma</u> spp	27	-	20	-	18	-	18	1
<u>Gliocladium</u> spp	6	-	7	-	2	-	9	-
<u>Verticillium</u> spp	11	-	9	-	6	-	11	-
<u>Penicillium</u> spp	24	3	29	4	22	3	25	-
<u>Aspergillus</u> spp	1	1	5	-	6	2	3	1
<u>Macrophomina</u> spp	5	-	2	-	3	-	5	-
<u>Rhizoctonia</u> spp	2	-	2	-	1	-	13	-
<u>Diplodia</u> spp	5	-	1	-	2	-	-	-
<u>Chaetophoma</u> spp	1	-	1	-	-	-	-	-
<u>Fusidium</u> spp	-	-	-	-	1	-	-	-
<u>Sclerotium</u> spp	-	-	-	-	1	-	-	-
Bactérias	2	1	4	1	3	-	3	-
Actinomicetos	-	-	-	-	1	-	-	-
Total	103	5	112	5	97	5	121	2

* A= ALGODÃO/ALGODÃO (canteiros 8,13,16)
 B= ALGODÃO/SOJA (" 6,15,23)
 C= ALGODÃO/AMENDOIM (" 5,14,22)
 D= ALGODÃO/MUCUNA (" 7,21,24)

** número de isolados testados

*** número de isolados antagônicos

4.3. LEVANTAMENTO DE MICRORGANISMOS DO SOLO, ISOLADOS PELO MÉTODO DA DILUIÇÃO EM SÉRIE, ANTAGÔNICOS AO FUSARIUM DO ALGODOEIRO, NO ANO AGRÍCOLA 71/72

4.3.1. Isolamento utilizando como meio de cultura o meio de Martin

4.3.1.1. Microrganismos antagônicos obtidos na primeira amostragem

Para isolamento dos microrganismos antagônicos ao Fusarium do algodoeiro utilizou-se a técnica descrita em 3.6.3. No entanto, devido ao fato da necessidade de uma posterior confirmação do antagonismo de certos microrganismos, os mesmos foram repicados para tubo de ensaio e o teste repetido seguindo a técnica descrita em 3.6.2.3.

Os resultados obtidos para este teste estão contidos no quadro 7. Dos microrganismos testados para antagonismo, o gênero Aspergillus foi o que apresentou o maior número de antagônicos tanto para a diluição 10^{-4} como para a 10^{-5} , quando comparado com os demais fungos.

4.3.1.2 Microrganismos obtidos na segunda amostragem

O teste de antagonismo para o Fusarium do algodoeiro, dos fungos isolados pela técnica da diluição em série, na segunda amostragem, foi realizado da mesma maneira citada em 4.3.1.1.

Os dados obtidos acham-se no quadro 8 e são resultado de 6 repetições para cada diluição e para cada tratamento.

Quadro 7 - Microrganismos antagônicos ao Fusarium do algodoeiro obtidos pelo método da diluição em série, no meio de Martin, no ano agrícola 71/72, primeira amostragem

Dilui- ções	Microrganismos obtidos no meio de Martin	T r a t a m e n t o s *							
		A		B		C		D	
		Nº ^{††}	ANT ^{†††}	Nº	ANT	Nº	ANT	Nº	ANT
10 ⁻⁴	<u>Aspergillus</u> spp	8	2	2	-	3	-	5	1
	<u>Penicillium</u> spp	1	-	-	-	1	-	-	-
	Bactéria	1	-	-	-	-	-	-	-
10 ⁻⁵	<u>Aspergillus</u> spp	3	1	1	-	-	-	-	-
	<u>Trichoderma</u> spp	-	-	-	-	1	-	-	-
Total		13	3	3	0	5	0	5	1

* A= ALGODÃO/ALGODÃO (canteiros 8,13,16)
 B= ALGODÃO/SOJA (" 6,15,23)
 C= ALGODÃO/AMENDOIM (" 5,14,22)
 D= ALGODÃO/MUCUNA (" 7,21,24)

†† número de isolados testados

††† número de isolados antagônicos

Quadro 8 - Microrganismos antagônicos ao Fusarium do algodoeiro obtidos pelo método da diluição em série, no meio de Martin, no ano agrícola 71/72, segunda amostragem

Diluições	Microrganismos obtidos no meio de Martin	T r a t a m e n t o s *							
		A		B		C		D	
		Nº ^{††}	ANT ^{†††}	Nº	ANT	Nº	ANT	Nº	ANT
10 ⁻³	<u>Aspergillus</u> spp	3	-	1	-	6	2	2	-
	<u>Trichoderma</u> spp	6	-	6	-	3	-	4	-
	<u>Chaetophoma</u> spp	1	-	-	-	1	-	3	-
	<u>Penicillium</u> spp	-	-	-	-	-	-	2	-
10 ⁻⁴	<u>Aspergillus</u> spp	3	-	4	-	9	2	2	-
	<u>Trichoderma</u> spp	1	-	2	-	1	-	3	-
	<u>Chaetophoma</u> spp	-	-	1	-	-	-	-	-
	<u>Penicillium</u> spp	-	-	-	-	1	-	1	-
	<u>Diplodia</u> spp	2	-	-	-	-	-	-	-
10 ⁻⁵	<u>Aspergillus</u> spp	4	-	1	1	-	-	3	-
	<u>Trichoderma</u> spp	-	-	-	-	1	-	-	-
	<u>Chaetophoma</u> spp	1	-	-	-	-	-	-	-
	<u>Penicillium</u> spp	-	-	-	-	3	-	-	-
	Bactérias	-	-	1	-	-	-	-	-
Total		21	0	16	1	25	4	20	0

† A= ALGODÃO/ALGODÃO (canteiros 8,13,16)
 B= ALGODÃO/SOJA (" 6,15,23)
 C= ALGODÃO/AMENDOIM (" 5,14,22)
 D= ALGODÃO/MUCUNA (" 7,21,24)

†† número de isolados testados

††† número de isolados antagônicos

Embora pequeno, o maior número de microrganismos foi obtido no tratamento ALGODÃO/AMENDOIM, pertencendo êles ao gênero Aspergillus

4.3.2. Isolamento utilizando meios de cultura indicados para actinomicetos

4.3.2.1. Microrganismos antagônicos obtidos na primeira amostragem

Os microrganismos antagônicos, na primeira amostragem, no ano agrícola 71/72, foram obtidos pela técnica descrita em 3.6.3.

Os resultados obtidos nos meios de agar-água e no de Jensen, para as diferentes diluições, são apresentados no quadro 9.

Uma tendência para um maior número de microrganismos antagônicos, considerando a diluição 1:50.000 no meio de Jensen, foi observada nos tratamentos envolvendo rotação em comparação com o tratamento ALGODÃO/ALGODÃO. O mesmo já não foi observado para o meio de agar-água na diluição 1:50.000 e demais diluições para os dois meios.

Detalhes sôbre o número de repetições realizadas e o número de microrganismos antagônicos obtidos por repetição podem ser observados no QUADRO XIX, do apêndice.

4.3.2.2. Microrganismos antagônicos obtidos na segunda amostragem

O teste de antagonismo dos microrganismos isolados em meios de cultura indicados para o isolamento de

Quadro 9 - Microrganismos antagônicos ao Fusarium do algodoeiro obtidos pelo método da diluição em série, nos meios de agar-água e Jensen, no ano agrícola 71/72, primeira amostragem

Diluição	Meio de cultura	T r a t a m e n t o s *			
		A	B	C	D
1:50.000	agar-água	26 ^{††}	15	21	11
	Jensen	24	67	83	79
1:500.000	agar-água	3	9	9	17
	Jensen	19	25	26	26
1:5.000.000	agar-água	0	0	0	0
	Jensen	2	4	0	4
Total		74	120	139	137

† A= ALGODÃO/ALGODÃO (canteiros 8,13,16)
 B= ALGODÃO/SOJA (" 6,15,23)
 C= ALGODÃO/AMENDOIM (" 5,14,22)
 D= ALGODÃO/MUCUNA (" 7,21,24)

†† número total de isolados antagônicos em 6 repetições

actinomicetos foi realizado conforme técnica descrita em 3.6.3. Os dados obtidos neste teste constam do quadro 10

O maior número de antagônicos foi obtido no tratamento ALGODÃO/ALGODÃO.

Detalhes sôbre o número de antagônicos obtidos para cada repetição são apresentados no QUADRO XX, do apêndice.

Quadro 10 - Microrganismos antagônicos ao Fusarium do algodoeiro, obtidos pelo método da diluição em série, nos meios de agar-água e Jensen, no ano agrícola 71/72 segunda amostragem

Diluição	Meio de cultura	T r a t a m e n t o s *			
		A	B	C	D
1:50.000	agar-água	152 ^{††}	85	79	84
	Jensen	105	60	54	97
1:500.000	agar-água	50	22	28	1
	Jensen	7	17	4	7
1:5.000.000	agar-água	4	9	17	4
	Jensen	35	2	2	6
Total		353	195	184	199

† A= ALGODÃO/ALGODÃO (canteiros 8,13,16)
 B= ALGODÃO/SOJA (" 6,15,23)
 C= ALGODÃO/AMENDOIM (" 5,14,22)
 D= ALGODÃO/MUCUNA (" 7,21,24)

†† Número total de isolados antagônicos em 6 repetições

5. DISCUSSÃO

Nos levantamentos da microflora associada aos diferentes tratamentos do sistema de rotação de culturas, realizados através do método da placa de perfil, não foram notadas diferenças marcantes quanto aos gêneros dos microrganismos isolados.

Altas porcentagens de Fusarium spp foram uma constante para todos os tratamentos nas três amostragens realizadas, resultados estes em concordância com os obtidos por ANDERSEN e HUBER (1) utilizando a mesma técnica de amostragem. Esses autores, no entanto, obtiveram uma frequência maior de isolamento de Rhizoctonia spp em relação à obtida no presente trabalho.

Os dados obtidos utilizando o método da placa de perfil não permitiram observar diferenças nas microfloras dos diferentes tratamentos como seria o esperado, levando-se em consideração os trabalhos de WILLIAMS e SCHMITTHENNER (23,24) e os de MENON e WILLIAMS (15), que obtiveram microfloras características associadas a diferentes culturas e a sistemas de rotação.

Uma das possíveis explicações para este fato seria a utilização de um método de isolamento diferente, pois aqueles autores utilizaram a técnica da diluição em série, ao invés do método da placa de perfil.

Uma outra explicação seria o fato da amostragem ter sido realizada quando do plantio do algodão em todos os canteiros dos diferentes tratamentos de rotação, podendo ter havido uma forte influência da rizosfera desta plan

ta na microflora isolada, uma vez que as placas de perfil foram colocadas próximas ao sistema radicular do algodoeiro. Fato semelhante foi notado no trabalho de HUBER e ANDERSEN (7) em relação às porcentagens de isolamento de Fusarium spp quando foi feita a amostragem em solo plantado com a cultura do feijoeiro sucedendo às de milho, trigo, cevada, beterraba e trevo (sweet clover).

Além dessas explicações, ainda poderíamos levar em conta uma possível seletividade do meio de cultura utilizado (corn meal agar) para o isolamento de certos gêneros de microrganismos.

Em relação aos testes de antagonismo ao Fusarium do algodoeiro, realizados com microrganismos obtidos pelo método da placa de perfil, um número baixo de antagônicos foi obtido em relação ao número de isolamentos testados para os diferentes gêneros. As maiores frequências pertenceram aos gêneros Penicillium, Aspergillus e Trichoderma, gêneros estes bastante citados em literatura pelas suas propriedades antagonísticas a uma série de patógenos.

Nos levantamentos da microflora antagônica ao Fusarium do algodoeiro, utilizando o método da diluição em série e o meio de Martin, os antagônicos pertenceram exclusivamente ao gênero Aspergillus, que foi isolado de todos os tratamentos do sistema de rotação, não havendo, no entanto, diferenças marcantes quanto ao número obtido dos diferentes tratamentos, parecendo, assim, não ter havido influência das culturas da soja, amendoim e mucuna plantadas anteriormente à cultura do algodão.

Semelhantemente ao que ocorreu para o meio de Martin, não houve diferenças marcantes para os diferentes tra

tamentos do sistema de rotação quando foram utilizados os meios de Jensen e de agar-água, meios êstes indicados para o isolamento de actinomicetos.

As leituras, para o teste de antagonismo ao Fusarium feito pela técnica da camada tripla de agar, foram efetuadas com maior facilidade nos meios de Jensen e agar água do que no meio de Martin, uma vez que naqueles meios apareceram halos de inibição bem nítidos, ao passo que, no de Martin, o crescimento de Rhizopus em muitas placas dificultou a leitura, fazendo com que o teste tivesse que ser repetido.

Dos testes de antagonismo realizados, o que se mostrou mais promissor foi aquêles utilizando a técnica de camada tripla, usando meios de cultura indicados para o isolamento de actinomicetos cujas propriedades antagonísticas a uma série de fungos, inclusive a Fusarium oxysporum f. vasinfectum, têm sido citadas em literatura(6,7,16,21).

Dos estudos feitos, ficou evidenciada a necessidade de ser utilizada mais de uma técnica de isolamento, tanto para levantamento de microfloras como para o levantamento de microrganismos antagônicos, uma vez que os microrganismos, devido às suas características, são isolados em frequências variáveis dependendo do método de isolamento e dos meios de cultura utilizados.

No tocante aos possíveis efeitos benéficos à cultura do algodoeiro, que os diferentes sistemas de rotação apresentam em áreas onde ocorre a murcha causada pelo complexo Fusarium oxysporum f. vasinfectum e nematoides do gênero Meloidogyne, os resultados obtidos no presente trabalho sugerem que o principal efeito sôbre a diminuição da murcha seja devido a outros fatores e não à microflora

antagônica que se desenvolve no solo por ocasião do plantio do algodoeiro. Este fato ficou evidenciado pela ausência de diferenças marcantes tanto para os componentes da população de microrganismos antagônicos, como para o número de cada um deles obtidos nos diferentes tratamentos do sistema de rotação de culturas.

6. CONCLUSÕES

Do presente trabalho pode-se concluir:

1. Utilizando o método da placa de perfil foi observado, nas diferentes amostragens feitas, que as culturas da soja, amendoim e mucuna, plantadas em rotação com o algodoeiro, não influenciaram de maneira marcante na microflora que se desenvolveu no solo por ocasião do plantio do algodão.

2. Os gêneros de fungos mais frequentemente isolados pelo método da placa de perfil, nas três amostragens realizadas, foram: Fusarium, Trichoderma, Verticillium, Gliocladium, Penicillium, Rhizoctonia, Aspergillus.

Em menor número foram isolados: Macrophoma, Chaetophoma, Alternaria, Memnoniella, Piricularia, Fusidium, Sclerotium, Cephalosporium, Diplodia, além de bactérias e actinomicetos

3. Os microrganismos antagônicos ao Fusarium do algodoeiro isolados pelo método da placa de perfil, nas diferentes amostragens feitas, pertenceram aos gêneros :

4. Aspergillus spp foi o único microrganismo antagônico ao Fusarium do algodoeiro isolado pelo método da diluição em série, utilizando o meio de Martin.

5. Os meios de agar-água e o de Jensen, indicados para o isolamento de actinomicetos, revelaram a presença de actinomicetos antagônicos ao Fusarium do algodoeiro em todos os tratamentos do sistema de rotação de cultura e épocas estudadas, sendo que, de modo geral, não foi observada nenhuma tendência para o isolamento de um maior número de antagônicos em um determinado tratamento.

6. Os microrganismos antagônicos ao Fusarium do algodoeiro, obtidos através da diluição em série nos meios de agar-água e Jensen, foram mais abundantes na diluição 1:50.000, nos dois testes realizados.

7. De modo geral, não foi observada uma diferença marcante quanto ao número de microrganismos antagônicos, nos diferentes sistemas de rotação, que pudesse ser atribuído à cultura que antecedeu a do algodão.

7. RESUMO

No presente trabalho foi realizado um levantamento da microflora do solo associada à cultura do algodão (Gossypium hirsutum L.) quando em plantio contínuo no mesmo solo e quando plantada alternadamente com culturas de soja (Glycine max (L.) Merril), amendoim (Arachis hipogaea L.) ou mucuna (Stilozobium sp). O método de isolamento utilizado foi o da placa de perfil, sendo feitas três amostragens em épocas diferentes. Foi obtida uma por

centagem de isolamento dos seguintes gêneros: Fusarium, Trichoderma, Verticillium, Penicillium, Gliocladium, Rhizoctonia e Aspergillus. Através desse método de isolamento, não foram observadas diferenças marcantes nas microfloras associadas às diferentes combinações do algodoeiro e das leguminosas.

Com microrganismos isolados, nas amostragens feitas pelo método da placa de perfil, foram realizados testes de antagonismo ao Fusarium oxysporum f. vasinfectum (Atk.) Snyd. & Hans., sendo que os maiores números de antagonísticos pertenceram aos gêneros Penicillium, Aspergillus e Trichoderma e, bactérias e actinomicetos, em menor número.

Por outro lado, foram feitos levantamentos de microrganismos antagonísticos ao Fusarium do algodoeiro utilizando-se o método da diluição em série e os meios de Martin, agar-água e Jensen. Fungos do gênero Aspergillus foram os únicos antagonísticos isolados pelo meio de Martin e quanto aos meios de agar-água e Jensen, o maior número de microrganismos antagonísticos (provavelmente actinomicetos) foi obtido na diluição 1:50.000, para os dois testes realizados.

Nos levantamentos de microrganismos antagonísticos ao Fusarium do algodoeiro, feitos pelo método da diluição em série, quer usando o meio de Martin ou meios indicados para o isolamento de actinomicetos, semelhantemente ao que ocorreu com o método da placa de perfil, não foram obtidas diferenças marcantes que pudessem ser atribuídas à cultura que precedeu a do algodão.

8. SUMMARY

In this work, a survey was carried out on the soil microflora associated with the culture of cotton (Gossypium hirsutum L.) cultivated in alternate rotation with soybean (Glycine max (L.) Merriell), peanuts (Arachis hipogaea L.) or mucuna (Stilobizium sp). Sampling was made also in soils cultivated continuously with cotton only. The method of isolation of soil microorganisms was the plate-profile technique, with three samples taken at different periods. A major percentage of isolation was observed in the following genera: Fusarium, Trichoderma, Verticillium, Penicillium, Gliocladium, Rhizoctonia and Aspergillus. No marked difference in soil microflora was observed associated with different combinations of cotton and these leguminous crops.

Tests to analyse the antagonistic effect of isolated microorganisms using the plate-profile technique to Fusarium oxysporum f. vasinfectum (Atk) Snyder & Hans indicated that the major groups of antagonists belonged to the genera Penicillium, Aspergillus and Trichoderma, as well as bacteria and actinomycetes.

On the other hand, soil fungi antagonistic to Fusarium was also studied by the soil-dilution plate technique in Martin, water-agar or Jensen media. Aspergillus was the only genera antagonist to Fusarium, isolated by the Martin medium. The largest number of microorganisms (probably actinomycetes) antagonist to Fusarium was obtained at the dilution of 1:50,000 using water-agar on Jensen media.

The surveys of antagonist microorganisms to Fusarium carried out by the soil-dilution plate method using

either the Martin medium or the media suitable for the isolation of Actinomycetes, no marked difference was noticed which could be attributable to the crop preceding cotton, in agreement with the results obtained by the plate-profile technique.

9. BIBLIOGRAFIA CITADA

- 1 - ANDERSEN, A.L. and HUBER, D.M. 1965. The plate-profile technique for isolating soil fungi and studying their activity in the vicinity of roots. *Phytopathology* 55:592-594.
- 2 - BARNETT, H.L. 1960. Illustrated genera of Imperfect fungi. Burgess Publ. Co., Minneapolis, 2a. ed. 225p.
- 3 - BASTOS CRUZ, B.P. 1959. A fusariose do algodoeiro. *Biológico* 25:45-47.
- 4 - BUTLER, E.E. and R.B. HINE. 1958. Use of novobiocin for isolation of fungi from soil. *Soil Sci.* 85, pp 250-254.
- 5 - CARDOSO, E.J.B.N. 1968. Contribuição ao estudo do controle biológico da murcha de Fusarium oxysporum f. phaseoli (Schlecht) Kendr. e Snyd. em Phaseolus vulgaris L. Tese de "Magister Scientiae", apresentada na E.S.A. "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 58 pp.
- 6 - HERR, J.L. 1959. A method of assaying soils for numbers of actinomicetes antagonistic to fungal pathogens. *Phytopathology* 49:270-273.
- 7 - HUBER, D.M. and A.L. ANDERSEN. 1962. Interrelation of bacterial necrosis of Fusarium to crop rotation, isolation frequency and bean root rot. *Phytopathology* 52:737 (Abstr.)
- 8 - INSTITUTO BRASILEIRO DE ESTATISTICA. Anuário Estatístico do Brasil, R.J. 1970. 771p.
- 9 - JOHNSON, L.F., E.A. CURL, J.H. BOND and H.A. FRIBOURG, 1959. Methods for Studying Soil Microflora. Plant Disease Relationships, Burgess Publishing Co. Minneapolis, 172p.
- 10 - KAUFMAN, D.D., WILLIAMS, L.E. and C.B. SUMNER. 1963. Effect of plating medium and incubation temperature on growth of fungi in soil-dilution plates. *Canadian Journal of Microbiology* 9: 741-751.

- 11 - KELMAN, A., org. 1967. Sourcebook of laboratory exercises in plant pathology. San Francisco, Freeman, 387p.
- 12 - KENDRICK, J.B. and A.R. JACKSON. 1958. Factors influencing the isolation of certain soil - borne plant pathogens from soil. *Phytopathology* 48: 394.
- 13 - KOMMEDAHL, T. and T.D. BROCK. 1954. Studies on the relationships of soil mycoflora to disease incidence. *Phytopathology* 44:57-61.
- 14 - KRUG, H.P. 1936. Fusarium como causador da murcha do algodoeiro no Brasil. *Rodriguesia*, número especial. (An. I Reunião de Fitopatologia do Brasil). 319-321.
- 15 - MENON, S.K. and L.E. WILLIAMS. 1957. Effect of crop, crop residues, temperature and moisture on soil fungi. *Phytopathology* 47:559-564.
- 16 - MEREDITH, C.H. 1943. The antagonism of Actinomyces to Fusarium oxysporum cubense. *Phytopathology* 33-394.
- 17 - MEREDITH, C.H. 1944. The antagonism of soil organisms to Fusarium oxysporum cubense. *Phytopathology* 34:426-429.
- 18 - MUELLER, K.E. and L.W. DURREL, 1957. Sampling tubes for soil fungi. *Phytopathology* 47:243
- 19 - SANFORD, G.B. 1926. Some factors affecting the pathogenicity of Actinomyces scabies. *Phytopathology* 16:525-547.
- 20 - SCHMITTHENNER, A.F. and L.E. WILLIAMS. 1958. Methods for analysis of soil-borne pathogens and associated soil fungi. *Botany and Plant Pathology Minco. series nº 29-1:19.*
- 21 - TSAO, P.H., LEBEN, C. and G.W. KEITT. 1960. An enrichment method for isolating actinomycetes that produce diffusible antifungal antibiotics. *Phytopathology* 50:88-89.

- 22 - WILLIAMS, L.E. and A.F. SCHMITTHENNER. 1960. Effect of growing crops and crop residues on soil fungi and seedlings blights. *Phytopathology* 50:22-25.
- 23 - WILLIAMS, L.E. and A.F. SCHMITTHENNER. 1962. Effect of crop rotation on soil fungus populations *Phytopathology* 52:241-247.
- 24 - WILLIAMS, L.E. and D.D. KAUFMAN. 1962. Influence of continuous cropping on soil fungi antagonistic to Fusarium roseum. *Phytopathology* 52:778-781.
- 25 - WOOD, R.K.S. e M. TVEIT. 1955. Control of Plant Diseases by use of antagonistic organism. *The Botanical Review* 21:441-492.

A P Ê N D I C E

QUADRO I : PROJETO N° 68

ROTAÇÃO DE CULTURAS NO CONTRÔLE DE MELOIDOGYNE INCOGNITA

LOCAL : E.E. Central

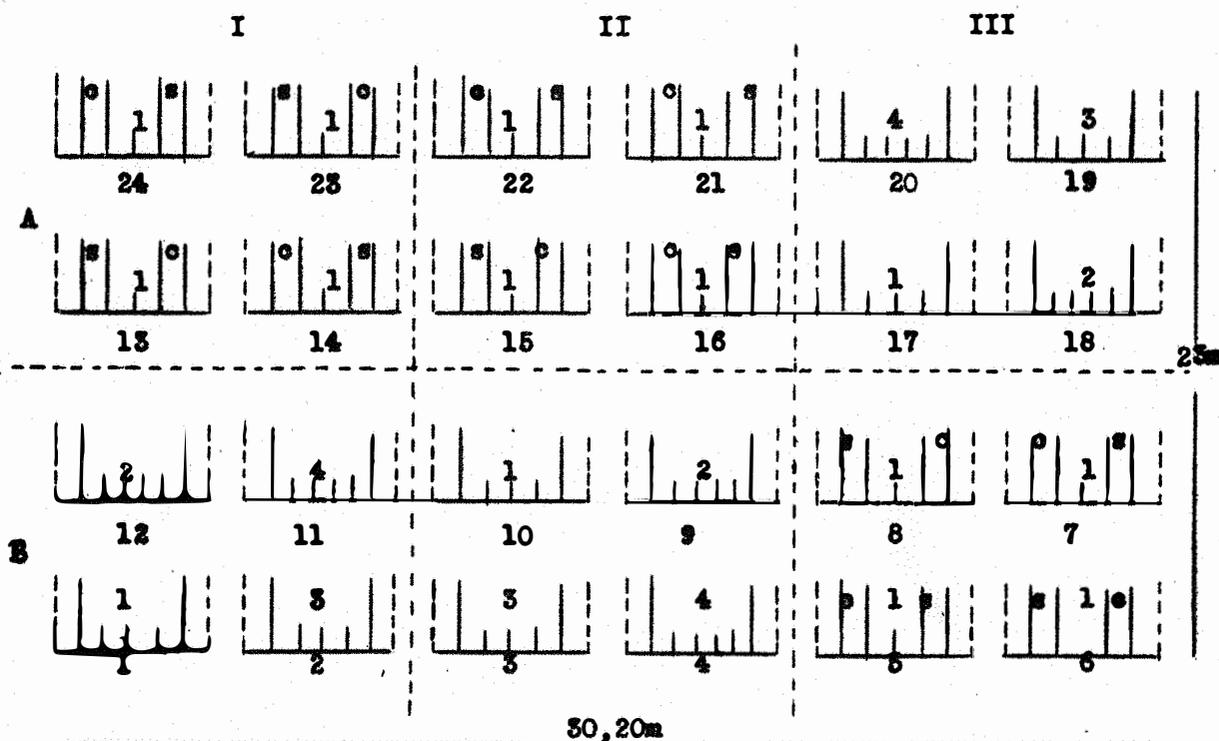
ANO AGRÍCOLA : 67/68

DELINEAMENTO : Blocos ao acaso 4 x 3

N° trat.	Tratamento	N° do canteiro no campo		
1	algodão	1	10	17
2	soja	9	12	18
3	amendoim	2	3	19
4	muçuna	4	11	20

(nos demais canteiros será plantado algodão)

DISTRIBUIÇÃO NO CAMPO



DIMENSÕES : 30,20m x 23,0 m = 694 m²

Nota : caminho de 1 metro entre canteiros

N° trat	CULTURA	PLANTIO	ESPAÇAMENTO	N° fil	N° planta
1	algodão	2 ^a quinz.	0,70 x 0,20	7	25
2	soja	outubro	0,60 x 0,10 (2p/cova)	8	100
3	amendoim	outubro	0,70 x 0,10	7	50
4	muçuna	outubro	0,60 x 0,10	8	50

As repetições IA, IIA e IIIA ensaio com nematicida

IB, IIB e IIIB ensaio normal

c = com emprêgo de nematicida 20 ml/m²

s = sem emprêgo de nematicida

QUADRO II : PROJETO Nº 68

ROTAÇÃO DE CULTURAS NO CONTRÔLE DE MELOIDOGYNE INCOGNITA

LOCAL : E.E. Central

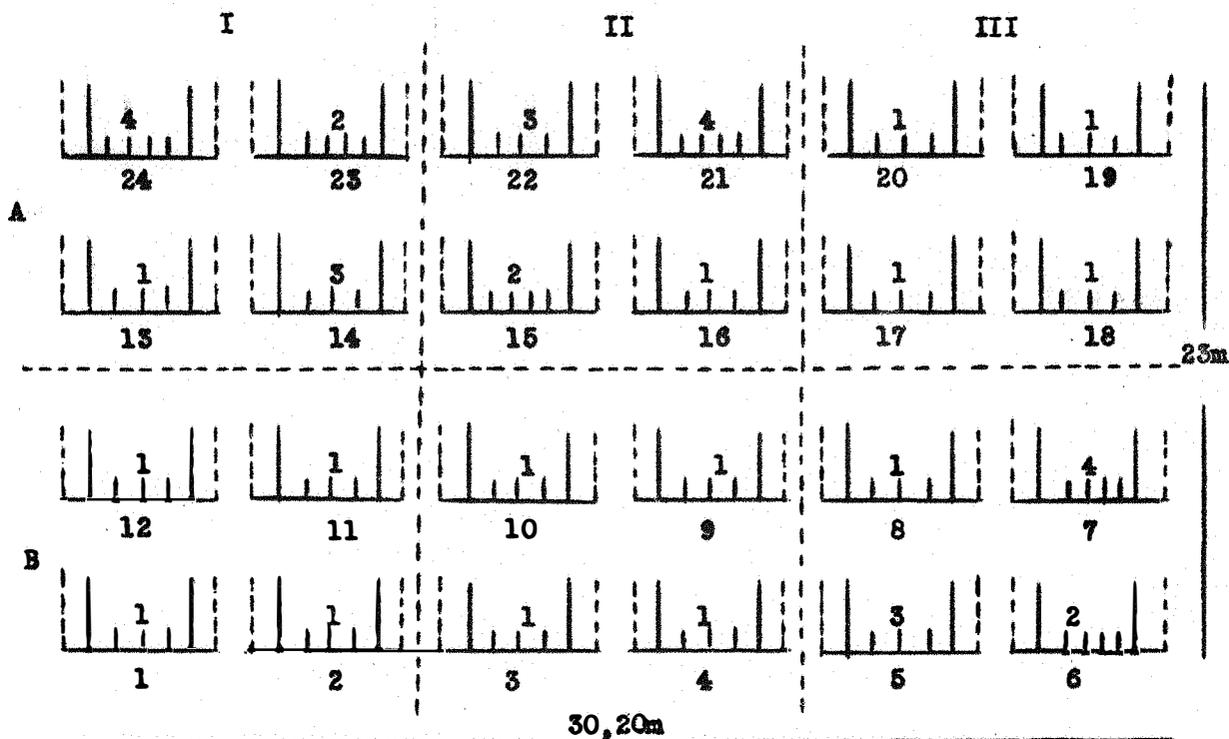
ANO AGRICOLA : 68/69

DELINEAMENTO : Blocos ao acaso 4 x 3

Nº trat.	Tratamentos	nº canteiro no campo		
1	algodão	13	16	8
2	soja	23	15	6
3	amendoim	14	22	5
4	mucuna	24	21	7

(nos demais canteiros será plantado algodão)

DISTRIBUIÇÃO NO CAMPO



DIMENSÕES : 30,20m x 23,0m = 694 m²

Nota : caminho de 1 metro entre canteiros

Nº trat.	CULTURA	PLANTIO	ESPAÇAMENTO	Nº fil. cant.	Nº planta p/linha
1	algodão	2 ^a quinz.	0,70 x 0,20	7	26
2	soja	outubro	0,60 x 0,10 (2p/cova)	8	100
3	amendoim	outubro	0,70 x 0,10	7	50
4	mucuna	outubro	0,60 x 0,10	8	50

As repetições IA, IIA e IIIB ensai@ com nematocida, aplicação quando o algodão é plantado.

QUADRO III : PROJETO N° 68

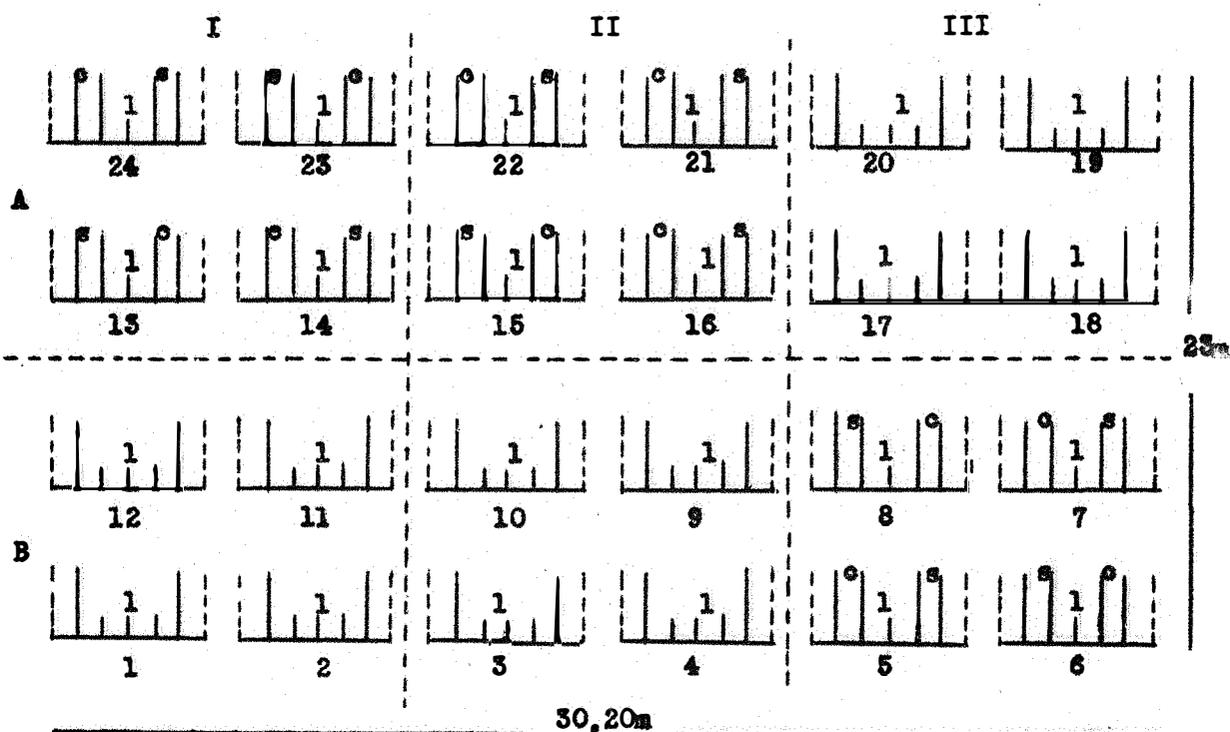
ROTAÇÃO DE CULTURAS NO CONTRÔLE DE MELOIDOGYNE INCOGNITA

LOCAL : E.E. Central

ANO AGRÍCOLA : 71/72

DELINEAMENTO : Blocos ao acaso 4 x 3

DISTRIBUIÇÃO NO CAMPO



DIMENSÕES : 30,20m x 23,0m = 694 m²

Nota: caminho de 1 metro entre canteiros

As repetições IA, IIA e IIIB ensaio com nematicida

c = com emprego de nematicida 20 ml/ m²

s = sem emprego de nematicida

No ano agrícola 71/72, todos os canteiros serão plantados com algodão.

QUADRO IV - Microrganismos isolados pelo método da placa de perfil nos canteiros correspondentes ao tratamento ALGODÃO/ALGODÃO, no ano agrícola 68/69, primeira amostragem.

Microrganismos isolados	C a n t e i r o s					
	1		10		17	
<u>Fusarium</u> spp	46 [‡]	77,97 ^{‡‡}	59	81,94	61	79,22
<u>Trichoderma</u> spp	10	16,95	21	29,17	17	22,08
<u>Gliocladium</u> spp	2	3,39	-	-	-	-
<u>Verticillium</u> spp	-	-	1	1,39	-	-
<u>Penicillium</u> spp	4	6,78	5	6,94	15	19,48
<u>Aspergillus</u> spp	1	1,69	6	8,33	2	2,60
<u>Rhizoctonia</u> spp	-	-	1	1,39	-	-
<u>Chaetophoma</u> spp	-	-	1	1,39	-	-
Bactérias	3	5,08	-	-	-	-
Não identificados	3	5,08	-	-	2	2,60
Tubos examinados	59		72		77	
Falhas	18		5		0	

‡ número total de isolados

‡‡ porcentagem em relação ao total de isolamentos por placa de perfil

QUADRO V - Microrganismos isolados pelo método da placa de perfil nos canteiros correspondentes ao tratamento ALGODÃO/SOJA, no ano agrícola 68/69, primeira amostragem.

Microrganismos isolados	C a n t e i r o s					
	9		12		18	
<u>Fusarium</u> spp	67 [†]	87,01 ^{††}	56	82,35	52	69,33
<u>Trichoderma</u> spp	4	5,19	5	7,35	10	13,33
<u>Gliocladium</u> spp	-	-	2	2,94	2	2,67
<u>Verticillium</u> spp	-	-	1	1,47	4	5,33
<u>Penicillium</u> spp	1	1,30	3	4,41	13	17,33
<u>Aspergillus</u> spp	2	2,60	6	8,82	5	6,67
<u>Rhizoctonia</u> spp	19	24,67	-	-	-	-
<u>Chaetophoma</u> spp	-	-	3	4,41	-	-
<u>Cephalosporium</u> spp	-	-	1	1,47	-	-
Bactérias	1	1,30	3	4,41	2	2,67
Não identificados	1	1,30	2	2,94	2	2,67
Tubos examinados	77		68		75	
Falhas	0		9		2	

† número total de isolados

†† porcentagem em relação ao total de isolamentos por placa de perfil

QUADRO VI - Microrganismos isolados pelo método da placa de perfil nos canteiros correspondentes ao tratamento ALGODÃO/AMENDOIM, no ano agrícola 68/69, primeira amostragem

Microrganismos isolados	C a n t e i r o s					
	2		3		19	
<u>Fusarium</u> spp	70 ⁺	90,91 ⁺⁺	65	87,84	58	79,45
<u>Trichoderma</u> spp	8	10,39	2	2,70	14	19,18
<u>Gliocladium</u> spp	-	-	-	-	3	4,11
<u>Verticillium</u> spp	-	-	5	6,76	3	4,11
<u>Penicillium</u> spp	3	3,90	2	2,70	17	23,29
<u>Aspergillus</u> spp	3	3,90	3	4,05	3	4,11
<u>Macrophomina</u> spp	-	-	1	1,35	1	1,37
<u>Rhizoctonia</u> spp	-	-	2	2,70	15	20,55
Bactérias	1	1,30	-	-	-	-
Actinomicetos	-	-	-	-	1	1,37
Não identificados	1	1,30	1	1,35	1	1,37
Tubos examinados	77		74		73	
Falhas	0		3		4	

* número total de isolados

** porcentagem em relação ao total de isolamentos por placa de perfil

QUADRO VII - Microrganismos isolados pelo método da placa de perfil nos canteiros correspondentes ao tratamento ALGODÃO/MUCUNA, no ano agrícola 68/69, primeira amostragem

Microrganismos isolados	C a n t e i r o s					
	4		11		20	
<u>Fusarium</u> spp	64 [‡]	88,89 ^{‡‡}	67	90,54	57	74,02
<u>Trichoderma</u> spp	7	9,72	10	13,51	24	31,17
<u>Gliocladium</u> spp	3	4,17	2	2,70	7	9,10
<u>Verticillium</u> spp	4	5,56	3	4,05	6	7,79
<u>Penicillium</u> spp	6	8,33	6	8,11	11	14,28
<u>Aspergillus</u> spp	2	2,78	1	1,35	1	1,30
<u>Macrophomina</u> spp	-	-	2	2,70	1	1,30
<u>Rhizoctonia</u> spp	-	-	5	6,76	10	12,99
Bactérias	3	4,17	1	1,35	3	3,90
Actinomicetos	1	1,39	-	-	-	-
Não identificados	1	1,39	2	2,70	3	3,90
Tubos examinados	72		74		77	
Falhas	5		3		0	

‡ número total de isolados

‡‡ porcentagem em relação ao total de isolamentos por placa de perfil

QUADRO VIII - Microrganismos isolados pelo método da placa de perfil nos canteiros correspondentes ao tratamento ALGODÃO/ALGODÃO, no ano agrícola 68/69, segunda amostragem

Microrganismos isolados	C a n t e i r o s					
	1		10		17	
<u>Fusarium</u> spp	51 [‡]	69,86 ^{‡‡}	36	47,37	40	57,97
<u>Trichoderma</u> spp	11	15,07	12	15,79	5	7,25
<u>Gliocladium</u> spp	6	8,22	18	23,68	16	23,19
<u>Verticillium</u> spp	9	12,33	17	22,37	5	7,25
<u>Penicillium</u> spp	6	8,22	10	13,16	1	1,45
<u>Aspergillus</u> spp	2	2,74	4	5,26	4	5,80
<u>Macrophomina</u> spp	3	4,11	-	-	-	-
<u>Rhizoctonia</u> spp	9	12,33	-	-	-	-
<u>Chaetophoma</u> spp	-	-	-	-	1	1,45
<u>Diplodia</u> spp	-	-	1	1,32	1	1,45
<u>Alternaria</u> spp	-	-	-	-	1	1,45
Bactérias	5	6,85	1	1,32	7	10,14
Actinomicetos	1	1,37	-	-	1	1,45
Não identificados	4	5,48	-	-	-	-
Tubos examinados	73		76		69	
Falhas	4		1		8	

‡ número total de isolados

‡‡ porcentagem em relação ao total de isolamentos por placa de perfil

QUADRO IX - Microrganismos isolados pelo método da placa de perfil nos canteiros correspondentes ao tratamento ALGODÃO/SOJA, no ano agrícola 68/69, segunda amostragem

Microrganismos isolados	C a n t e i r o s					
	9		12		18	
<u>Fusarium</u> spp	35 [*]	45,45 ^{**}	34	50,75	38	52,78
<u>Trichoderma</u> spp	5	6,49	3	4,48	-	-
<u>Gliocladium</u> spp	32	41,56	12	17,91	14	19,44
<u>Verticillium</u> spp	21	27,27	20	29,85	12	16,67
<u>Penicillium</u> spp	7	9,10	6	8,95	7	9,72
<u>Aspergillus</u> spp	2	2,60	5	7,46	7	9,72
<u>Macrophomina</u> spp	1	1,30	-	-	1	1,39
<u>Alternaria</u> spp	-	-	-	-	1	1,39
<u>Memmoniella</u> spp	-	-	-	-	5	6,94
Bactérias	2	2,60	2	2,98	2	2,77
Actinomicetos	-	-	1	1,49	-	-
Não identificados	2	2,60	1	1,49	3	4,17
Tubos examinados	77		67		72	
Falhas	0		10		5	

* número total de isolados

** porcentagem em relação ao número total de isolamentos por placa de perfil

QUADRO X - Microrganismos isolados pelo método da placa de perfil nos canteiros correspondentes ao tratamento ALGODÃO/AMENDOIM, no ano agrícola 68/69, segunda amostragem

Microrganismos isolados	C a n t e i r o s					
	2		3		19	
<u>Fusarium</u> spp	48 [‡]	67,60 ^{‡‡}	30	44,78	24	33,80
<u>Trichoderma</u> spp	3	4,22	4	5,98	13	18,31
<u>Gliocladium</u> spp	9	12,68	12	17,91	7	9,86
<u>Verticillium</u> spp	2	2,82	12	17,91	14	19,72
<u>Penicillium</u> spp	-	-	7	10,45	10	14,08
<u>Aspergillus</u> spp	-	-	6	8,95	12	16,90
<u>Macrophomina</u> spp	2	2,82	-	-	-	-
<u>Diplodia</u> spp	1	1,41	-	-	-	-
Bactérias	1	1,41	5	7,46	9	12,68
Actinomicetos	1	1,41	-	-	-	-
Não identificados	2	2,82	-	-	3	4,22
Tubos examinados	71		67		71	
Falhas	6		10		6	

‡ número total de isolados

‡‡ porcentagem em relação ao número total de isolamentos por placa de perfil

QUADRO XI - Microrganismos isolados pelo método da placa de perfil nos canteiros correspondentes ao tratamento ALGODÃO/MUCUNA, no ano agrícola 68/69, segunda amostragem

Microrganismos isolados	C a n t e i r o s					
	4		11		20	
<u>Fusarium</u> spp	28*	40,58**	31	52,54	33	44,59
<u>Trichoderma</u> spp	6	8,70	16	27,12	6	8,11
<u>Gliocladium</u> spp	6	8,70	6	10,17	11	14,86
<u>Verticillium</u> spp	14	20,29	17	28,81	14	18,92
<u>Penicillium</u> spp	17	24,64	15	25,42	13	17,57
<u>Aspergillus</u> spp	5	7,25	2	3,39	7	9,46
<u>Macrophomina</u> spp	1	1,45	3	5,08	1	1,35
<u>Rhizoctonia</u> spp	1	1,45	-	-	-	-
<u>Diplodia</u> spp	-	-	-	-	1	1,35
<u>Memmoniella</u> sp	-	-	-	-	1	1,35
Bactérias	4	5,80	-	-	3	4,05
Não identificados	3	4,35	-	-	3	4,05
Tubos examinados	69		59		74	
Falhas	8		18		3	

* número total de isolados

** porcentagem em relação ao número total de isolamentos por placa de perfil

QUADRO XII - Microrganismos isolados pelo método da placa de perfil nos canteiros correspondentes ao tratamento ALGODÃO/ALGODÃO, no ano agrícola 71/72.

Microrganismos isolados	C a n t e i r o s					
	8		13		16	
<u>Fusarium</u> spp	60 [‡]	77,92 ^{‡‡}	55	84,41	66	36,84
<u>Trichoderma</u> spp	14	18,18	15	19,48	3	3,95
<u>Gliocladium</u> spp	5	6,49	12	15,58	9	11,84
<u>Verticillium</u> spp	7	9,10	17	22,08	10	13,16
<u>Penicillium</u> spp	12	15,58	8	10,39	16	21,05
<u>Aspergillus</u> spp	2	2,60	-	-	-	-
<u>Macrophomina</u> spp	2	2,60	3	3,90	3	3,95
<u>Rhizoctonia</u> spp	2	2,60	-	-	1	1,32
<u>Chaetophoma</u> spp	1	1,30	-	-	-	-
<u>Diplodia</u> spp	1	1,30	4	5,19	2	2,63
<u>Cephalosporium</u> spp	-	-	2	2,60	-	-
Bactérias	1	1,30	4	5,19	-	-
Não identificados	1	1,30	-	-	1	1,32
Tubos examinados	77		77		76	
Falhas	0		0		1	

‡ número total de isolados

‡‡ porcentagem em relação ao número total de isolamentos por placa de perfil

QUADRO XIII - Microrganismos isolados pelo método da placa de perfil nos canteiros correspondentes ao tratamento ALGODÃO/SOJA, no ano agrícola 71/72

Microrganismos isolados	C a n t e i r o s					
	6		15		23	
<u>Fusarium</u> spp	42*	76,36**	56	75,67	69	92,00
<u>Trichoderma</u> spp	4	7,27	13	17,57	3	4,00
<u>Gliocladium</u> spp	2	3,64	11	14,86	9	12,00
<u>Verticillium</u> spp	2	3,64	16	21,62	13	17,33
<u>Penicillium</u> spp	2	3,64	24	32,43	5	6,67
<u>Aspergillus</u> spp	4	7,27	1	1,35	1	1,33
<u>Macrophomina</u> spp	-	-	1	1,35	-	-
<u>Rhizoctonia</u> spp	1	1,82	1	1,35	-	-
<u>Chaetophoma</u> spp	-	-	-	-	2	2,67
<u>Diplodia</u> spp	1	1,82	1	1,35	2	2,67
<u>Alternaria</u> spp	1	1,82	-	-	-	-
<u>Piricularia</u> spp	1	1,82	-	-	-	-
Bactérias	2	3,64	-	-	3	4,00
Não identificados	-	-	1	1,35	3	4,00
Tubos examinados	55		74		75	
Falhas	22		3		2	

* número total de isolados

** porcentagem em relação ao número total de isolamentos por placa de perfil

QUADRO XIV - Microrganismos isolados pelo método da placa de perfil nos canteiros correspondentes ao tratamento ALGODÃO/AMENDOIM, no ano agrícola 71/72

Microrganismos isolados	C a n t e i r o s					
	5		14		22	
<u>Fusarium</u> spp	63 [†]	85,14 ^{††}	67	89,33	38	71,70
<u>Trichoderma</u> spp	7	9,46	5	6,67	6	11,32
<u>Gliocladium</u> spp	6	8,11	8	10,67	3	5,66
<u>Verticillium</u> spp	8	10,81	10	13,33	4	7,55
<u>Penicillium</u> spp	9	12,16	11	14,67	8	15,10
<u>Aspergillus</u> spp	1	1,35	-	-	6	11,32
<u>Macrophomina</u> spp	4	5,40	-	-	-	-
<u>Rhizoctonia</u> spp	1	1,35	-	-	-	-
<u>Diplodia</u> spp	-	-	2	2,67	-	-
<u>Alternaria</u> spp	1	1,35	-	-	-	-
<u>Fusidium</u> spp	1	1,35	-	-	-	-
<u>Sclerotium</u> spp	-	-	1	1,33	-	-
Bactérias	2	2,70	1	1,33	3	5,66
Actinomicetos	-	-	-	-	2	3,77
Não identificados	1	1,35	1	1,33	2	3,77
Tubos examinados	74		75		53	
Falhas	3		2		24	

† número total de isolamentos

†† porcentagem em relação ao número total de isolamentos por placa de perfil

QUADRO XV - Microrganismos isolados pelo método da placa de perfil nos canteiros correspondentes ao tratamento ALGODÃO/MUCUNA, no ano agrícola 71/72

Microrganismos isolados	C a n t e i r o s					
	7		21		24	
<u>Fusarium</u> spp	57*	75,00 ^{††}	38	73,08	55	88,71
<u>Trichoderma</u> spp	11	14,47	10	19,23	1	1,61
<u>Gliocladium</u> spp	2	2,63	6	11,54	11	17,74
<u>Verticillium</u> spp	2	2,63	9	17,31	15	24,19
<u>Penicillium</u> spp	13	17,10	14	26,92	9	14,52
<u>Aspergillus</u> spp	1	1,31	1	1,92	1	1,61
<u>Macrophomina</u> spp	2	2,63	1	1,92	-	-
<u>Rhizoctonia</u> spp	32	42,10	-	-	1	1,61
<u>Diplodia</u> spp	-	-	1	1,92	1	1,61
Bactérias	-	-	1	1,92	1	1,61
Não identificados	1	1,31	-	-	2	3,22
Tubos examinados	76		52		62	
Falhas	1		25		15	

* número total de isolamentos

†† porcentagem em relação ao número total de isolamentos por placa de perfil

QUADRO XVI - Microrganismos antagônicos ao Fusarium do algodoeiro, isolados na primeira amostragem, no ano agrícola 68/69, nos tratamentos ALGODÃO/ALGODÃO, ALGODÃO/SOJA, ALGODÃO/AMENDOIM, ALGODÃO/MUCUNA

ALGODÃO/ALGODÃO	C a n t e i r o s					
	1		10		17	
	Nº	ANT	Nº	ANT	Nº	ANT
<u>Fusarium</u> spp	2	-	1	-	1	-
<u>Trichoderma</u> spp	1	-	5	-	3	-
<u>Gliocladium</u> spp	1	-	-	-	-	-
<u>Penicillium</u> spp	1	-	-	-	2	-
<u>Aspergillus</u> spp	-	-	3	-	1	-
Total	5	0	9	0	7	0

ALGODÃO/SOJA	C a n t e i r o s					
	9		12		18	
	Nº	ANT	Nº	ANT	Nº	ANT
<u>Fusarium</u> spp	-	-	3	-	1	-
<u>Trichoderma</u> spp	1	-	4	1	4	-
<u>Gliocladium</u> spp	-	-	1	-	-	-
<u>Verticillium</u> spp	-	-	1	-	3	-
<u>Penicillium</u> spp	-	-	1	-	1	-
<u>Aspergillus</u> spp	1	-	1	-	1	-
<u>Chaetophoma</u> spp	-	-	2	-	-	-
<u>Botriodiplodia</u> spp	1	-	-	-	-	-
Total	3	0	13	1	10	0

Cont.

QUADRO XVI - continuação

Microorganismos testados	C a n t e i r o s					
	2		3		19	
	Nº [†]	ANT ^{††}	Nº	ANT	Nº	ANT
<u>Fusarium</u> spp	-	-	3	-	-	-
<u>Trichoderma</u> spp	1	-	2	-	1	-
<u>Gliocladium</u> spp	-	-	1	-	-	-
<u>Verticillium</u> spp	-	-	2	-	1	-
<u>Penicillium</u> spp	1	-	1	-	2	-
<u>Aspergillus</u> spp	-	-	-	-	1	-
<u>Macrophomina</u> spp	-	-	1	-	-	-
<u>Rhizoctonia</u> spp	-	-	1	-	-	-
Actinomicetos	-	-	-	-	1	1
Total	2	0	11	0	6	1

Microorganismos testados	C a n t e i r o s					
	14		11		20	
	Nº [†]	ANT ^{††}	Nº	ANT	Nº	ANT
<u>Fusarium</u> spp	3	-	2	-	1	-
<u>Trichoderma</u> spp	1	-	1	-	1	-
<u>Gliocladium</u> spp	1	-	-	-	1	-
<u>Verticillium</u> spp	3	-	2	-	1	-
<u>Penicillium</u> spp	-	-	1	-	2	-
<u>Aspergillus</u> spp	2	-	-	-	-	-
<u>Macrophomina</u> spp	-	-	1	-	-	-
Total	10	0	7	0	6	0

† = número de isolamentos testados

†† = número de isolamentos antagônicos

QUADRO XVII - Microrganismos antagônicos ao Fusarium do alho doeiro, isolados na segunda amostragem, no ano agrícola 68/69, nos tratamentos ALGODÃO/ALGODÃO, ALGODÃO/SOJA, ALGODÃO/AMENDOIM, ALGODÃO/MUCUNA

ALGODÃO/ALGODÃO	C a n t e i r o s					
	1		10		17	
	Nº*	ANT**	Nº	ANT	Nº	ANT
Microrganismos testados						
<u>Fusarium</u> spp	6	-	6	-	9	-
<u>Trichoderma</u> spp	8	1	13	-	3	1
<u>Gliocladium</u> spp	2	-	11	-	12	-
<u>Verticillium</u> spp	7	-	10	-	2	-
<u>Penicillium</u> spp	2	-	6	4	1	-
<u>Aspergillus</u> spp	4	1	2	-	1	-
<u>Macrophomina</u> spp	2	-	-	-	-	-
<u>Rhizoctonia</u> spp	3	-	-	-	-	-
<u>Diplodia</u> spp	-	-	-	-	1	-
<u>Alternaria</u> spp	-	-	-	-	1	-
Bactérias	2	-	-	-	4	-
Actinomicetos	-	-	-	-	1	1
Total	36	2	48	4	35	2

ALGODÃO/SOJA	C a n t e i r o s					
	9		12		18	
	Nº*	ANT**	Nº	ANT	Nº	ANT
Microrganismos testados						
<u>Fusarium</u> spp	7	-	4	-	8	-
<u>Trichoderma</u> spp	3	-	3	-	-	-
<u>Gliocladium</u> spp	13	-	8	-	11	-
<u>Verticillium</u> spp	12	-	12	-	4	-
<u>Penicillium</u> spp	4	4	4	-	2	1
<u>Aspergillus</u> spp	2	-	1	1	4	1
<u>Macrophomina</u> spp	-	-	-	-	2	-
<u>Memnoniella</u> spp	-	-	-	-	1	-
Bactérias	2	-	1	-	2	-
Actinomicetos	-	-	1	1	-	-
Total	43	4	34	2	34	2

QUADRO XVII - continuação

ALGODÃO/AMENDOIM

C a n t e i r o s

Microrganismos testados	2		3		19	
	Nº †	ANT ††	Nº	ANT	Nº	ANT
<u>Fusarium</u> spp	7	-	3	-	4	-
<u>Trichoderma</u> spp	3	-	4	-	11	-
<u>Gliocladium</u> spp	8	-	7	-	-	-
<u>Verticillium</u> spp	-	-	9	-	6	-
<u>Penicillium</u> spp	-	-	6	-	5	-
<u>Aspergillus</u> spp	-	-	6	1	6	2
<u>Macrophomina</u> spp	1	-	-	-	-	-
<u>Stemphillium</u> spp	1	-	-	-	-	-
Bactérias	-	-	3	2	6	1
Actinomicetos	1	-	-	-	-	-
Total	21	0	38	3	38	3

ALGODÃO/MUCUNA

C a n t e i r o s

Microrganismos testados	4		11		20	
	Nº †	ANT ††	Nº	ANT	Nº	ANT
<u>Fusarium</u> spp	5	-	10	-	9	-
<u>Trichoderma</u> spp	6	-	10	1	6	-
<u>Gliocladium</u> spp	5	-	1	-	5	-
<u>Verticillium</u> spp	10	-	5	-	10	-
<u>Penicillium</u> spp	14	1	7	2	5	-
<u>Aspergillus</u> spp	4	-	-	-	7	-
<u>Macrophomina</u> spp	-	-	3	-	-	-
<u>Diplodia</u> spp	-	-	1	-	1	-
<u>Memnoniella</u> spp	-	-	-	-	1	-
Bactérias	2	1	-	-	2	-
Total	46	2	37	3	46	0

† = número de isolamentos testados

†† = número de isolamentos antagônicos

QUADRO XVIII - Microrganismos antagonicos ao Fusarium do algo doeiro, isolados na amostragem do ano agrícola 71/72, nos tratamentos ALGODÃO/ALGODÃO, ALGODÃO/SOJA, ALGODÃO/AMENDOIM, ALGODÃO/MUCUNA

ALGODÃO/ALGODÃO	C a n t e i r o s					
	8		13		16	
	Nº ⁺	ANT ⁺	Nº	ANT	Nº	ANT
<u>Fusarium</u> spp	7	-	4	-	8	-
<u>Trichoderma</u> spp	12	-	12	-	3	-
<u>Gliocladium</u> spp	-	-	4	-	2	-
<u>Verticillium</u> spp	-	-	6	-	5	-
<u>Penicillium</u> spp	5	1	3	1	16	1
<u>Aspergillus</u> spp	1	1	-	-	-	-
<u>Macrophomina</u> spp	1	-	1	-	3	-
<u>Rhizoctonia</u> spp	2	-	-	-	-	-
<u>Chaetophoma</u> spp	1	-	-	-	-	-
<u>Diplodia</u> spp	-	-	4	-	1	-
Bactérias	-	-	2	1	-	-
Total	29	2	36	2	38	1

ALGODÃO/SOJA	C a n t e i r o s					
	6		15		23	
	Nº ⁺	ANT ⁺	Nº	ANT	Nº	ANT
<u>Fusarium</u> spp	14	-	6	-	12	-
<u>Trichoderma</u> spp	4	-	13	-	3	-
<u>Gliocladium</u> spp	-	-	2	-	5	-
<u>Verticillium</u> spp	-	-	4	-	5	-
<u>Penicillium</u> spp	2	1	20	2	7	1
<u>Aspergillus</u> spp	4	-	-	-	1	-
<u>Macrophomina</u> spp	1	-	1	-	-	-
<u>Rhizoctonia</u> spp	1	-	1	-	-	-
<u>Chaetophoma</u> spp	-	-	-	-	1	-
<u>Diplodia</u> spp	-	-	-	-	1	-
Bactérias	2	-	-	-	2	1
Total	28	1	47	2	37	2

Cont.

QUADRO XVIII - continuação

ALGODÃO/AMENDOIM	C a n t e i r o s					
	5		14		22	
Microrganismos testados	Nº*	ANT**	Nº	ANT	Nº	ANT
<u>Fusarium</u> spp	9	-	11	-	11	-
<u>Trichoderma</u> spp	8	-	4	-	6	-
<u>Gliocladium</u> spp	-	-	2	-	-	-
<u>Verticillium</u> spp	1	-	3	-	2	-
<u>Penicillium</u> spp	7	1	8	2	7	-
<u>Aspergillus</u> spp	1	1	-	-	5	1
<u>Macrophomina</u> spp	3	-	-	-	-	-
<u>Rhizoctonia</u> spp	1	-	-	-	-	-
<u>Fusidium</u> spp	1	-	-	-	-	-
<u>Diplodia</u> spp	-	-	2	-	-	-
<u>Sclerotium</u> spp	-	-	1	-	-	-
Bactérias	1	-	-	-	2	-
Actinomicetos	-	-	-	-	1	-
Total	32	2	31	2	34	1

ALGODÃO/MUCUNA	C a n t e i r o s					
	7		21		24	
Microrganismos testados	Nº*	ANT**	Nº	ANT	Nº	ANT
<u>Fusarium</u> spp	7	-	12	-	15	-
<u>Trichoderma</u> spp	11	-	6	-	1	1
<u>Gliocladium</u> spp	-	-	2	-	7	-
<u>Verticillium</u> spp	-	-	5	-	6	-
<u>Penicillium</u> spp	8	-	8	-	9	-
<u>Aspergillus</u> spp	1	1	1	-	1	-
<u>Macrophomina</u> spp	1	-	2	-	2	-
<u>Rhizoctonia</u> spp	13	-	-	-	-	-
Bactérias	-	-	2	-	1	-
Total	41	1	38	0	42	1

* = número de isolamentos testados

** = número de isolamentos antagônicos

QUADRO XIX - Número de microrganismos antagonicos ao Fusarium do algodoeiro, isolados pela diluição seriada no ano agrícola 71/72, na primeira amostragem, utilizando os meios de agar-água (AA) e o de Jensen (J)

ALGODÃO/ALGODÃO

Repetições	D i l u i ç õ e s					
	1:50.000		1:500.000		1:5.000.000	
	AA	J	AA	J	AA	J
1	1	7	1	3	0	0
2	2	3	0	5	0	0
3	5	2	2	3	0	0
4	3	2	0	3	0	1
5	4	6	0	2	0	0
6	11	4	0	3	0	1
Total	26	24	3	19	0	2

ALGODÃO/SOJA

Repetições	D i l u i ç õ e s					
	1:50.000		1:500.000		1:5.000.000	
	AA	J	AA	J	AA	J
1	5	8	2	6	0	1
2	3	13	2	2	0	2
3	0	3	3	10	0	0
4	0	11	2	3	0	1
5	3	16	0	2	0	0
6	4	16	0	2	0	0
Total	15	67	9	25	0	4

Cont.

QUADRO XIX - continuação

ALGODÃO/AMENDOIM

Repetições	Diluições					
	1:50.000		1:500.000		1:5.000.000	
	AA	J	AA	J	AA	J
1	0	25	0	4	0	0
2	5	1	2	4	0	0
3	0	23	2	4	0	0
4	6	8	3	2	0	0
5	7	15	1	7	0	0
6	3	11	1	5	0	0
Total	21	83	9	26	0	0

ALGODÃO/MUCUNA

Repetições	Diluições					
	1:50.000		1:500.000		1:5.000.000	
	AA	J	AA	J	AA	J
1	5	14	0	0	0	0
2	0	8	6	5	0	1
3	3	31	5	4	0	0
4	2	7	1	6	0	1
5	1	19	0	9	0	2
6	0	0	5	2	0	0
Total	11	79	17	26	0	4

QUADRO XX - Número de microrganismos antagônicos ao Fusarium do algodoeiro, isolados pela diluição seriada, no ano agrícola 71/72, segunda amostragem, utilizando os meios de agar-água (AA) e o de Jensen (J)

ALGODÃO/ALGODÃO

Repetições	D i l u i ç õ e s					
	1:50.000		1:500.000		1:5.000.000	
	AA	J	AA	J	AA	J
1	21	22	13	0	0	2
2	29	17	10	4	0	4
3	22	15	10	0	1	9
4	26	16	3	0	1	8
5	33	13	6	0	2	9
6	21	22	8	3	0	3
Total	152	105	50	7	4	35

ALGODÃO/SOJA

Repetições	D i l u i ç õ e s					
	1:50.000		1:500.000		1:5.000.000	
	AA	J	AA	J	AA	J
1	9	8	2	4	0	0
2	24	7	6	1	2	1
3	12	4	4	0	3	0
4	8	10	5	2	2	1
5	15	15	3	2	1	0
6	17	16	2	8	1	0
Total	85	60	22	17	9	2

Cont.

QUADRO XX - continuação

ALGODÃO/AMENDOIM

Repetições	Diluições					
	1:50.000		1:500.000		1:5.000.000	
	AA	J	AA	J	AA	J
1	5	10	5	0	4	0
2	8	15	4	1	5	0
3	20	4	7	0	2	0
4	13	15	5	0	2	1
5	16	5	5	1	3	0
6	17	5	2	2	1	1
Total	79	54	28	4	17	2

ALGODÃO/MUCUNA

Repetições	Diluições					
	1:50.000		1:500.000		1:5.000.000	
	AA	J	AA	J	AA	J
1	17	16	0	1	0	1
2	17	21	0	0	2	0
3	14	18	0	2	1	1
4	8	8	0	2	1	4
5	16	23	1	0	0	0
6	12	11	0	2	0	0
Total	84	97	1	7	4	6