

**CENTRO UNIVERSITÁRIO DE ANÁPOLIS – UniEVANGÉLICA  
CURSO DE AGRONOMIA**

**BIOCONTROLE DE *Macrophomina phaseolina* E PROMOÇÃO DO  
CRESCIMENTO NA CULTURA DO GIRASSOL COM O USO DE  
*Trichoderma* sp. E RIZOBACTÉRIAS**

**Nelriene Pereira da Silva**

**ANÁPOLIS-GO  
2020**

**NELRILENE PEREIRA DA SILVA**

**BIOCONTROLE DE *Macrophomina phaseolina* E PROMOÇÃO DO  
CRESCIMENTO NA CULTURA DO GIRASSOL COM O USO DE  
*Trichoderma sp.* E RIZOBACTÉRIAS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao  
Centro Universitário de Anápolis-  
UniEVANGÉLICA, para obtenção do título de  
Bacharel em Agronomia.

**Área de concentração:** Fitopatologia

**Orientador:** Prof. Dr. Alan Carlos Alves de  
Souza

**ANÁPOLIS-GO  
2020**

Silva, Nelriene Pereira da  
Biocontrole de *Macrophomina phaseolina* e promoção do crescimento na cultura do girassol com o uso de *Trichoderma* sp. e rizobactérias/Nelriene Pereira da Silva. – Anápolis: Centro Universitário de Anápolis – UniEVANGÉLICA, 2020.  
39 p.

Orientador: Prof. Dr. Alan Carlos Alves de Souza  
Trabalho de Conclusão de Curso – Curso de Agronomia – Centro Universitário de Anápolis – UniEVANGÉLICA, 2020.

1. Controle biológico. 2. Antagonismo 3. *Helianthus annuus* I. Nelriene Pereira da Silva. II. Biocontrole de *Macrophomina phaseolina* e promoção do crescimento na cultura do girassol com o uso de *Trichoderma* sp. e rizobactérias.

CDU 504

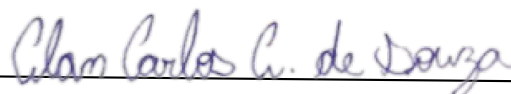
**NELRILENE PEREIRA DA SILVA**

**BIOCONTROLE DE *Macrophomina phaseolina* E PROMOÇÃO DO  
CRESCIMENTO NA CULTURA DO GIRASSOL COM O USO DE  
*Trichoderma sp.* E RIZOBACTÉRIAS**

Monografia apresentada ao Centro  
Universitário de Anápolis –  
UniEVANGÉLICA, para obtenção do título de  
Bacharel em Agronomia.  
**Área de concentração:** Fitopatologia

Aprovada em: 19/06/2020

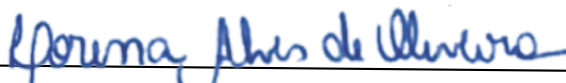
Banca examinadora



Prof. Dr. Alan Carlos Alves de Souza  
UniEvangélica  
Presidente

  
Prof. Elson de Jesus Antunes Júnior

Prof. Dr. Elson de Jesus Antunes Júnior  
UniEvangélica



Prof<sup>a</sup>. Dra. Lorena Alves de Oliveira  
UniEvangélica

Aos meus queridos pais Altamir Ferreira da Silva (*in memoriam*), com amor e saudades, e Renilda Pereira da Silva, que sempre foi minha motivação.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus que ilumina meu caminho pela graça da vida, por confortar meu coração e me dar forças durante todos os momentos difíceis, pelas batalhas que venci, e também pelas que perdi, pois me ensinaram lições importantes para a vida inteira.

Há uma grande quantidade de pessoas que passaram pela minha vida nesses cinco anos, outros que permaneceram, cujas perspectivas, companheirismo e encorajamento foram importantes. Dentre estes, há os que se ligaram a este projeto deixando um pedaço de suas vidas dentro da história, minha mãe Renilda, meu padrasto Cícero, irmãos Lenir, Nelto, André, Noé, Nelrivan e minha cunhada Débora, aos quais eu tenho eterna gratidão em meu coração, pelas orações infundas, todo o amor e cuidado dispensados a mim em todo o tempo.

Ao professor, orientador e amigo Dr. Alan Carlos, pela dedicação constante, toda a atenção, disponibilidade e paciência ao ensinar e auxiliar em cada detalhe.

Aos amigos, em especial àqueles que estiveram mais próximos de mim, me ajudaram inúmeras vezes, me apoiaram, incentivaram e mantiveram a paciência comigo mesmo com toda a minha teimosia, William, Herlon, Talyta, Daniele, Sara, e João Vitor.

Ao meu grande amigo Henrique Tobias, por nunca se afastar apesar da distância física, pelos melhores conselhos, por acreditar em mim, e pelo seu apoio incondicional sempre.

A todos os docentes do curso de Agronomia da UniEvangélica, aos funcionários da secretaria do curso, e a todos os funcionários da Unidade Experimental, pela disposição em contribuir para o meu aprendizado, e meu crescimento pessoal e profissional.

Ao laboratório de análises microbiológicas AgroLab, pela infraestrutura concedida, e disponibilização do espaço físico e materiais necessários para a realização dos experimentos.

“Quem escolheu a busca não pode recusar a travessia.”

Guimarães Rosa

## SUMÁRIO

<b>RESUMO.....</b>	<b>vii</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>8</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>10</b>
2.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A CULTURA DO GIRASSOL.....	10
<b>2.1.1. Podridão negra da raiz (<i>M. phaseolina</i>) .....</b>	<b>11</b>
2.2. CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS DE PLANTAS .....	13
<b>2.2.1. Rizobactérias Promotoras de Crescimento .....</b>	<b>14</b>
<b>2.2.2. <i>Trichoderma</i> spp. ....</b>	<b>15</b>
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>16</b>
3.1. ENSAIO <i>in vitro</i> .....	16
<b>3.1.1. Delineamento experimental .....</b>	<b>16</b>
<b>3.1.2. Montagem dos testes .....</b>	<b>16</b>
<b>3.1.3. Avaliação dos testes .....</b>	<b>18</b>
3.2. ENSAIO <i>in vivo</i> .....	18
<b>3.2.1. Delineamento experimental .....</b>	<b>18</b>
<b>3.2.2. Aplicação dos tratamentos .....</b>	<b>19</b>
<b>3.2.3. Inoculação do patógeno e avaliação da doença .....</b>	<b>20</b>
<b>3.2.4. Avaliação da promoção de crescimento .....</b>	<b>20</b>
3.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	21
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>22</b>
4.1. ENSAIO <i>in vitro</i> .....	22
4.2. ENSAIO <i>in vivo</i> .....	23
<b>4.2.1. Promoção de crescimento .....</b>	<b>23</b>
<b>4.2.2. Supressão da doença .....</b>	<b>26</b>
<b>5. CONCLUSÃO .....</b>	<b>30</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>31</b>



## RESUMO

Fungos fitopatogênicos habitantes do solo como *Macrophomina phaseolina* são de difícil controle, principalmente por formarem estruturas de resistência, os microescleródios. E por se tratar de uma espécie polífaga, faz-se necessário realizar estudos para se obter diferentes formas efetivas de controle desse patógeno. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi testar a eficiência de um isolado de *Trichoderma* sp. e rizobactérias no controle biológico de *M. phaseolina*, e avaliar seu efeito como promotores de crescimento na cultura do girassol. A presente pesquisa foi realizada em duas etapas, uma com ensaio *in vitro* e outra com ensaio *in vivo*. O ensaio *in vitro* foi conduzido no laboratório de análises microbiológicas AgroLab, onde realizou-se teste de pareamento de culturas com seis tratamentos e três repetições, sendo, (T1 - *Trichoderma* sp. + patógeno; T2 - *Bacillus* sp. + patógeno; T3 - *B. pyrrocinia* + patógeno; T4 - *P. fluorescens* + patógeno; T5 - *B. subtilis* + patógeno e T6 - somente o patógeno), avaliou-se a ocorrência de antibiose e selecionou-se os isolados mais promissores para o ensaio *in vivo*. O ensaio *in vivo* foi realizado na Unidade Experimental do laboratório AgroLab, em recipientes de 400 mL, em cultivo protegido, sendo conduzido em DIC cinco tratamentos (T1 - controle; T2 - Trichodermil®; T3 - *Trichoderma* sp.; T4 - *B. pyrrocinia* e T5 - *B. subtilis*) em oito repetições. Foram avaliados a capacidade dos bioagentes em suprimir a severidade da doença e, sua eficiência como promotores de crescimento para a cultura do girassol. Os parâmetros avaliados nas análises de crescimento foram: comprimento de raiz e parte aérea e, biomassa da raiz e parte aérea. Os resultados mostraram diferença significativa entre si pelo teste de F ( $p < 0,05$ ). Nos testes *in vitro*, os isolados de *Trichoderma* sp., *Bacillus subtilis* e *B. pyrrocinia* reportaram melhor atividade antagônica com 10,93%, 10,26% e 3,71% de inibição do crescimento micelial do patógeno, respectivamente. Na promoção de crescimento todos os tratamentos promoveram maior comprimento da raiz e aumento da biomassa da parte aérea. Não houve diferença significativa para comprimento da parte aérea em relação a testemunha, e os isolados de *B. subtilis*, *B. pyrrocinia* e *Trichoderma* sp. apresentaram maior biomassa da raiz. Na severidade da doença os tratamentos com *B. subtilis*, *B. pyrrocinia*, *Trichoderma* sp. e Trichodermil®, apresentaram 90,5%, 81,0%, 81,0% e 62,5% de supressão do patógeno, respectivamente. Concluiu-se que estes microrganismos apresentam potencial como promotores de crescimento e biocontroladores de doenças para a cultura do girassol, podendo tornar-se técnica viável a ser integrada ao MID.

**Palavras-chave:** antagonismo, controle biológico, *Helianthus annuus*.

## 1. INTRODUÇÃO

Segundo Lourenço (2009), a busca por um modelo de agricultura mais sustentável é de extrema importância para o Brasil, pois o agronegócio contribui positivamente para as contas externas do país, sendo considerado o setor mais importante da nossa economia. Logo, deve ser conduzido sob padrões de sustentabilidade, para manutenção e preservação dessa riqueza.

A área desta safra é estimada em 65.109,8 mil ha, representando um incremento de 2,9% na área plantada em comparação à safra passada ou uma variação absoluta de 1.847,6 mil ha, influenciado principalmente pelo crescimento das áreas de soja e milho. As culturas de primeira safra ocupam uma área de 45,5 mil ha, enquanto as culturas de segunda e terceira safras e de inverno são cultivadas em 19,6 mil ha, a maior parte aproveitando áreas já cultivadas. A Região Centro-Oeste é a principal produtora de girassol, sendo o Estado de Goiás o maior responsável por esse cultivo (CONAB, 2020).

A cultura do girassol está entre as principais espécies vegetais com potencial para a produção de energia renovável no Brasil. Por ser uma oleaginosa que produz alto teor de óleo de boa qualidade, configura-se como uma importante fonte de matéria-prima para a produção de óleo comestível e biocombustível (OLIVEIRA et al., 2018). Tem importante papel na alimentação humana e animal, e é uma cultura com elevado potencial ornamental, dentre as flores tropicais, destaca-se por possuir altura de hastes variadas e belas inflorescências com cores diversas, dependendo da variedade (ZOBIOLE et al., 2010).

Apresenta características desejáveis do ponto de vista agrônomo, como ciclo curto, ampla adaptabilidade às diferentes condições edafoclimáticas, rusticidade e resistência a déficits hídricos, podendo ser cultivada em todas as regiões do País, pois o rendimento é pouco influenciado pelas latitudes e altitudes, assim como pelo fotoperíodo, o que facilita a expansão do cultivo no Brasil (CASTRO et al., 2005).

No entanto, de acordo com Lazzarotto et al., (2005) a expansão da cultura do girassol no país pode ser prejudicada, pela ocorrência de doenças causadas por fungos, bactérias, vírus e nematóides, devido apresentar climas que favorecem o desenvolvimento desses patógenos, e seu controle pode ser considerado de alto custo, levando os produtores a dar preferência para culturas com maiores rendimentos, a exemplo, soja e milho.

A importância dessas doenças pode variar anualmente dependendo de condições climáticas que favoreçam a ocorrência e o processo infectivo de determinados patógenos. De modo geral, as doenças ocorrem com maior intensidade nessa cultura a partir do florescimento,

e as mais comuns são mancha de alternária (*Alternaria helianthi*); mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*); ferrugem (*Puccinia helianthi* Schw.); oídio (*Erysiphe cichoracearum*); mancha preta da haste (*Phoma oleracea* var. *helianthi tuberosi* Sacc.) e a podridão negra (*Macrophomina phaseolina* (Tass.) Goid.), sendo esta, muito estudada devido ao grande número de culturas que é capaz de causar danos (RIBEIRO, 2008; SU et al., 2001; SANTOS, 2018).

Fungos fitopatogênicos habitantes do solo, como *Macrophomina phaseolina*, são de difícil controle, principalmente por formarem estruturas de resistência, os microesclerócios. A eliminação ou redução de alguns microrganismos tem sido eficientemente alcançada por tratamentos químicos (DOMENE et al., 2016), porém, para esta doença este método não tem sido efetivo, nem economicamente viável, e levando em consideração que *M. phaseolina* é um fungo cosmopolita e patogênico de diferentes espécies, o que facilita a disseminação da doença, uma vez que pode sobreviver em culturas como o amendoim, girassol, morango, soja, milho, entre outras espécies cultivadas e também algumas invasoras, a rotação de culturas e o uso de controle químico nem sempre são uma alternativa para diminuir a fonte de inóculo, podendo ser utilizado o controle biológico, incluindo-o ao manejo integrado da doença (LINHARES et al., 2015).

Alguns fungos do gênero *Trichoderma*, são registrados como agentes de biocontrole para um grande número de patógenos e como promotores de crescimento de plantas (YEDIDIA et al., 2003). A compatibilização da produção agrícola, conservação ambiental e a segurança alimentar tornaram-se o grande desafio deste século, o que tem como princípio a integração dos fatores biológicos nos sistemas de produção (PATERNIANI, 2001). Com isso, tem aumentado o uso de microrganismos, como o *Trichoderma* sp., e as rizobactérias promotoras de crescimento, que podem resultar no acúmulo de biomassa, na supressão de doenças, aumento da produtividade no campo e redução do uso de defensivos químicos (GHINI et al., 2000; SOTTERO et al., 2006).

Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de um isolado de *Trichoderma*, e algumas rizobactérias na supressão da podridão negra da raiz (*Macrophomina phaseolina*) e a promoção de crescimento na cultura do girassol em cultivo protegido.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A CULTURA DO GIRASSOL

Originário do continente norte americano, o girassol (*Helianthus annuus* L.) é cultivado em todos os demais continentes, devido sua grande capacidade de adaptação a diferentes condições edafoclimáticas, refletindo em características agronômicas, tais como resistência a seca, ao frio, ao calor e de pouca influência da latitude, altitude e fotoperíodo. Assim, apresenta-se como opção para os sistemas de rotação e sucessão de culturas em várias regiões produtoras de grãos (CASTRO et al., 1993; CORREIA et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2017).

É uma das culturas de maior expressão econômica e está entre as oleaginosas em produção de grãos, que responde por grande parte de todo o óleo vegetal produzido no mundo. Quase tudo se aproveita dessa cultura, das flores podem ser extraídos de 20 a 40 kg de mel por ha plantado; as hastes podem ser usadas para forração acústica, além de que juntamente com as folhas, podem ser ensiladas para formação de adubo verde (UNGARO, 2000).

Os grãos de girassol podem ser utilizados para a extração de óleo de alta qualidade, este óleo apresenta teores de ácido linoleico entre 55 e 65% que ajudam a reduzir o colesterol plasmático e, por consequência, diminuem os riscos de doenças cardiovasculares. Além dos benefícios à saúde, como aqueles proporcionados pelo ácido graxo linoleico, o óleo rico em ácido graxo oleico apresenta maior grau de estabilidade oxidativa (NAGARATHNA et al., 2011; CORREIA et al., 2017). No entanto sua maior importância econômica está concentrada na utilização do óleo para produção de biocombustível (RIBEIRO, 2008).

No processo de extração, obtém-se também um farelo (coproduto) altamente proteico e usado na produção de ração animal (SILVA et al., 2009; RODRIGUES et al., 2013). Segundo Ribeiro (2008), a cultura do girassol tem grande potencial no fornecimento de matéria-prima. Outro efeito benéfico do plantio do girassol na entressafra está ligado ao seu sistema radicular. Segundo Gomes et al. (2007), as raízes dessa cultura são profundas, o que permite a extração de nutrientes em profundidades não alcançadas por culturas como a soja. Neste sentido, além de promover a melhoria na estrutura do solo, contribui para o enriquecimento das camadas superficiais, quando da decomposição dos restos culturais (SODRÉ FILHO et al., 2004).

O cultivo do girassol no país oscila muito, pois depende de fatores como bons preços no mercado, formalização de contratos de comercialização e a competição com culturas de segunda safra mais rentáveis, a exemplo do algodão, milho, e até mesmo o gergelim, o que resulta nessa perda de espaço a cada ano (CONAB, 2020). Estima-se que, no ciclo 2019/20,

25,2 mil ha foram semeados, queda de 33,7% em relação aos 38 mil ha plantados na safra 2018/19. O maior produtor de girassol no país atualmente é o Estado de Goiás com mais de 70% de toda a área cultivada, e a maior parte é decorrente de contratos firmados com uma indústria processadora de óleo de girassol no estado, em que o plantio já é feito com venda garantida por meio de contrato (CONAB, 2020).

O girassol é hospedeiro natural de mais de três dezenas de microrganismos fitopatogênicos, em que os fungos são os mais importantes, dependendo das condições climáticas que favoreçam a ocorrência e o processo infectivo pelos patógenos, podem levar a redução significativa da produção e da qualidade do produto (CASTRO et al., 1996; LEITE et al., 2007), sendo também atacado por doenças causadas por vírus, bactérias e nematóides (GAZZOLA et al., 2012).

A importância das doenças está relacionada com as cultivares, tratos culturais e condições climáticas. As principais doenças observadas na região do cerrado, são mancha de alternária, causada por *Alternaria helianthi*, que tem sido a doença predominante na cultura do girassol no Brasil, ocorrendo em praticamente todas as regiões e em todas as épocas de semeadura (LEITE et al., 2017), e o mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*), sendo esta, a doença mais importante do girassol no mundo, devido os graves danos causados e o difícil controle (LEITE, 1997; BACKES et al., 2008).

Outra doença que tem sido muito estudada é a podridão negra da raiz, causada pelo fungo *Macrophomina phaseolina* devido sua severidade e capacidade de infectar diversas culturas, além de em condições de estresses da planta incrementar os danos inicialmente ocasionados por outros fungos, e encontra-se amplamente distribuída nas regiões produtoras de girassol no mundo (GAZZOLA et al., 2012). Devido ao seu caráter contínuo e devastador, as doenças radiculares causadas por fungos estão entre as principais causas de redução na produtividade de culturas de interesse econômico (CORREIA; MICHEREFF, 2018).

### **2.1.1. Podridão negra da raiz (*M. phaseolina*)**

A podridão negra da raiz, é causada pelo fungo *Macrophomina phaseolina* que é um patógeno veiculado pelo solo capaz de infectar centenas de espécies de plantas agronomicamente importantes, ou espécies de plantas invasoras, causando podridões de raízes e de caules. É uma espécie polífaga e tem grande variabilidade genética. A hifa é unicelulada, apresentando células multinucleadas nas extremidades. Ocorre formação de picnídios em

determinados hospedeiros como soja, milho, sorgo, feijão e juta, não foi descrito essa ocorrência na cultura do girassol (ALMEIDA et al., 1981).

Os picnídios são globosos e negros, os conídios unicelulares e hialinos. Produz microescleródios em tecidos infectados que são a principal fonte de inóculo, estes são estruturas multicelulares, duras e resistentes. Os microescleródios são liberados no solo, a partir da decomposição de tecidos de plantas infectadas, onde sobrevivem por anos, sob condições adversas, principalmente em condições de temperaturas elevadas e estresse hídrico. A disseminação ocorre através de implementos agrícolas, águas de irrigação, vento, animais, além de sementes contaminadas (BIANCHINI et al., 1997).

É uma doença que provoca redução no estande das plantas no campo, devido causar a morte das mesmas, além de induzir a maturação prematura, minorando a produção e a qualidade das sementes. As plantas podem ser infectadas desde o início do desenvolvimento, no entanto, os sintomas típicos só aparecem a partir do florescimento. O sintoma mais comum é a desagregação dos tecidos das raízes e da base da haste, apresentando coloração negra característica, causada pela abundante produção de microescleródios que são facilmente visíveis pela remoção da epiderme. Ocorre acamamento das plantas devido as hastes infectadas tornarem-se ocas e facilmente quebradiças. Massas de escleródios também podem causar descoloração na base da haste (ALMEIDA et al., 1981; AMBRÓSIO, 2003).

Fungos fitopatogênicos habitantes do solo, uma vez introduzidos em uma área de plantio, dificilmente serão eliminados, pois possuem elevada capacidade de competição saprofítica e podem sobreviver na forma de estruturas de resistência, e em resíduos de plantas introduzidos no solo e, podem permanecer viáveis na ausência de plantas hospedeiras em elevadas densidades populacionais, mesmo após longos anos ou diferentes formas de manejo (DIAS et al., 2017; CORREIA; MICHEREFF, 2018).

Uma forma de controle bastante utilizada, é a cobertura do solo com restos de culturas acompanhada do bom manejo químico e físico do solo, porém devido à ação polífaga deste fungo, torna-se difícil a realização dessa prática, comprometendo também a rotação de culturas que acaba apresentando uma baixa eficiência no controle da doença. O controle químico praticamente não é utilizado, devido os custos serem elevados e não apresentar uma boa eficiência, tornando-se importante a introdução do controle biológico ao manejo integrado da doença (SANTOS et al., 2010).

## 2.2. CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS

Existem várias definições de controle biológico de doenças de plantas, umas mais abrangentes e outras mais restritas, sendo que ambos os conceitos envolvem a redução da densidade populacional do patógeno, a proteção biológica da superfície de plantas e o controle dentro da planta (MARIANO et al., 2005). Dentre as definições mais aceitas, tem destaque o ponto de vista de Cook; Baker (1983), que considera o controle biológico como a redução da soma do inóculo ou das atividades determinantes da doença, provocada por um patógeno, realizada por ou através de um ou mais organismos que não o homem.

Iniciou-se como ciência em 1.926, quando Sanford publicou um trabalho sobre fatores que afetavam a patogenicidade de *Streptomyces scabies*, agente causal da sarna comum da batata, porém o termo “controle biológico” só foi utilizado pela primeira vez em 1.931, quando Sanford e Broadfoot empregaram o termo em um artigo sobre o mal-do-pé do trigo, causado por *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (MICHEREFF; MARIANO, 1993; BETTIOL et al., 2008).

No Brasil, a história do controle biológico de doenças é relativamente recente, tendo início em 1.950 quando foi publicado o primeiro artigo sobre o tema por Foster, pesquisador do IAC, em que trabalhou com isolados de *Trichoderma* na inativação do vírus do mosaico comum do fumo. Entretanto, a área só foi estruturada depois da ocorrência da primeira Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas, realizada em Piracicaba, SP, em 1.987 (MORANDI; BETTIOL, 2009), e desde então tem sido uma área crescente de estudos e com grande potencial, sendo considerada por vários autores como a grande ferramenta do futuro para uma agricultura mais sustentável (GHINI et al., 2000; MARIANO et al., 2013; ROEL, 2016).

Segundo Michereff (1993), o conhecimento dos mecanismos de antagonismo é essencial, pois na prática, provavelmente poucos organismos exerçam um único mecanismo antagônico. Os mecanismos básicos de antagonismo são, antibiose, competição, parasitismo, hipovirulência, predação e indução de resistência. Estes mecanismos não são mutuamente exclusivos, pois sua importância relativa pode variar de acordo com as condições ambientais e estado de desenvolvimento do agente biocontrolador e do fitopatógeno. Um antagonista pode atuar através de um ou mais mecanismos, o que proporciona um aumento nas chances de sucesso do controle biológico, sendo considerada uma característica desejável.

Diversos microorganismos antagonistas são utilizados, ou apresentam potencial para utilização no biocontrole de doenças e promoção de crescimento de plantas como os fungos e bactérias dos gêneros *Serratia*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Trichoderma*, *Gliocladium*, *Coniothyrium*, *Verticilium*, *Enterobacter*, *Talaromyces*, *Fusarium*, *Athelia*, *Alternaria*, *Darluka*, *Scytalidium*, *Ampelomyces*, *Cryphonectria*, *Peniphora*, *Streptomyces*, *Acremonium* e *Clonostachys*. São também utilizadas estirpes fracas de vírus para premunização, como CTV ou PRSV-W. Dentre os principais mais estudados estão as rizobactérias que além de suas características antagonistas também agem como promotoras de crescimento, e os fungos do gênero *Trichoderma* que apresentam potencial diferenciado para o controle de doenças de solo que formam estruturas de resistência (BETTIOL; MORANDI, 2009).

### **2.2.1. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCP)**

As bactérias que crescem próximo as raízes e que são estimuladas pelos exsudatos radiculares são chamadas rizobactérias. Algumas delas promovem o crescimento vegetal por diferentes mecanismos ao serem inoculadas nas sementes ou no solo, sendo conhecidas como rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCP) (CATTELAN, 1999). A prospecção e síntese de bioprodutos a partir dessas rizobactérias estão em ascensão, visto que apresentam grande potencialidade atuando por diversos mecanismos, como produção de substâncias fitorreguladoras, aumento da disponibilidade de nutrientes e biocontrole de fitopatógenos (SANTOS, 2018).

Há rizobactérias que atuam como agentes de biocontrole de doenças radiculares em diversas culturas, como algumas espécies do gênero *Bacillus*, procariotos que possuem a capacidade de colonizar e se multiplicarem na rizosfera de plantas cultivadas, onde podem atuar como antagonistas a fitopatógenos (TAN et al., 2013). Segundo Silva et al. (2008), os gêneros de bactérias antagonistas de maior prevalência são *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp. *Pseudomonas* do grupo fluorescentes (*P. putida* e *P. fluorescens*), e representantes da família Enterobacteriaceae.

Oliveira et al. (2012), em seus estudos para observar o desempenho do milho sob adubação mineral e inoculação das sementes com rizobactérias, constatou que a inoculação com *Pseudomonas fluorescens* associada à adubação de semeadura favoreceu o desenvolvimento e o desempenho produtivo do milho de segunda safra. Silva; Romeiro (2015), trabalhando com isolamento e seleção massal de rizobactérias indutoras de resistência sistêmica à mancha-



bacteriana-pequena do tomateiro, obtiveram resultados positivos para os 28 antagonistas utilizados, de maneira que todos mostraram-se colonizadores do sistema radicular e protegeram as plantas de tomate contra o patógeno desafiante, comprovando a eficiência das rizobactérias como promotoras de crescimento e biocontroladoras de doenças.

### **2.2.2. *Trichoderma* spp.**

O gênero *Trichoderma* é composto por fungos de vida livre, que são comuns nos ecossistemas do solo e das raízes. São considerados simbioses oportunistas e avirulentos de plantas, além de serem parasitas de outros fungos. Eles produzem ou liberam uma variedade de compostos que induzem respostas de resistência localizadas ou sistêmicas nas plantas, e a colonização de raízes por *Trichoderma* spp., também melhora o crescimento e desenvolvimento das raízes, a produtividade das culturas, a resistência a estresses abióticos e a captação e uso de nutrientes (HARMAN et al., 2004). De acordo com Pomella; Ribeiro (2009), os mecanismos de *Trichoderma* na promoção de crescimento vegetal, em ausência de fitopatógenos, ainda são pouco esclarecidos em comparação aos mecanismos de ação envolvendo o controle biológico.

*Trichoderma harzianum* destaca-se por ser a espécie mais estudada do ponto de vista do controle biológico, contudo outras espécies como *T. koningii*, *T. viride*, *T. hamatum*, *T. pseudokoningii* e *T. polysporum* também têm sido isoladas e estudadas (MARIANO et al., 2005). A produção em massa de *Trichoderma* tornou-se um foco de pesquisa e desenvolvimento industrial na busca de alternativas a tratamentos químicos para o controle de doenças de plantas ocasionadas por microrganismos presentes no solo e em sementes (MACHADO et al., 2012).

Em estudos realizados por Carvalho et al. (2011), avaliando-se a capacidade antagonista de *Trichoderma harzianum* a *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*, *in vitro* e em tratamento de sementes, constatou-se que todos os isolados utilizados apresentaram antagonismo *in vitro* ao patógeno. E quatro, dos seis isolados utilizados foram superiores à testemunha no controle de *F. oxysporum* em sementes, reduzindo entre 35 e 51% da incidência do patógeno e proporcionando entre 73 e 81% de plântulas normais, colaborando com os resultados de outros autores (HARMAN et al., 2004; BETTIOL et al., 2009; MERTZ, et al., 2009; MACHADO et al., 2012;).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados dois ensaios: *in vitro* e *in vivo*. O objetivo do ensaio *in vitro* foi testar o antagonismo de bioagentes perante o patógeno *Macrophomina phaseolina* e selecionar os melhores microrganismos para a realização do ensaio *in vivo*. O objetivo do ensaio *in vivo* foi avaliar os bioagentes selecionados na promoção de crescimento e supressão da doença em plantas de girassol.

#### 3.1. ENSAIO *in vitro*

##### 3.1.1 - Delineamento experimental

A presente pesquisa foi realizada no laboratório de análises microbiológicas AgroLab, localizado na Av. do povo, Jardim Liberdade, Goiânia-GO. Utilizou-se um isolado de *Trichoderma* e quatro rizobactérias para testar sua eficiência como antagonistas a *Macrophomina phaseolina*. Todos os microrganismos utilizados na pesquisa, inclusive o patógeno, são provenientes da coleção de microrganismos multifuncionais do laboratório AgroLab.

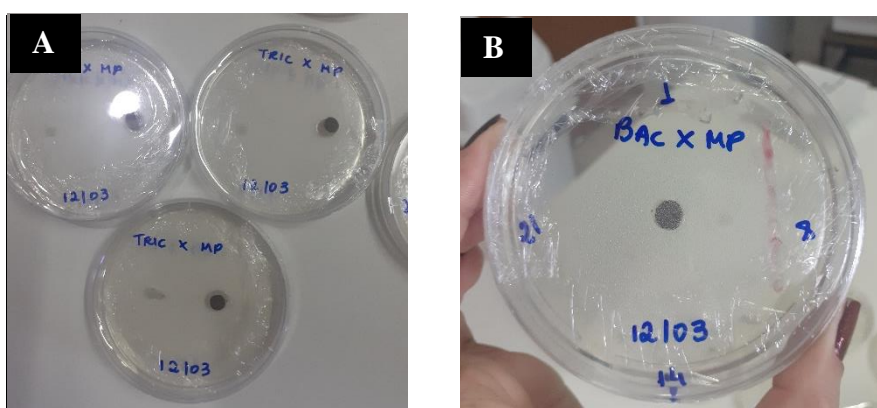
O ensaio foi conduzido utilizando a técnica de pareamento de culturas em placas de Petri contendo meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar), conforme descrito por Dennis; Webster (1971). O teste foi composto por um total de cinco tratamentos (antagonistas) e a testemunha (patógeno cultivado na ausência do antagonista), com três repetições, em delineamento inteiramente casualizado. Os tratamentos foram: T1 - *Trichoderma* sp. + patógeno; T2 - *Bacillus* sp. + patógeno; T3 - *Burkholderia pyrrocinia* + patógeno; T4 - *Pseudomonas fluorescens* + patógeno; T5 - *Bacillus subtilis* + patógeno e T6 - somente o patógeno *M. phaseolina*.

##### 3.1.2 - Montagem dos testes

Para a montagem dos testes, o patógeno *M. phaseolina* foi cultivado em placa de Petri com meio BDA e incubado em câmara de crescimento do tipo BOD por um período de dez dias, com fotoperíodo de 12h e temperatura de 28°C. Para testar a eficiência do isolado fúngico de *Trichoderma* sp., previamente conservado em papel celofane, pareou-se na mesma placa de Petri um disco de micélio, de 0,5 cm de diâmetro, de *M. phaseolina* (previamente cultivada) com um pedaço de papel celofane de *Trichoderma* sp. com 0,5 cm de diâmetro. Ambas as

estruturas foram colocadas a 1,5 cm da borda da placa, contendo 20 mL do meio de cultura BDA, em lados opostos (Figura 1A).

Para o teste de antagonismo das rizobactérias, os isolados bacterianos foram multiplicados em erlenmeyers contendo 100 mL do meio de cultura líquido caldo nutriente, os quais foram colocados em mesa agitadora na velocidade de 110 rpm por 48 horas. Em seguida, as suspensões multiplicadas foram padronizadas com o auxílio de um espectrofotômetro e ajustadas com comprimento de onda de 540 nanômetros e 0,5 de absorbância, obtendo a concentração de  $1 \times 10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup>. Posteriormente, foram adicionados 100 µL da suspensão padronizada de cada isolado bacteriano em placa de Petri (9 cm de diâmetro) contendo 20 mL do meio de cultura BDA e, com o auxílio de uma alça de platina, foram feitas quatro estrias em sentidos opostos na mesma placa, uma com cada bactéria, a 1,5 cm da borda. Em seguida, um disco de micélio de 0,5 cm de diâmetro do fitopatógeno *M. phaseolina* foi colocado no centro da placa (Figura 1B).



**Figura 1-** Placas de Petri contendo meio de cultura BDA, disco com colônias de *M. phaseolina* e papel celofane com *Trichoderma* sp. (A). Placa contendo estrias com as rizobactérias e ao centro disco com colônias do patógeno (B). Goiânia-GO.

Fonte: SILVA (2020).

No caso da testemunha, transferiu-se para o centro das placas de Petri, contendo meio BDA um disco de 0,5 cm de diâmetro do fitopatógeno *M. phaseolina*. Todas as placas foram incubadas em câmara de crescimento do tipo BOD por 8 dias, na temperatura de 28°C, com fotoperíodo de 12h (ETHUR et al., 2005).

### 3.1.3 - Avaliação dos testes

As avaliações foram realizadas aos 8 dias após a incubação, medindo-se o diâmetro da área de crescimento micelial do patógeno *M. phaseolina* em cada repetição. A partir dos resultados obtidos, foram selecionados aqueles isolados que demonstraram o melhor desempenho em relação ao percentual de redução de crescimento micelial do patógeno.

## 3.2. ENSAIO *in vivo*

### 3.2.1 Delineamento experimental

Os testes *in vivo* foram realizados na Unidade Experimental do laboratório de análises microbiológicas AgroLab, localizado nas coordenadas geográficas de latitude 16° 40' 48" Sul e longitude 49° 15' 18" Oeste, com altitude de 749m. O clima da região é classificado de acordo com Köppen, como Aw (tropical com estação seca). A temperatura média anual é de 24.9°C e a pluviosidade média anual de 1924 mm, com chuvas de outubro a abril.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, sendo cinco tratamentos previamente determinados e selecionados no ensaio *in vitro*, consistindo em: T1 – controle; T2 - Trichodermil®; T3 - *Trichoderma* sp.; T4 - *Burkholderia pyrrocinia* e T5 - *Bacillus subtilis*, com oito repetições, sendo que quatro foram utilizados para avaliação da promoção do crescimento e quatro utilizou-se para avaliar a ocorrência e severidade da doença (Figura 2).

O ensaio foi realizado em condições de cultivo protegido com telado utilizando recipientes de plástico descartáveis (400mL) com substrato comercial Ouro Negro® (esterco de gado e de aves, húmus de minhoca, bokashi e casca de pinus). Foram semeadas duas sementes por repetição, deixando apenas uma planta, com desbaste realizado aos 14 dias após o plantio. A cultivar de girassol utilizada foi a BRS 324.



**Figura 2-** Ensaio experimental de girassol aos 14 dias após o plantio, tratado com bioagentes em condições de telado. Goiânia-GO.  
Fonte: SILVA (2020).

### 3.2.2 - Aplicação dos tratamentos

Para o preparo da suspensão utilizada nos tratamentos com o *Trichoderma* sp., o isolado foi multiplicado em placas de Petri contendo meio de cultura BDA. As placas foram incubadas em câmara de crescimento do tipo BOD por 8 dias, na temperatura de 28 °C, com fotoperíodo de 12 h. Após isso, as placas foram lavadas com água destilada, com o auxílio de uma alça de Drigalski, obtendo-se a suspensão, a qual foi ajustada para a concentração de  $3,0 \times 10^5$  conídios viáveis  $\text{mL}^{-1}$  por meio de uma câmara de Neubauer em microscópio óptico (SOUZA et al., 2015).

Para o preparo da suspensão com as rizobactérias, os isolados bacterianos foram multiplicados em Erlenmeyers contendo 100 mL do meio de cultura líquido caldo nutriente, os quais foram colocados em mesa agitadora na velocidade de 110 RPM por 48 horas. Em seguida, as suspensões multiplicadas foram padronizadas com o auxílio de um espectrofotômetro e ajustadas com comprimento de onda de 540 nanômetros e 0,5 de absorbância, obtendo a concentração de  $1 \times 10^8$  UFC. $\text{mL}^{-1}$  (SOUZA et al., 2015).

A aplicação das suspensões foi realizada no momento do plantio, através do tratamento das sementes, na dosagem de 500 mL das suspensões para 100 Kg de sementes e, uma pulverização foliar aos 14 dias após o plantio, com dosagem de 200 mL  $\text{ha}^{-1}$  com o auxílio de um pulverizador manual. O produto biológico comercial utilizado foi o Trichodermil® SC 1306 (*Trichoderma harzianum*), aplicado da mesma forma e dosagem que os tratamentos anteriores.

### **3.2.3 - Inoculação do patógeno e avaliação da doença**

A inoculação do patógeno ocorreu artificialmente através da técnica do palito, aos 21 dias após o plantio, espetando-se o palito colonizado na haste das plantas sem atravessá-la totalmente, cerca de 1 cm abaixo do nó cotiledonar. Para obtenção dos palitos colonizados, utilizou-se palitos-de-dente de madeira de pinus de formato cilíndrico, os quais foram fervidos com duas trocas de água para eliminar a resina e, depois de secos, foram cortados em  $\frac{1}{4}$  do tamanho normal e apontados em uma das extremidades. Em seguida foram colocados nas placas de Petri e esterilizados em autoclave por 30 min a 120 °C e 1 atm. O meio de cultura BDA foi vertido na placa de Petri contendo cerca de 60 palitos por placa e, a quantidade de meio de cultura foi distribuída de forma que apenas 3 a 4 mm da extremidade afinada do palito, na posição vertical, ficasse fora do meio. Após a solidificação do meio, o fungo foi repicado sobre o BDA e as placas foram incubadas a temperatura de 30 °C durante 10 dias, até os palitos serem totalmente colonizados pelo fungo (TESSO; EJETA, 2011). O experimento foi mantido em telado sendo irrigado de dois em dois dias.

As avaliações de ocorrência da doença foram efetuadas determinando a severidade, aos 8 dias após a inoculação e, a Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD), aos 2, 4 e 8 dias após a inoculação com o patógeno. Para a avaliação empregou-se uma escala de notas, adaptada de Abawi e Pastor-Corrales (1990), com variação de 1 a 9, onde 1 = ausência de sintomas visíveis; 3 = discreta lesão necrótica a até 10% do hipocótilo com lesões superficiais; 5 = aproximadamente 25% do hipocótilo apresentando lesões necróticas; 7 = aproximadamente 50% do hipocótilo lesionada, com percepção discreta das estruturas fúngicas e 9 = aproximadamente 75% ou mais dos tecidos do hipocótilo apresentando lesões, sendo observado intenso crescimento fúngico. Os valores da severidade média obtidos foram utilizados para o cálculo da AACPD, conforme metodologia de Campbell e Madden (1990).

### **3.2.4 - Avaliação da promoção de crescimento**

As avaliações da promoção de crescimento foram realizadas aos dezoito dias após a semeadura. Os parâmetros avaliados nas análises de crescimento foram: comprimento de raiz e parte aérea e biomassa de raiz e parte aérea. Efetuou-se a medida do comprimento da parte aérea das plantas e da parte radicular com auxílio de régua milimétrica, em seguida com uma tesoura, separou-se a raiz da parte aérea e as plantas foram acondicionadas em sacos de papel e

colocadas em estufa por 72 horas a 60 °C para a secagem. Depois de secas, cada amostra foi pesada separadamente em balança de precisão, determinando a biomassa, conforme Rodrigues (2010).

### 3.3 – ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados obtidos nos dois ensaios foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey a 5% de probabilidade. Utilizou-se o software SPSS versão 21.0 como auxílio na análise.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4. 1. ENSAIO *in vitro*

De acordo com os resultados obtidos (Tabela 1), observou-se diferença significativa entre os tratamentos utilizados. O tratamento controle contendo somente o patógeno *M. phaseolina* apresentou crescimento micelial de 90 mm, demonstrando que houve condições favoráveis para o desenvolvimento do mesmo. Os tratamentos contendo os isolados de *Trichoderma* sp. e *Bacillus subtilis* se destacaram dos demais, apresentando crescimento micelial do patógeno de 80,16 mm e 80,76 mm, com 10,93% e 10,26% de inibição de *M. phaseolina* em relação ao tratamento controle, respectivamente, reportando melhor atividade antagonica. A bactéria *Burkholderia pyrrocinia* também se mostrou eficiente estatisticamente, apresentando 86,66 mm de crescimento micelial do patógeno, com 3,71% de inibição em relação ao tratamento controle (Tabela 1).

**TABELA 1.** Crescimento micelial (mm) de colônias de *Macrophomina phaseolina* em função da ação inibitória de diferentes microrganismos antagonistas em meio BDA.

Tratamentos	Crescimento Micelial (mm)
<i>M. phaseolina</i>	90,00 c
<i>Pseudomonas fluorescens</i> x <i>M. phaseolina</i>	90,00 c
<i>Bacillus</i> sp. x <i>M. phaseolina</i>	90,00 c
<i>Burkholderia pyrrocinia</i> x <i>M. phaseolina</i>	86,66 b
<i>Bacillus subtilis</i> x <i>M. phaseolina</i>	80,76 a
<i>Trichoderma</i> sp. x <i>M. phaseolina</i>	80,16 a
CV (%)	2,97

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>5%).

De acordo com Carvalho Filho (2013), o *Trichoderma* sp. está entre os antagonistas mais utilizados contra patógenos do solo, pois são capazes de inibir o desenvolvimento de vários desses fitopatógenos. Segundo Machado et al. (2012), essa capacidade é devido a sua versatilidade de ação, como parasitismo, antibiose e competição. Dias (2011), avaliando o potencial de doze isolados de *Trichoderma* na inibição de patógenos de solo, (*Sclerotium rolfsii* em tomateiro, *Rhizoctonia solani* na cultura da alface e *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* no feijoeiro-comum, constatou que todos os isolados testados apresentaram capacidade em inibir o crescimento de pelo menos um dos patógenos e, em alguns casos, o antagonista chegou a ocupar 100% da distância entre as colônias.



Corroborando com os resultados obtidos, Amaral (2018), testou diferentes isolados de *Trichoderma* e obteve resultados positivos, onde três isolados da espécie *T. atroviride* inibiram o crescimento micelial de todos os cinco isolados de *M. phaseolina* avaliados.

As bactérias do gênero *Bacillus* spp. se destacam como bactérias antagonistas por formarem endósporo e apresentarem uma multiplicidade de mecanismos antagônicos (LANNA FILHO et al., 2010). Bactérias antagônicas, como *B. subtilis*, de modo geral agem significativamente por antibiose e, ocasionalmente, por parasitismo e competição. Estudos realizados por Chen et al. (2008), revelaram que *B. subtilis* é capaz de produzir substâncias voláteis com atividade antifúngica, o que pode ser um dos fatores que contribuíram neste caso, para que fosse um dos tratamentos mais eficientes na inibição do crescimento micelial de *M. phaseolina*.

Não foram encontrados relatos na literatura de resultados em que, a bactéria *Burkholderia pyrrocinia* tenha sido testada como antagonista à *Macrophomina*, no entanto, em pesquisa realizada por Massenssini et al. (2016), um isolado do gênero *Burkholderia*, inibiu severamente o crescimento radial da colônia de *Pisolithus* sp., levando à produção de micélio aéreo pouco denso. Bach (2016), testando isolados de diferentes microrganismos antagonistas, constatou que a *Burkholderia* sp. se destacou entre os demais tratamentos pela produção de um metabólito estável com ampla atividade contra fungos fitopatogênicos, apresentando atividades antagônicas contra patógenos. Devido aos resultados positivos, os isolados de *Trichoderma* sp., *Bacillus subtilis* e *Burkholderia pyrrocinia* foram escolhidos para a realização do teste *in vivo*.

#### 4. 2. ENSAIO *in vivo*

##### 4.2.1. Promoção de crescimento

Os tratamentos testados na promoção de crescimento mostraram diferença significativa entre si (Tabela 2). Em relação ao parâmetro comprimento de parte aérea, nenhum dos tratamentos utilizados diferiram estatisticamente do tratamento controle, constatando que não houve diferença no crescimento da parte aérea das plantas.

Para o parâmetro comprimento de raiz, as plantas mostraram melhor desenvolvimento nos tratamentos contendo Trichodermil®, *Trichoderma* sp., *B. subtilis* e *B. pyrrocinia*, apresentando 33,66%, 27,06%, 26,07% e 23,43% de aumento no crescimento das raízes em relação ao tratamento controle, respectivamente. Quanto à biomassa das raízes, observou-se que o tratamento contendo a bactéria *Burkholderia pyrrocinia* destacou-se dos demais, com

259,23% a mais de biomassa em relação ao tratamento controle, seguido dos tratamentos com a bactéria *Bacillus subtilis*, com 176,92% e, com o isolado de *Trichoderma* sp. com aumento de 76,92% da biomassa em relação à testemunha. Para a biomassa da parte aérea as plantas tratadas com *B. pyrrocinia*, *B. subtilis*, *Trichoderma* sp. e Trichodermil®, obtiveram 420,48%, 369,87%, 153,01% e 48,19% de aumento da biomassa em relação ao tratamento controle, respectivamente.

**TABELA 2-** Avaliação da promoção de crescimento, dado pelo teste de médias, considerando comprimento de raiz e parte aérea e, biomassa de raiz e parte aérea, realizada no décimo oitavo dia após a semeadura em plantas de girassol, em condições de telado.

Tratamentos	Comprimento (cm)		Biomassa (g)	
	Raiz	Parte Aérea	Raiz	Parte Aérea
Controle	15,15 b	7,60 a	0,0130 c	0,0083 c
Trichodermil®	20,25 a	6,70 a	0,0162 c	0,0123 bc
<i>Trichoderma</i> sp.	19,25 a	7,30 a	0,0230 bc	0,0210 b
<i>Burkholderia pyrrocinia</i>	18,70 a	7,02 a	0,0467 a	0,0432 a
<i>Bacillus subtilis</i>	19,10 a	6,62 a	0,0360 ab	0,0390 a
CV (%)	8,96	1,14	4,28	1,37

Médias seguidas pelas mesmas letras, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>5%).

Diversos microrganismos que vivem na rizosfera se associam às raízes das plantas e podem auxiliar em uma série de processos que resultam no melhor desenvolvimento das culturas agrícolas. Dentre eles estão fungos benéficos e as rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) (LUVIZOTTO, 2008).

Segundo Parret et al. (2003), as rizobactérias que habitam as plantas estão expostas a microambientes altamente competitivos, onde os microrganismos presentes competem por nutrientes e pela ocupação do nicho ecológico. Este fato interfere nos resultados da interação das BPCPs com as plantas, ocasionando diferentes resultados para cada espécie.

As rizobactérias, como as do gênero *Burkholderia*, apresentam grande potencial para adaptarem-se à nichos ocupados e promoverem maior nutrição e sanidade às plantas, por serem descritas como bactérias diazotróficas endofíticas (que habitam o interior do tecido vegetal), e também rizosféricas (habitantes da fina camada de solo aderente às raízes). Geralmente as bactérias deste gênero são capazes de fixar nitrogênio atmosférico, solubilizam fosfato inorgânico, são produtoras de fitohormônios como AIA, sideróforos, enzimas e apresentam

capacidade de produzir compostos com atividade antimicrobiana (YABUUCHI et al., 1992; REIS et al., 2004; LUVIZOTTO, 2008).

Em pesquisa realizada por Lopes et al. (2018), utilizando *Burkholderia pyrocinia* em solos cultivados com *Brachiaria brizantha* para avaliar a produção de biomassa da gramínea, constataram o aumento na produção de biomassa, nos teores de nitrogênio, nitrato e proteína. Baldotto et al. (2010), avaliando o desempenho inicial do abacaxizeiro 'Vitória' propagado por cultura de tecidos, em resposta à aplicação de ácidos húmicos isolados de vermicomposto e *Burkholderia* spp., verificaram que essa associação resultou em maior massa da parte aérea e raiz e maior conteúdo de nutrientes (N, 132 %; P, 131 %; K, 80 %) quando comparado com mudas não inoculadas.

Segundo Gray e Smith (2005), bactérias do gênero *Bacillus*, inoculadas isoladamente ou em consórcio com estirpes de *Rhizobium* ou *Bradyrhizobium*, aumentam o crescimento vegetal de leguminosas. Santos et al. (2014), realizaram testes em casa de vegetação para determinar o efeito da inoculação de bactérias do gênero *Bacillus* sobre o crescimento e teores de nutrientes e de solutos orgânicos, em folhas e raízes de girassol sob estresse hídrico e, as bactérias incrementaram o crescimento das plantas e também aumentaram a capacidade das plantas, sob estresse hídrico, realizarem o ajustamento osmótico pelo maior acúmulo de solutos orgânicos, quando comparadas com as plantas não inoculadas.

Da Silva et al. (2019), constataram que sementes de três cultivares de girassol inoculadas com *Bacillus* sp. apresentaram maior taxa de germinação e crescimento de plântulas. Em pesquisa realizada por De Sá et al. (2019a), um isolado de *Bacillus subtilis* influenciou positivamente a germinação e o crescimento inicial de feijão caupi, promovendo aumento significativo na massa seca da parte aérea e da raiz.

De acordo com Silveira (2008), a promoção do crescimento radicular é um dos marcadores pelo qual o efeito benéfico das BPCPs é medido, promovendo em diversos casos o aumento no comprimento das raízes primárias e o acréscimo de raízes laterais e adventícias, sendo favorecido pela presença de AIA, podendo ser vantajoso para plantas jovens. De acordo com Srinivasan et al. (1996), *Bacillus* spp. isolados da rizosfera de *Phaseolus vulgaris*, produziram quantidades significativas de AIA, promovendo o crescimento das raízes de plantas de feijoeiro. O que pode ter levado o *Bacillus subtilis*, do presente estudo, a contribuir para o aumento significativo do comprimento e da biomassa das raízes das plantas de girassol.

Fungos benéficos também podem proporcionar diversas vantagens relacionadas com a promoção do crescimento de plantas. Vários autores citam em suas pesquisas algumas

espécies do gênero *Trichoderma* atuando na promoção de crescimento de uma gama de culturas através de diferentes mecanismos como por exemplo, a melhoria na absorção de nutrientes (LUCON, 2009; CARVALHO et al., 2011; PEDRO et al., 2012; HOFFMANN et al., 2015).

Segundo Harman et al. (2004), os fungos do gênero *Trichoderma*, produzem metabólitos secundários de importante ação na promoção de crescimento de plantas, para eles a colonização radicular por fungos desse gênero frequentemente aumenta o crescimento e desenvolvimento da raiz, incrementa a produtividade das culturas, induz a resistência a estresses abióticos e auxilia na absorção e utilização de nutrientes. Tais resultados corroboram com os obtidos nesta pesquisa, quando é possível observar que tanto o isolado de *Trichoderma* quanto o produto comercial promoveram um maior comprimento das raízes.

Os isolados de *Trichoderma* spp. mais eficientes em pesquisa realizada por Pedro et al. (2012), proporcionaram aumentos superiores a 30% na produção de matéria seca da parte aérea das plantas. Silva et al. (2011), avaliando o potencial de diferentes isolados de *Trichoderma*, constataram que dezenove isolados e o produto comercial Trichodermil® promoveram o crescimento da parte aérea e radicular de pepineiro em até 100%.

#### 4.2.2. Supressão da doença

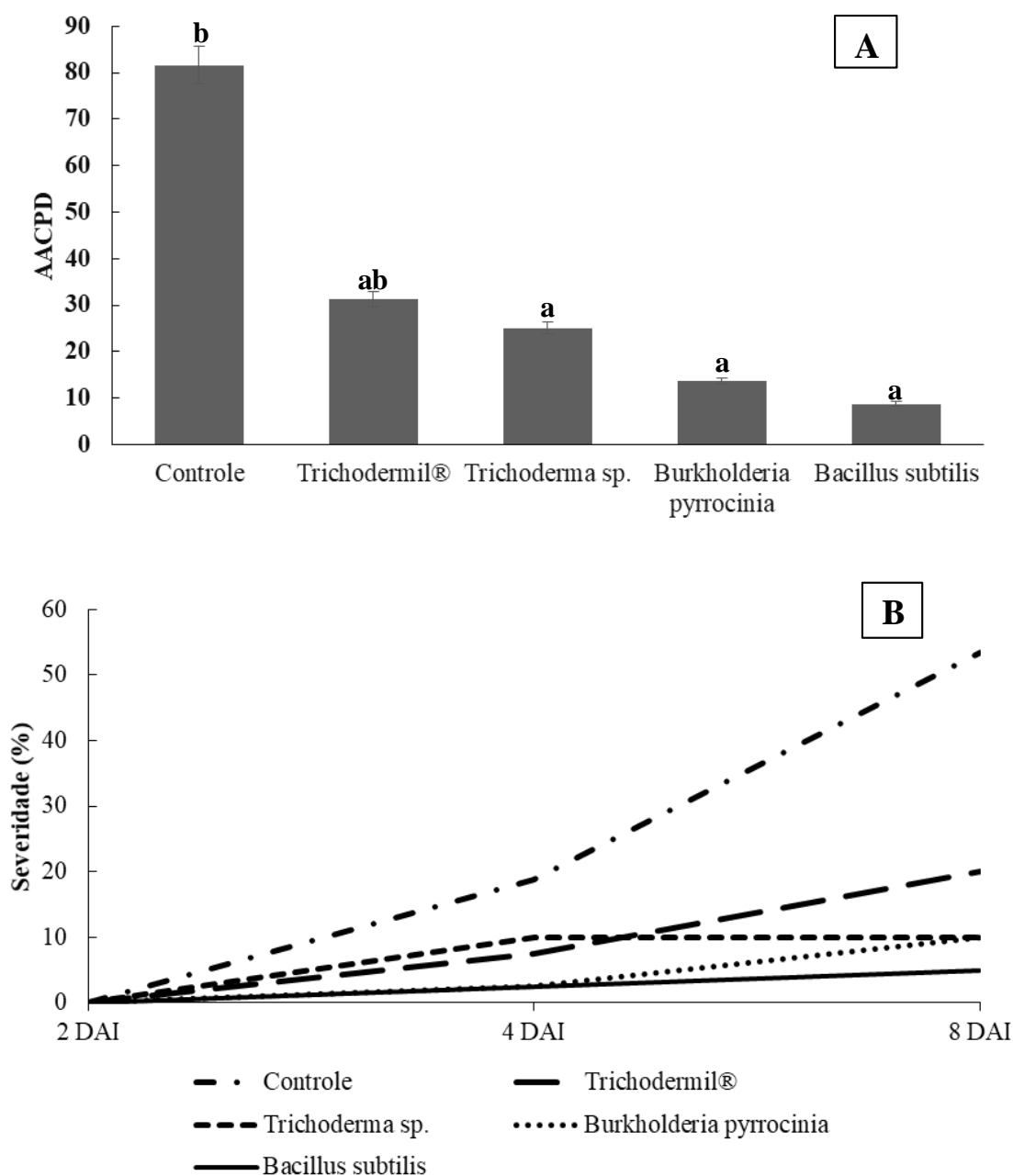
Em relação à severidade da doença, observou-se que os tratamentos utilizados via tratamento de sementes e pulverização foliar com *Bacillus subtilis*, *Burkholderia pyrrocinia*, *Trichoderma* sp. e Trichodermil® mostraram eficiência na supressão da *Macrophomina phaseolina*, apresentando 90,5%, 81%, 81% e 62,5% de supressão da doença em relação ao tratamento controle, respectivamente (Tabela 3).

**TABELA 3-** Avaliação da severidade de *M. phaseolina* em plantas de girassol aos oito dias após a inoculação, em condições de telado.

Tratamentos	Severidade (%)
Controle	53,50 b
Trichodermil®	20,00 a
<i>Trichoderma</i> sp.	10,00 a
<i>Burkholderia pyrrocinia</i>	10,00 a
<i>Bacillus subtilis</i>	5,00 a
CV (%)	7,21

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>5%).

Para a Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD), os tratamentos com *Bacillus subtilis*, *Burkholderia pyrrocinia* e *Trichoderma* sp. se destacaram com 89,2%, 83,2% e 69,4% de supressão da doença em relação ao tratamento controle, respectivamente (Figura 3A). A partir da observação do comportamento da doença durante os oito dias após a inoculação, foi possível perceber o efeito positivo dos demais tratamentos em relação ao tratamento controle, apresentando menor progresso da doença aos 2, 4 e 8 dias após a inoculação (Figura 3B).



**Figura 3** – Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) em plantas de girassol com avaliações aos 2, 4 e 8 dias após a inoculação (DAI) (A). Severidade (%) da *Macrophomina*

*phaseolina* em plantas de girassol aos 2, 4 e 8 dias após a inoculação (DAI) (B). Teste de Tukey a 95% de significância. Goiânia – Goiás.

As RPCPs proporcionam benefícios relacionados ao controle de doenças de plantas que podem ser verificados em diversas culturas, sendo resultado de mecanismos como controle biológico pela competição por nutrientes com o patógeno, produção de sideróforos e antibióticos e ainda, a resistência induzida a doenças (SOTTERO et al., 2006). Muitas linhagens de *B. subtilis* produzem lipopeptídeos, que são compostos orgânicos com atividades surfactante e antimicrobiana. A produção desses compostos, associada à capacidade de formação de esporos, contribui para a utilização comercial desta espécie como controlador biológico de várias doenças de plantas (DE OLIVEIRA; SOUTO, 2006).

Isolados de bactérias *Bacillus* sp. foram eficientes no controle do fungo *Macrophomina phaseolina* em testes *in vitro* realizados por Marroni; Germani (2011). Segundo Moreira (2013), o produto comercial a base de *Bacillus subtilis* (Serenade®), em testes para controle de antracnose na cultura da maçã, evidenciou a produção de compostos antifúngicos termoestáveis nos testes *in vitro*, contribuindo para uma evolução mais lenta do número de lesões da antracnose em mudas de macieira Gala, quando comparada aos outros tratamentos.

Avaliando a compatibilidade entre rizobactérias biocontroladoras pré-selecionadas e o efeito de suas combinações sobre a queima-das-bainhas (*Rhizoctonia solani*) e a meloidoginose (*Meloidogyne graminicola*) na cultura do arroz, Souza Júnior et al. (2010), observaram que a combinação de um isolado de *Bacillus* sp. com um isolado não identificado (DFs306/416) proporcionou os melhores resultados para o controle das duas doenças. Ferreira (2019), realizou uma revisão de bibliografia reunindo novas informações acerca da melhoria da sanidade e da nutrição de plantas de milho pelo auxílio de isolados do gênero *Bacillus*, e concluiu que diversos isolados de *Bacillus* sp. podem ser úteis por promoverem a sanidade, em relação a patógenos de solo, e a melhoria da nutrição aos plantios de milho, corroborando com os resultados obtidos neste trabalho.

Bach (2016), através de análises de espectrometria comprovou-se que isolados de *Burkholderia* sp. produzem diferentes variantes de antifúngicos, conferindo a este gênero um potencial biotecnológico com possíveis aplicações farmacêuticas e agrônômicas para o biocontrole de fungos fitopatogênicos. Brito et al. (2018), ao avaliarem isolados de *Burkholderia* sp. em ação antagonista a *M. phaseolina*, relataram que o patógeno teve o desenvolvimento inibido em 26% pela bactéria.

Espécies de *Trichoderma* tem despertado interesse científico e vem sendo aplicadas como agentes de controle biológico devido sua ação antagonista a diversos fitopatógenos através de competição, parasitismo, antibiose e a importante ação de metabólitos secundários produzidos por estes fungos benéficos na indução de resistência. Muitas espécies deste gênero são capazes de produzir substâncias antifúngicas e também enzimas que degradam paredes celulares de outros fungos, além de apresentarem diversidade estratégica de sobrevivência, o que os torna altamente competitivos no ambiente, garantindo grande capacidade de proliferação na rizosfera (POMELLA; RIBEIRO, 2009; ASAD et al. 2015).

Corroborando com os resultados obtidos nesta pesquisa, em testes realizados por Amaral (2018), um isolado de *Trichoderma atroviride* chegou a reduzir em mais de 50% o número de plantas com sintomas em variedade de feijão inoculada com *Macrophomina phaseolina*. Menezes et al. (2013), testaram quatro isolados de espécies diferentes de *Trichoderma* para avaliar a supressão da *M. phaseolina* em feijão utilizando duas metodologias, o tratamento do solo e o tratamento das sementes com os antagonistas, e todos os isolados mostraram potencial no controle do fitopatógeno inoculado tanto nas sementes quanto no solo. Das quatro espécies estudadas, o *Trichoderma harzianum* mostrou melhor resultado em ambos os tratamentos, indicado pelo maior percentual de plantas sobreviventes.

## 5. CONCLUSÃO

Os isolados de *Bacillus subtilis*, *Burkholderia pyrrocinia* e *Trichoderma* sp. foram capazes de inibir o crescimento micelial do fungo *M. phaseolina* em testes *in vitro*, promover o crescimento das plantas e suprimir a severidade da doença em condições de casa de vegetação, sugerindo que essas espécies têm potencial para serem introduzidas ao Manejo Integrado de Doenças, utilizadas para promoção de crescimento e melhoria da sanidade das plantas. A utilização de inoculantes contendo microrganismos com potencial para promover o crescimento e/ou o controle biológico de doenças no cultivo de girassol é uma alternativa sustentável, e que pode contribuir para o aumento da produção dessa oleaginosa no Brasil.



## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABAWI, G.S.; PASTOR-CORRALES, M.A. **Root rots of beans in Latin America and Africa: diagnoses, research methodologies and management strategies.** Colômbia. CIAT. 1990.
- ALFENAS, A. C.; FERREIRA, F. A.; MAFIA R. G.; GONÇALVES R. C. Isolamento de fungos fitopatogênicos. In: ALFENAS, A. C.; MAFIA R. G. (Ed). **Métodos em fitopatologia.** Viçosa: UFV, p.53-90, 2007.
- ALMEIDA, A. M. R.; TORRES, E.; FARIAS, J. R. B.; BENATO, L. C.; PINTO, M. C.; MARIN, S. R. **Macrophomina phaseolina em soja: sistema de semeadura, sobrevivência em restos de cultura e diversidade genética.** Embrapa Soja-Circular Técnica (INFOTECA-E), 2001.
- ALMEIDA, A. M. R.; MACHADO, C. C.; PANIZZI, M. C. C. **Doenças do girassol; descrição de sintomas e metodologia para levantamento.** Embrapa Soja-Circular Técnica (INFOTECA-E), 1981.
- AMBRÓSIO, M. M. de Q. **Sobrevivência de *Macrophomina phaseolina* em solo incorporado com brócolos seguido de solarização.** 2003.
- AMARAL, A. C. T. DO. **Biocontrole de espécies de *Trichoderma* sobre *Macrophomina phaseolina* e *Sclerotinia sclerotiorum*.** Dissertação de Mestrado, 2018. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/32892>. Acesso em: 13/05/2020.
- ASAD, S.A.; TABASSUM, A.; HAMEED, A.; HASSAN, F.U. L; AFZAL, A.; KHAN, S. A.; AHMED, R.; SHAHZAD, M. Determination of lytic enzyme activities of indigenous *Trichoderma* isolates from Pakistan. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46 n. 4 p. 1053-1064, 2015.
- BACH, E. **Utilização de *Burkholderia* sp. 89 para o controle biológico de fungos fitopatogênicos e identificação de moléculas de seu metabolismo secundário envolvidas nesse processo.** 2016. Disponível em: <http://go.microsoft.com/fwlink/p/?LinkId/255141>. Acesso em: 15/05/2020.
- BACKES, R. L.; SOUZA, A. M. de; JUNIOR, A. A. B.; GALLOTTI, G. J. M.; BAVARESCO, A. Desempenho de cultivares de girassol em duas épocas de plantio de safrinha no planalto norte catarinense. **Scientia Agraria**, v. 9 n. 1, p. 041-048, 2008.
- BALDOTTO, L. E. B.; BALDOTTO, M. A.; CANELLAS, L. P.; BRESSAN-SMITH, R.; OLIVARES, F. L. Promoção do crescimento do abacaxizeiro 'vitória' por ácidos húmicos e *Burkholderia* spp. durante a aclimatização. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 5, p. 1593-1600, 2010.
- BETTIOL, W.; GHINI, R.; MORANDI, M. A. B.; STADNIK, M. J.; KRAUSS, U.; STEFANOVA, M.; COTES PRADO, A. M. **Controle biológico de doenças de plantas na América Latina.** Embrapa Meio Ambiente-Capítulo em livro científico (ALICE), 2008.

BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas.** Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009.

BIANCHINI, A.; MARINGONI, A. C.; CARNEIRO, S. M. T. P. G. Doenças do feijoeiro. In: KIMATI et al. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas.** 3. ed. São Paulo: Agronômica ceres, v. 2, p. 397, 1997.

BRITO, T. S.; LIMA, W.; PAN, R.; PORFIRIO, M. D.; CANELLO, K. T.; CHAVES, E. Antagonismo de bactérias diazotróficas isoladas de plantas de milho no biocontrole de fitopatógenos. **Revista Cultivando o saber**, v. 11, n. 1, p. 81-91, 2018.

CAMPBELL C. L.; MADDEN L. V. Introduction to plant disease epidemiology. **New York NY.** John Wiley & Sons. 1990.

CARVALHO, D. D.; MELLO, S. C.; LOBO JÚNIOR, M.; SILVA, M. C. **Controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* in vitro e em sementes, e promoção do crescimento inicial do feijoeiro comum por *Trichoderma harzianum*.** Embrapa Arroz e Feijão-Artigo em periódico indexado (ALICE), 2011.

CASTRO, C. de; FARIAS, J. R. B. de. **Ecofisiologia do girassol. Girassol no Brasil.** Londrina: Embrapa Soja, v. 1, p. 501-546, 2005.

CASTRO, C. de; CASTIGLIONI, V. B. R.; BALLA, A. **Cultura do girassol: tecnologia de produção.** Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 16p. (EMBRAPA-CNPSo. Documentos, 67), 1993.

CASTRO, C. de; CASTIGLIONI, V. B. R.; BALLA, A.; LEITE, R. M. V. B.; KARAM, D.; MELLO, H. C.; GUEDES, L. C. S.; FARIA, J. R. B. **A cultura do girassol.** Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 38 p. (EMBRAPA\_CNPSo. Circular Técnica, 13), 1996.

CATTELAN, A. J. **Métodos quantitativos para determinação de características bioquímicas e fisiológicas associadas com bactérias promotoras do crescimento vegetal.** Embrapa Soja-Documents (INFOTECA-E), 1999.

CARVALHO FILHO M. R. DE. **Identificação e relações filogenéticas, potencial de uso de isolados de *Trichoderma* no controle do mofo branco e como promotores de crescimento do feijoeiro.** 2013. f. 111, Tese de Doutorado em Fitopatologia - Universidade de Brasília, Brasília.

CHEN, H.; XIAO, X.; WANG, J.; WU, L.; ZHENG, Z.; YU, Z. Antagonistic effects of volatiles generated by *Bacillus subtilis* on spore germination and hyphal growth of the plant pathogen, *Botrytis cinerea*. **Biotechnology Letters**, v.30, p.919–923, 2008.

COOK, R. J.; BAKER, K. F. **The nature and practice of biological control of plant pathogens.** American Phytopathological Society, 1983.

CONAB. Acompanhamento da safra brasileira de grãos | v. 6 - Safra 2018/19, n.12 - **Décimo segundo levantamento.** Companhia Nacional de Abastecimento, setembro de 2019.

CORREIA, K. C.; MICHEREFF, S. J. **Fundamentos e desafios do manejo de doenças radiculares causadas por fungos**. Recife, Brazil: Universidade Federal Rural de Pernambuco, p. 1-16, 2018.

CORREIA, S. C. Z.; PERES, A. P.; DEGÁSPARI, C. H. Desenvolvimento de bebida à base de semente de girassol. **Cadernos da Escola de Saúde**, v. 2 n. 12 p. 27-39, 2017.

DA SILVA, M. E. C. F.; DE MELO, I. S.; NASCIMENTO, R. D. S.; ROSSI, P.; RAMOS, N. **Germinação e vigor de girassol com uso de bactérias promotoras de crescimento**. In: Embrapa Meio Ambiente-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 13., 2019, Campinas. Anais... Campinas: Instituto Agrônomo, 2019. Artigo 19406, 2019. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1116869>. Acesso em: 27/05/2020.

DE OLIVEIRA, F. H. P. C.; SOUTO, A. M. **Fisiologia de *Bacillus subtilis* R14: crescimento e produção de litopeptídeos em cultivos descontínuos**. 2006. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia de Produtos Bioativos - Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

DE SÁ, M. N. F.; DE SOUZA LIMA, J.; DE JESUS, F. N.; PEREZ, J. O.; GAVA, C. A. T. Efeito de *Bacillus* sp. e *Trichoderma* sp. no crescimento micelial de *Sclerotium rolfii*. **Acta Brasiliensis**, v. 3, n. 2, p. 79-81, 2019a.

DE SÁ, M. N. F.; LIMA, J. S.; DE JESUS, F. N.; PEREZ, J. O. Microbiolização na qualidade de sementes e crescimento inicial de plantas de *Vigna unguiculata* L. Walp. **Acta Brasiliensis**, v. 3, n. 3, p. 111-115, 2019b.

DIAS, L.; ALMEIDA, A.; LOPES, I.; DEBIASI, H.; SEIXAS, C.; SILBALDELLI, R.; FARIAS, J. **Sistemas de plantio de soja e efeito sobre a concentração de microesclerócios de *Macrophomina phaseolina***. Embrapa Soja-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E), 2017.

DIAS P. P. **Controle biológico de fitopatógenos de solo por meio de isolados de fungos do gênero *Trichoderma* e sua contribuição no crescimento de plantas**. 2011. Disponível em: <https://tede.ufrrj.br/jspui/handle/jspui/2726>. Acesso em: 14/05/2020.

DOMENE, M.P.; GLORIA, E.M.; BIAGI, J.; BENEDETTI, B.C.; MARTINS, L. **Efeito do tratamento com óleos essenciais sobre a qualidade fisiológica e sanitária das sementes de milho (*Zea mays*)**. Arquivos do Instituto Biológico, vol. 83, p. 1-6, 2016.

ETHUR, L. Z.; BLUME, E.; MUNIZ, M.; SILVA, A. C. F.; STEFANELO, D. R.; ROCHA, E. K. Fungos antagonistas a *Sclerotinia sclerotiorum* em pepineiro cultivado em estufa. **Fitopatologia Brasileira**, v.30, n.2, p.127-133, 2005.

FERREIRA, T. C. Biocontrole de patógenos de solo e promoção de crescimento vegetal promovidos por *Bacillus* spp. em milho. **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, v. 15, n. 4, 2019.

- GAZZOLA, A.; FERREIRA JUNIOR, C. T. G.; CUNHA, D. A.; BORTOLINI, E.; PAIAO, G. D.; PRIMIANO, I. V.; OLIVEIRA, M. S. **A cultura do girassol**. Piracicaba: ESALQ, 69, 2012.
- GHINI, R.; BETTIOL, W. Proteção de plantas na agricultura sustentável. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 17, n. 1, p. 61-70, 2000.
- GODOY, C. V.; ALMEIDA, A. M. R.; COSTAMILAN, L. M.; MEYER, M. C.; DIAS, W. P.; SEIXAS, C. D. S.; SILVA, J. F. V. **Doenças da soja**. Manual de fitopatologia, p. 657-676, 2016.
- GOMES, D. P.; BRINGEL, J. M. M.; MORAES, M. F. F. H.; KRONKA, A. Z.; TORRES, S. B. **Características agronômicas de genótipos de girassol cultivados em São Luís – MA. Caatinga** (Mossoró, Brasil), v.20, p.213-216, 2007.
- GRAY, E. J.; SMITH, D. L. PGPR intracelular e extracelular: semelhanças e distinções nos processos de sinalização planta-bactéria. **Biologia e bioquímica do solo**, v. 37, n. 3, p. 395-412, 2005.
- HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature reviews microbiology**, v. 2 n. 1, p. 43, 2004.
- HOFFMANN, C.A.; CHAGAS, L.F.B.; SILVA, D.P.; CHAGAS JUNIOR, A.F.; SCHEIDT, G.N. Potencial de antagonismo de isolados de *Trichoderma* spp. contra isolados de *Fusarium* sp., *in vitro*. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 10 n. 1 p. 236-242. 2015.
- LANNA FILHO, R.; FERRO, H. M.; DE PINHO, R. S. C. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 4, n. 2, 2010.
- LAZZAROTTO, J. J.; ROESSING, A. C.; MELLO, H. C. **O agronegócio do girassol no mundo e no Brasil**. Girassol no Brasil. Londrina: Embrapa Soja, 15-42, 2005.
- LEITE, M. D. C. **Doenças do girassol**. Embrapa Soja-Circular Técnica (INFOTECA-E), 1997.
- LEITE, R. M.V.B. DE C.; CASTRO, C. D.; BRIGHENTI, A. M.; DE OLIVEIRA, F. A.; DE CARVALHO, C. G. P.; DE OLIVEIRA, A. C. B. **Indicações para o cultivo de girassol nos Estados do Rio Grande do Sul, Paraná, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Goiás e Roraima**. Embrapa Soja-Comunicado Técnico (INFOTECA-E), 2007.
- LEITE, R. M. V. B. de C.; CAMPOS, V. L. de O.; DE OLIVEIRA, M. C. N. **Reação de genótipos de girassol à mancha de alternaria (*Alternariaster helianthi*) em condições de campo, nas safras 2015/2016 e 2016/2017**. In: Embrapa Soja-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE GIRASSOL, 22.; SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE A CULTURA DO GIRASSOL, 10., 2017, Lavras. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, 2017. p. 59-62. (Embrapa Soja. Documentos, 395). Editado por Regina Maria Villas Bôas de Campos Leite, 2017.

- LINHARES, C. M. D. S.; FREITAS, F. C. L. D.; AMBRÓSIO, M. M. D. Q.; CRUZ, B. L. S. D.; DANTAS, A. M. D. M. Efeito de coberturas do solo sobre a sobrevivência de *Macrophomina phaseolina* no feijão-caupi. **Summa Phytopathologica**, v. 42 n. 2, p. 155-159, 2015.
- LOURENÇO, J. C. Agronegócio brasileiro: projeções de crescimento e entraves de infraestrutura logística. **Revista Acadêmica de Economia**, n. 119, p. 1-19, 2009.
- LOPES, M. J. S. DOS; DIAS FILHO, M. B.; CASTRO, T. H. R. DOS; FILIPPI, M. C. C.; SILVA, G. B. DA. Effect of *Pseudomonas fluorescens* and *Burkholderia pyrrocinia* on the Growth Improvement and Physiological Responses in *Brachiaria brizantha*. **American Journal of Plant Sciences**, v. 9, n. 02, p. 250, 2018.
- LUCON, C.M.M. **Promoção de crescimento de plantas com o uso de *Trichoderma* spp.** 2009. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <[http://www.infobibos.com/Artigos/2009\\_1/trichoderma/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2009_1/trichoderma/index.htm)>. Acesso em: 16/05/2020.
- LUVIZOTTO, D. M. **Caracterização fisiológica e molecular de *Burkholderia* spp. associadas às raízes de cana-de-açúcar.** Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2008.
- MACHADO, D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C. F. D.; ANTONIOLLI, Z. I. Trichoderma no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35 n. 1, p. 274-288, 2012.
- MARIANO, R. D. L. R.; SILVEIRA, E. B.; GOMES, A. M. A. Controle biológico de doenças radiculares. **Ecologia e Manejo de Patógenos Radiculares em Solos Tropicais**, p. 303, 2005.
- MARIANO, R. D. L. R.; DA SILVEIRA, E. B.; DE ASSIS, S. M. P.; GOMES, A. M. A.; NASCIMENTO, A. R. P.; DONATO, V. M. T. S. Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônoma**, 1, 89-111, 2013.
- MARRONI, I. V.; GERMANI, J. C. Eficiência de rizobactérias *Bacillus* spp. no controle in vitro de *Macrophomina phaseolina* agente etiológico da podridão de tronco da mamona (*Ricinus communis* L.). **Revista Brasileira de Agroecologia** v. 6, p. 159-167, 2011.
- MAPA- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Anuário estatístico da agroenergia**. 5ed. Brasília. 2011. 244 p.
- MASSENSINI A. M.; TÓTOLA M. R.; BORGES A. C.; COSTA M. D. Isolamento e caracterização de bactérias solubilizadoras de fosfato da rizosfera de *Eucalyptus* sp. **Revista Árvore**, v.40, n.1, p.125-134, 2016.
- MENEZES, M.; MACHADO, A. L. M.; DA SILVEIRA, M. D. C. V.; DA SILVA, R. L. X. Biocontrole de *Macrophomina phaseolina* com espécies de *Trichoderma* aplicadas no

tratamento de sementes de feijão e no solo. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v. 1, p. 133-140, 2013.

MERTZ, L. M.; HENNING, F. A.; ZIMMER, P. D. Bioprotetores e fungicidas químicos no tratamento de sementes de soja. **Ciência Rural**, v. 39 n. 1, p. 13-18, 2009.

MICHEREFF, S. J.; MARIANO, R. L. R. **Controle Biológico de doenças de plantas**. Periódicos existentes no Brasil e onde encontrá-los. Guia Básico. Recife. Imprensa Universitária-UFRPE, 1993.

MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. **Controle biológico de doenças de plantas no Brasil**. Embrapa Meio Ambiente-Capítulo em livro científico (ALICE), 2009.

MOREIRA, R. R. **Bacillus spp. Pseudomonas sp. no biocontrole de Colletotrichum do grupo acutatum, causador da mancha foliar de glomerella em macieira**. 2013. Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

NAGARATHNA, T. K.; SHADAKSHARI, Y. G.; RAMANAPPA, T. M. **Molecular analysis of sunflower (*Helianthus annuus* L.) genotypes for high oleic acid using microsatellite markers**. **Helia**, v.34, p.63-68, 2011.

OLIVEIRA, M. A.; ZUCARELI, C.; SPOLAOR, L. T.; DOMINGUES, A. R.; FERREIRA, A. S. Desempenho agrônômico do milho sob adubação mineral e inoculação das sementes com rizobactérias. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental** v.16, n.10, p.1040–1046, 2012.

OLIVEIRA, M. L. A.; DA SILVA PAZ, V. P.; GONÇALVES, K. S.; OLIVEIRA, G. X. S. **Crescimento e produção de girassol ornamental irrigado com diferentes lâminas e diluições de água residuária**. **Irriga**, v. 22 n., p. 204, 2018.

PARRET, A. H. A.; SCHOOF, G.; PROOST, R.; DE MOT, R. Plant lectin-like bacteriocin from rhizosphere colonizing *Pseudomonas* isolate. **Journal of Bacteriology**, 185, p. 897-908, 2003.

PATERNIANI, E. **Agricultura sustentável nos trópicos**. **Estudos avançados**, v. 15, n. 43, p. 303-326, 2001.

PEDRO, E. A. D. S.; HARAKAVA, R.; LUCON, C. M. M.; GUZZO, S. D. Promoção do crescimento do feijoeiro e controle da antracnose por *Trichoderma* spp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 11, p. 1589-1595, 2012.

POMELLA, A. W. V.; RIBEIRO, R. T. S. Controle biológico com *Trichoderma* em grandes culturas—uma visão empresarial. **Biocontrole de Doenças de Plantas**, p. 239, 2009.

REIS, V. M.; ESTRADA-DE LOS SANTOS, P.; TENORIO-SALGADO, S.; VOGEL, J.; STOFFELS, M.; GUYON, S.; BALANDREAU, J. *Burkholderia tropica* sp. nov., a novel nitrogen-fixing, plant-associated bacterium. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 54, n. 6, p. 2155-2162, 2004.

RIBEIRO, J. L. **Manejo da cultura do girassol no Meio-Norte do Brasil**. Embrapa Meio-Norte-Circular Técnica (INFOTECA-E), 2008.

ROCHA, D. J. A.; MOURA, A. B. Controle biológico da murcha de tomateiro causada por *Ralstonia solanacearum* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *licopersici* por rizobactérias. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, n. 5, p. 423-430, 2013.

RODRIGUES, D. N.; CABRAL, L. S.; LIMA, L. R.; ZERVOUDAKIS, J. T.; GALATI, R. L.; OLIVEIRA, A. S. de; COSTA, D. P. B. da; GERON, L. J. V. **Desempenho de cordeiros confinados, alimentados com dietas à base de torta de girassol**. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.48, p.426-432, 2013.

ROEL, A. R. A agricultura orgânica ou ecológica e a sustentabilidade da agricultura. **Interações (Campo Grande)**, v. 3, n. 4, 2016.

SANTOS, F. L. D. **Inoculação e coinoculação de rizobactérias promotoras de crescimento em plantas de arroz, milho e trigo**, 2018.

SANTOS, J. F. D.; SACRAMENTO, B. L. D.; MOTA, K. N. A. B.; SOUZA, J. T. D.; AZEVEDO NETO, A. D. D. Crescimento de girassol em função da inoculação de sementes com bactérias endofíticas. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 44, n. 2, p. 142-150, 2014.  
SANTOS, P. L. **Manejo de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. em sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) com óleos essenciais e antagonistas**. 2018. 76 fls. Doctoral dissertation, Thesis (PhD in Agronomy) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu-SP.

SANTOS, P.; BENATO, L.; de SOUZA, N. V.; VIEIRA, N.; ALMEIDA, A. Utilização de *Pseudomonas fluorescens* no controle biológico de *Macrophomina phaseolina*. **Embrapa Soja-Documents (INFOTECA-E)**, 2010.

SILVA, A. G.; DE MORAES, E. B.; PIRES, R.; DE CARVALHO, C. G. P.; DE OLIVEIRA, A. C. B. **Efeitos do espaçamento entre linhas nos caracteres agronômicos de três híbridos de girassol cultivados na safrinha**. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.39, p.105-110, 2009.

SILVA, H. S. A.; ROMEIRO, R. D. S. Isolamento e seleção massal de rizobactérias indutoras de resistência sistêmica à mancha-bacteriana-pequena do tomateiro. **Ceres**, v. 51, n. 295, 2015.

SILVA, J. R. C.; SOUZA, R. M. D.; ZACARONE, A. B.; SILVA, L. H. C. P.; CASTRO, A. M. D. S. Bactérias endofíticas no controle e inibição in vitro de *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, agente da pinta bacteriana do tomateiro. **Ciência e agrotecnologia**, v. 32, n. 4, p. 1062-1072, 2008.

SILVA, V. N. D.; GUZZO, S. D.; LUCON, C. M. M.; HAKAKAVA, R. Promoção de crescimento e indução de resistência à antracnose por *Trichoderma* spp. em pepineiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 12, p. 1609-1618. 2011.

SILVEIRA, A. B. D. **Isolamento e caracterização de linhagens de *Bacillus* e *Paenibacillus* promotores de crescimento vegetal em lavouras de arroz e trigo do Rio Grande do Sul.** 2008.

SRINIVASAN, M.; HOLL, F. B.; PETERSEN, D. J. Influence of indoleacetic-acid-producing *Bacillus* isolates on the nodulation of *Phaseolus vulgaris* by *Rhizobium etli* under gnotobiotic conditions. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 42, n. 10, p. 1006-1014, 1996.

SODRÉ FILHO, J.; CARDOSO, A. N.; CARMONA, R.; CARVALHO, A. M. **Fitomassa e cobertura do solo de culturas de sucessão ao milho na região do cerrado. Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, p.327-334, 2004.

SOTTERO, A. N.; dos SANTOS FREITAS, S.; de MELO, A. M. T.; TRANI, P. E. Rizobactérias e alface: colonização rizosférica, promoção de crescimento e controle biológico. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, n. 2, p. 225-234, 2006.

SOUZA, A. C. A.; SOUSA, T. P.; CORTÊS, M. V. B.; RODRIGUES, F. Á.; SILVA, G. B.; FILIPPI, M. C. C. Enzyme-Induced Defense Response in the Suppression of Rice Leaf Blast (*Magnaporthe Oryzae*) By Silicon Fertilization and Bioagents. **International Journal of Research Studies in Biosciences**, v. 3, n. 5, p. 22-32, 2015.

SOUZA JÚNIOR, I. T. D.; MOURA, A. B.; SCHAFER, J. T.; CORRÊA, B. O.; GOMES, C. B. Biocontrole da queima-das-bainhas e do nematoide-das-galhas e promoção de crescimento de plantas de arroz por rizobactérias. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, n. 11, p. 1259-1267, 2010.

SU, G.; SUH, S. O.; SCHNEIDER, R. W.; RUSSIN, J. S. **Host specialization in the charcoal rot fungus, *Macrophomina phaseolina*.** **Phytopathology**, v. 91, n. 2, p. 120-126, 2001.

TAN, S.; YANG, C.; MEI, X.; SHEN, S.; RAZA, W.; SHEN, Q.; XU, Y. The effect of organic acids from tomato root exudates on rhizosphere colonization of *Bacillus amyloliquefaciens* T-5. **Applied Soil Ecology**, v. 64, p. 15-22, 2013.

TESSO, T.; EJETA, G. Stalk strength and reaction to infection by *Macrophomina phaseolina* of brown midrib maize (*Zea mays*) and sorghum (*Sorghum bicolor*). **Field Crops Research**. Estados Unidos, v.120, p.271-275, 2011.

UNGARO, M. R. G. **Cultura do girassol.** Boletim técnico 188. Instituto Agronômico de Campinas, Campinas, 2000. 36p.

YABUUCHI, E.; KOSAKO, Y.; OYAIZU, H.; YANO, I.; HOTTA, H.; HASHIMOTO, Y.; EZAKI, T.; ARAKAWA, M. Proposal of *Burkholderia* gen. nov. and transfer of seven species of the genus *Pseudomonas* homology group II to the new genus, with the type species *Burkholderia cepacia* (Palleroni and Holmes 1981) comb. nov. **Microbiology and Immunology**, Tokyo, v. 36, p. 1251-1275, 1992.



ZOBIOLE, L. H. S.; CASTRO, C. de; OLIVEIRA, F. A. de; OLIVEIRA JUNIOR, A. de.  
**Marcha de absorção de macronutrientes na cultura do girassol. Revista Brasileira de  
Ciência do Solo**, Viçosa, v. 34, p. 425-433, 2010.