

Universidade Federal de Pelotas



Trabalho de conclusão de curso

**Potencial de uso de isolados bacterianos para o biocontrole de *Monilinia fructicola* (Wint) Honey agente causal da podridão parda do pessegueiro**

Lauren Fonseca Anacker

Pelotas, 2010

**LAUREN FONSECA ANACKER**

**POTENCIAL DE USO DE ISOLADOS BACTERIANOS PARA O BIOCONTROLE  
DE *Monilinia fructicola* (Wint) Honey AGENTE CAUSAL DA PODRIDÃO PARDA  
DO PESSEGUEIRO**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Graduação em  
Ciências Biológicas da Universidade  
Federal, como requisito parcial à  
obtenção do título de Bacharel em  
Ciências Biológicas.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr. Andréa Bittencourt Moura

Pelotas, 2010

**Banca examinadora**

Andréa Bittencourt Moura (Orientadora)

Bianca Obes Corrêa

Gládis Aver Ribeiro

## RESUMO

ANACKER, Lauren Fonseca. **POTENCIAL DE USO DE ISOLADOS BACTERIANOS PARA O BIOCONTROLE DE *Monilinia fructicola* (Wint) Honey AGENTE CAUSAL DA PODRIDÃO PARDA DO PESSEGUEIRO.** 2010. 31 f. Trabalho acadêmico (Graduação) – Curso de Graduação em Ciências Biológicas. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

A podridão parda causada por *Monilinia fructicola* (Wint.) Honey no pessegueiro (*Prunus persica*) (L.) Batsch é a doença mais importante da cultura, em virtude dos danos que podem causar às flores, ramos e frutos na pré e pós-colheita. Esta doença está disseminada por todas as regiões de clima temperado constituindo-se na maior limitação para a produção, fato agravado pela falta de estratégias de controle da doença com produtos alternativos aos agrotóxicos. Dessa forma o controle biológico vem sendo estudado como uma alternativa, entretanto é necessário o conhecimento da capacidade de síntese de compostos bioativos, por parte de isolados antagonistas. Objetivou-se avaliar a capacidade *in vitro* de isolados bacterianos para produção de compostos bioativos, com potencial antibiótico contra o patógeno. Dos 1256 isolados avaliados, 546 bactérias foram capazes de produzir composto bioativo que inibiu crescimento micelial do patógeno. Destes, 125 apresentaram resultados positivos para antibiose com maior halo de inibição, e dentre estes, 38 inibiram o crescimento do patógeno por meio de metabólitos voláteis, destacando-se os isolados DFs465, DFs572, DFs580, DFs628 e DFs1020 com resultado positivo nas três repetições.

Palavras-chave: *Prunus persica*, controle biológico, antibiose, metabólitos voláteis.

## ABSTRACT

ANACKER, Lauren Fonseca. **POTENTIAL USE OF ISOLATED BACTERIAL FOR THE BIOCONTROL OF *Monilinia fructicola* (WINT) HONEY CAUSAL AGENT OF BROWN ROT OF PEACH.** 2010. 31 f. Trabalho acadêmico (Graduação) – Curso de Graduação em Ciências Biológicas. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The brown rot caused by *Monilinia fructicola* (Wint.) Honey in peach (*Prunus persica*) (L.) Batsch is the most important disease of culture, because that can cause damage to flowers, stems and fruit in pre-and post-harvest. This disease is spread to all temperate regions constituting the major limitation to production, a fact compounded by lack of disease control strategies with alternatives to pesticides. Thus biological control has been studied as an alternative, however it is necessary to know the capacity of synthesis of bioactive compounds isolated by antagonists. The objective was to assess the ability of bacterial isolates in vitro production of bioactive compounds with potential antibiotic against the pathogen. Of the 1256 isolates, 546 bacteria were able to produce bioactive compound that inhibits the pathogen growth. Of these, 125 were positive for antibiosis with greater inhibition zone, and of these, 38 inhibited the growth of the pathogen through volatile metabolites, especially the isolated DFs465, DFs572, DFs580, DFs628 DFs1020 and with positive results in three replicates.

Keywords: *Prunus persica*, biological control, antibiosis, volatile metabolites

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Número de isolados bacterianos com resultado negativo e positivo para antibiose contra <i>Monilinia fructicola</i> , classificados quanto ao tipo de halo de inibição.....	18
Figura 2	Porcentagem total de isolados com efeito de antibiose contra <i>Monilinia fructicola</i> (A); intensidade de inibição (halo III, halo II, halo I e negativos) dos isolados bacterianos sobre <i>M. fructicola</i> (B).....	19
Figura 3	Teste de antibiose contra <i>Monilinia fructicola</i> . Isolados bacterianos da parte direita e inferior mostrando resultado positivo, e esquerda e superior mostrando resultado negativo(A); Isolados bacterianos inibindo crescimento micelial do patógeno com halos de maior intensidade (B).....	19
Figura 4	Isolado DFs572 exemplificando resultado positivo nas três repetições para produção de metabólitos voláteis inibitória de crescimento micelial de <i>Monilinia fructicola</i> .....	23
Figura 5	Teste de produção de compostos voláteis mostrando resultado negativo na inibição do crescimento micelial de <i>Monilinia fructicola</i> nas três repetições.....	23

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Porcentagem de isolados positivos conforme o local de isolamento e porcentagem de isolados com maior intensidade de inibição (halo III) de acordo com o hospedeiro.....	20
Tabela 2	Habitat dos isolados bacterianos que inibiram o crescimento micelial de <i>Monilinia fructicola</i> nas três repetições.....	23
Tabela 3	Crescimento micelial de <i>Monilinia fructila</i> (diâmetro em milímetros) quando em placas sobreposta ao crescimento de bactérias antagonistas.....	24

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>9</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>10</b>
<b>2.1 Objetivo Geral.....</b>	<b>10</b>
<b>2.2 Objetivos Específicos.....</b>	<b>10</b>
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>11</b>
<b>4 METODOLOGIA.....</b>	<b>15</b>
<b>4.1 Isolados bacterianos.....</b>	<b>15</b>
<b>4.2 Isolados de <i>Monilinia fructicola</i>.....</b>	<b>15</b>
<b>4.3 Antibiose.....</b>	<b>15</b>
<b>4.4 Produção de metabólitos voláteis.....</b>	<b>16</b>
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>18</b>
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>26</b>
<b>7 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>27</b>



## 1 INTRODUÇÃO

O pessegueiro é uma das frutíferas mais cultivadas no mundo. Poucas espécies de frutas têm se adaptado, tão rapidamente, às diversas situações climáticas como esta. A popularidade do pêssego é sempre associada às suas características organolépticas, facilidades de uso e processamento (WAGNER JÚNIOR, 2003).

A produção de frutos com elevado padrão de qualidade, com bom tamanho, aparência e sabor, é um dos fatores mais importantes no êxito comercial dos pomares de frutas de caroço, principalmente, para o consumo “*in natura*”. Entretanto, a produção e a preservação deste padrão de qualidade podem ser comprometidas pela incidência de várias doenças.

A cultura do pêssego (*Prunus persica* L. Batch) é predisposta a incidência de várias doenças com potencial para comprometer tanto quantitativamente quanto qualitativamente a produção de frutos, destacando-se entre elas a podridão parda, cujo agente causal é o fungo *Monilinia fructicola* (Wint) Honey, considerado um dos patógenos mais importantes entre os causadores de doenças nas frutas de caroço. As perdas na sua produção resultam da infecção das flores e do apodrecimento dos frutos nas fases de colheita e pós-colheita.

Atualmente, seu controle é baseado em fungicidas comerciais, sendo crescente a busca pela utilização de produtos de baixo impacto ambiental com a redução do uso de agrotóxicos, aumentando a produção e agregando qualidade ao fruto. Desta forma, a estratégia do controle biológico, vem sendo estudada como uma nova alternativa para o controle de doenças dentre elas a podridão parda. Na sua grande maioria, os trabalhos com controle biológico de *M. fructicola* na cultura do pessegueiro, realizados nos últimos quinze anos, concentram-se em avaliações pós-colheita, demandando novos estudos voltados ao controle do patógeno em laboratório e em campo durante as fases de floração e desenvolvimento dos frutos.

O conhecimento da capacidade de síntese de compostos bioativos, por parte de isolados antagonistas é necessário para estudos do controle biológico de *M. fructicola*, reforçando a hipótese do aumento do espectro de ação do isolados bacterianos antagonistas pela capacidade de produzir diferentes substâncias e/ou compostos envolvidos no controle biológico.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar a capacidade de isolados bacterianos para produção de compostos bioativos com potencial antibiótico contra o fungo *Monilinia fructicola* causador da podridão parda em pessegueiros.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Analisar o potencial de aproximadamente 1200 isolados bacterianos para produção de antibióticos que inibam o crescimento micelial *in vitro* sobre o isolado do fungo *Monilinia fructicola*;

- Avaliar qualitativa a capacidade de produção de metabólitos voláteis (*in vitro*) dos isolados bacterianos que apresentarem maior potencial para inibição do crescimento do fungo no ensaio anterior.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

O pessegueiro (*Prunus persica*) é uma frutífera nativa da China, com registros que remontam há 20 séculos a.C. Estudos indicam que, provavelmente, teria sido levado da China para a Pérsia e de lá se espalhou pela Europa. No Brasil, segundo relatos históricos, o cultivo foi introduzido em 1532 em São Vicente, atual estado de São Paulo, por Martim Afonso de Souza, através de mudas trazidas da Ilha da Madeira (PROTAS; MADAIL, 2003).

Segundo Negri (2007), atualmente a produção mundial de pêssegos ocupa o sexto lugar como a fruta mais cultivada. O Brasil destaca-se com uma produção de 220.000 toneladas e uma área cultivada de 24.000 hectares.

O Estado do Rio Grande do Sul é o maior produtor de frutas de caroço do Brasil, sendo a microrregião de Pelotas (Canguçu, Morro Redondo, Piratini) responsável por mais de 50% da área plantada para produção de frutas destinadas à indústria. A microrregião de Caxias do Sul (Bento Gonçalves, Farroupilha, Pinto Bandeira), em conjunto com a mesorregião Metropolitana de Porto Alegre (Vila Nova, Charqueadas, Guaíba) é responsável pela produção de frutas destinadas ao consumo *in natura* no Estado (FARIAS, 2003).

Embora o consumo *per capita* de pêssegos no Brasil seja baixo, em torno de 0,25 kg/hab/ano, comparado aos 5 kg/hab/ano de países como Itália, Espanha, França e Inglaterra, houve crescimento da demanda desta fruta. Aliado ao aumento da demanda cresceu o grau de exigência dos consumidores, o que tornou necessária uma nova postura do produtor para satisfazer os mercados (FARIAS, 2003).

O consumidor tem se tornado cada vez mais exigente quanto à qualidade do produto final. Inicialmente buscavam-se frutas com bom tamanho, boa aparência e características peculiares da cultivar. Embora nestes requisitos os produtos ainda deixem a desejar, o mercado passou a exigir novos atributos. Nesta nova fase, são contemplados aspectos ligados às características organolépticas, à segurança alimentar e à proteção ao ambiente. Isso contrasta com o sistema de produção praticado nos últimos tempos, com excesso no uso de insumos e pouca preocupação com o impacto ambiental (MARTINS et al., 2001).

Conforme Negri (2007), as maiores preocupações com prejuízos na cultura do pessegueiro são decorrentes das perdas por podridões na pós-colheita. Estas

ocorrem em função de condições climáticas ideais ao desenvolvimento de patógenos, danos por lesões no manuseio dos frutos durante e após a colheita, por pragas antes da colheita e ainda, através da ativação da infecção latente causadas por fungos durante a maturação ou senescência dos frutos.

O fungo *Monilinia fructicola*, causador da podridão parda, é o patógeno mais importante para as fruteiras de caroço. Ele infecta desde a fase de floração, podendo ficar latente nos frutos e manifestar sintomas durante a colheita e pós-colheita, sendo responsável pela destruição de considerável quantidade de frutos maduros, tanto no pomar quanto durante a comercialização (MOREIRA, 2007).

Segundo Wagner Júnior (2003), os primeiros sintomas da doença são o pardeamento e morte das flores, que ficam aderentes ao pedúnculo por tempo indeterminado. Nos ramos e nos galhos ocorrem lesões e cancrios. Nos frutos, os sintomas começam com pequenas manchas circulares e pardas, que se somam rapidamente, até criar uma ampla zona mole e parda. Em poucos dias, o fruto estará completamente infectado, ficando recoberto por uma massa cinza, pulverulenta de esporos assexuais, os conídios. Estes aparecem rapidamente na superfície do fruto projetando-se ao ar, e os frutos deixados na árvore se desidratam e mumificam, persistindo indefinidamente. Este fungo sobrevive em frutos infectados e mumificados ou em frutos podres no solo ou em cancrios dos ramos (NEGRI, 2007).

A reação ao fungo difere durante o período de desenvolvimento dos frutos. No início, estes são altamente suscetíveis, tornando-se resistentes, próximo ao período de endurecimento do caroço e, mais tarde, no período de maturação, tornam-se novamente, altamente suscetíveis. Ferimentos em frutos causados por pássaros e insetos criam pontos de entrada para infecção e subsequentes esporulações (WAGNER JÚNIOR, 2003).

A podridão parda pode ser causada por três espécies do gênero *Monilinia*, *M. fructicola* (G. Winter) Honey, *M. laxa* (Aderhold & Ruhland) Honey e *M. fructigena* (Aderh. & Ruhl.) Honey, todas conhecidas popularmente como fungos causadores da podridão parda. Na América do Sul e do Norte encontram-se as espécies *Monilinia fructicola* e *M. laxa* e na Europa, *M. fructigena*. No estado do Rio Grande do Sul, região de Pelotas, há relatos de ocorrência apenas de *Monilinia fructicola* (CASARIN, 2007; WAGNER JÚNIOR, 2003).

O fungo *M. fructicola* pertence à classe dos Euscomycetes, que são Ascomycetos com apotécio. Estes fungos são encontrados nos mais variados

habitats, podendo exercer saprofitismo ou parasitismo e causar diversos tipos de doenças em plantas. Sua característica básica é a formação de esporos sexuais, os ascósporos, dentro de uma estrutura chamada asco, constituindo-se no inóculo primário da doença (COELHO, 2003).

Conforme Bleicher (1997), a disseminação de *M. fructicola* ocorre pelo vento, chuva, insetos e animais. Os conídios se instalam sobre flores e frutos que, em condições climáticas favoráveis conseguem penetrar pela cutícula ou ferimentos, dando início à infecção. A sobrevivência do patógeno ocorre em frutos mumificados, pedúnculos florais, flores secas em ramos e cancrios de ramos onde o mesmo permanece de um ano para outro da cultura, formando o inóculo inicial da doença.

O clima brasileiro nos estados produtores de pêssegos é favorável ao desenvolvimento do patógeno considerando a fase de formação e desenvolvimento do fruto, que ocorre durante os meses de agosto a dezembro, período de temperatura em elevação e chuvas bem distribuídas. Assim, o cultivo desta fruteira requer uma série de medidas de controle, sem as quais se inviabiliza a produção da maioria das variedades conhecidas (NEGRI, 2007).

Segundo Negri (2007), o controle da podridão parda na cultura do pessegueiro é baseado na manutenção de saneamento adequado dos pomares. Várias medidas de controle de *M. fructicola* têm sido relatadas, como as medidas de controle: cultural, físico, químico e biológico, durante a cultura ou em pós-colheita.

Na última década, a busca por produtos seguros, sem microrganismos patogênicos ao homem e sem resíduos, tem tornado a legislação fitossanitária mais severa em muitos países. A proibição do comércio de frutos com resíduos de agrotóxicos em níveis superiores ao limite mínimo estabelecido na legislação de cada país e a proibição de uso de vários fungicidas pós-colheita estimulou a busca por formas alternativas de controle (BASSETO, 2007).

Considerando o elevado custo de produção pela carga de agrotóxicos utilizados, muitos produtores passaram a optar por técnicas alternativas de produção, que possibilitam tirar vantagem dos processos naturais e das interações biológicas benéficas para o solo e plantas, reduzindo o uso de recursos externos e melhorando a eficiência das operações (NEGRI, 2007).

Segundo Wagner Júnior (2003), os trabalhos com antagonistas, para controle de doenças de plantas são bastante recentes, sendo que os mais importantes surgiram a partir da década de 90. Para o controle da podridão parda do

pessegueiro, os experimentos “*in vitro*” foram historicamente voltados para o controle pós-colheita e com resultados positivos, mas o avanço para aplicações em campo ainda é limitado.

Segundo Romeiro (2007), testes *in vitro* não podem substituir *in totum* os testes *in vivo*, mas eles são extremamente úteis não só para que se conheça a potencialidade antagonística dos organismos com os quais se trabalha assim como para auxiliar no processo de seleção.

Procariotas antagonistas podem produzir substâncias voláteis ou não, capazes de inibir o crescimento e, ou, a multiplicação de outros microrganismos, o que é interpretado como um mecanismo de antagonismo. Entre essas substâncias citam-se alcoóis, aldeídos, cetonas, sulfetos e amônia (ROMEIRO, 2007).

Para Bonaterra et al. (2003), a limitação no uso de antagonistas com sucesso para controle de doença de plantas está na falta de conhecimento de como adaptar o produto biológico para a cadeia comercial reduzindo a variabilidade da eficácia desses produtos. A descoberta de microrganismos e suas formas de ação permitem além da ampliação nas possibilidades de controle, uma maior segurança nos processos de aplicação e o estabelecimento de condições ideais para a interação entre patógeno e antagonista.

A produção de metabólitos por microrganismos encontra ampla aplicação na área de fármacos e de agroquímicos. Entre os microrganismos utilizados citam-se actinomicetos, fungos filamentosos e algumas linhagens de *Bacillus* produtoras de antibióticos. Estreptomicetos, em especial, produzem substâncias variadas como policetídeos e peptídeos com aminoácidos não protéicos (MELO; AZEVEDO, 1998).

Desta forma, a seleção de um agente bioprotetor, inclui que o mesmo exiba também habilidades relacionadas com a solubilização de minerais e produção de sideróforos que são agentes quelantes de ferro (MARIANO et al, 2005; CATTELAN, 1999), produção de antibióticos e bacteriocinas (THOMASHOW et al., 1990; CATTELAN, 1999), produção de fitohormônios (BORONIN et al., 1993), liberação de enzimas quitinolíticas (ZHANG; YUEN, 2000) e proteolíticas (DUNNE et al., 1997), compostos tóxicos (DE MEYER; HÖFTE, 1997; GUETSKY et al., 2001) e ativação de mecanismos de resistência (KLOEPPER; CHOONG-MIN; ZHANG, 2004) além de outras atividades.

## **4 METODOLOGIA**

O experimento foi realizado no laboratório de Bacteriologia Vegetal do Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM) da Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão, RS, Brasil.

### **4.1 Isolados bacterianos**

Foram utilizados 1246 isolados bacterianos pertencentes à coleção do Laboratório de Bacteriologia Vegetal do Departamento de Fitossanidade da FAEM, provenientes de diferentes habitats, como: solo, alho, cebola, tomate, sementes de arroz, indicadores de antibiose, figueira, feijão, dentre outras plantas.

A manutenção destes isolados biocontroladores ocorre periodicamente, pela repicagem em meio 523 de Kado; Heskett (1970) e sob refrigeração a 4°C segundo método de subculturas periódicas (DHINGRA; SINCLAIR, 1995).

### **4.2 Isolado de *Monilinia fructicola***

O isolado fúngico de *Monilinia fructicola* utilizado nestes ensaios, faz parte da Micoteca do Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM) da Universidade Federal de Pelotas, obtido de frutos de pêssegos com sintomas típicos de podridão parda, oriundo do município de Pelotas.

Este isolado foi transferido (repicado) assepticamente, utilizando uma alça de platina, para placas de Petri contendo meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) e posteriormente incubado sob fotoperíodo de 12 horas de luz/ 12 horas de escuro à temperatura de 22°C ± 3°C durante 7 dias.

### **4.3 Antibiose**

Foram utilizadas placas de Petri com 10 mL de meio 523 de Kado; Heskett (1970), vertidos em câmara de fluxo laminar. Após solidificação do meio, foram repicados por método de risca, quatro isolados bacterianos diferentes, de forma eqüidistante na placa.

Posteriormente, depositou-se no centro da placa um disco com crescimento micelial do fungo *M. fructicola*. Como testemunhas utilizaram-se placas contendo somente o fungo no centro.

As placas foram incubadas a  $22 \pm 2^\circ \text{C}$ , por tempo suficiente até que o micélio do fungo da testemunha atingisse os bordos da placa (de 4 a 7 dias). A seguir foram realizadas as avaliações quanto à presença ou ausência de halos de inibição de crescimento micelial ao redor dos isolados bacterianos, onde zero (0) corresponde ausência de inibição e um (1) ocorrência de inibição do crescimento micelial.

Foram feitas também avaliações quanto à intensidade dos halos de inibição, classificados por: halo de inibição tipo I (até 1,0 cm); halo de inibição tipo II (entre 1,0 cm e 2,0 cm) e halo de inibição tipo III (maior que 2,0 cm).

#### **4.4 Produção de metabólitos voláteis**

Os isolados que apresentaram resultado positivo no teste de antibiose com halo de inibição tipo III, foram testados quanto à produção de compostos voláteis, adaptando-se metodologia de placas sobrepostas descrita por Romeiro (2007).

Utilizaram-se placas de Petri descartáveis de poliestireno com divisória central. Adicionou-se no lado da placa contendo meio 523 de Kado; Heskett (1970), 50  $\mu\text{L}$  de cada suspensão bacteriana preparada em água peptonada a partir de colônias com 48 horas de crescimento. Espalhou-se a suspensão uniformemente com alça de Drigalsky. No lado contendo meio BDA, transferiu-se assepticamente um disco com 0,5 cm de diâmetro do micélio do fungo, posicionando-o na região marginal da placa.

As tampas das placas foram removidas e os fundos de placas descartáveis serviram como tampa das placas preparadas conforme descrito anteriormente, que foram então fechadas e vedadas com fita adesiva. O experimento foi realizado em triplicata para cada isolado. Como testemunha, utilizou-se o mesmo conjunto, mantendo-se estéril o meio destinado ao cultivo das bactérias e adicionando o disco micelial no seu respectivo meio.

As placas foram incubadas a  $22 \pm 2^\circ \text{C}$ , por tempo suficiente até que o micélio do fungo da testemunha atingisse o centro da placa com a divisória (cerca de 7 dias). As avaliações foram feitas com base na ausência (0) e presença (1) de halo



de inibição do fungo, sendo medido o diâmetro do halo de crescimento micelial com paquímetro digital.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 1246 isolados bacterianos utilizados, 546 apresentaram resultado positivo para antibiose. Destes, 125 apresentaram halo de inibição do tipo III (halo máximo); 213 apresentaram halo de inibição do tipo II; e 208 apresentaram halo de inibição do tipo I, conforme fig. 1.

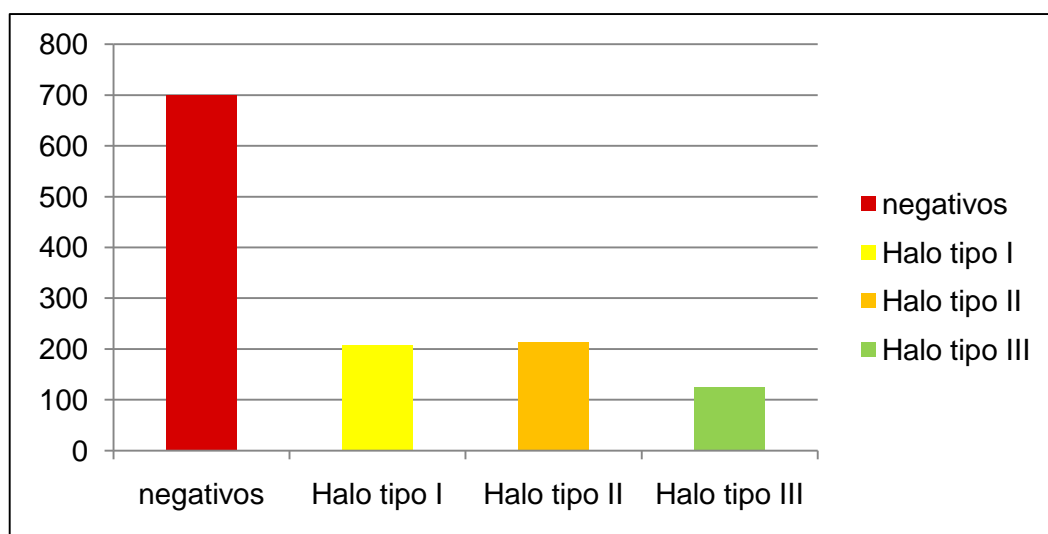


Figura 1 - Número de isolados bacterianos com resultado negativo e positivo para antibiose contra *Monilinia fructicola*, classificados quanto ao tipo de halo de inibição.

Dentre todos os isolados utilizados, independente do local de isolamento, 44% apresentaram antibiose contra *M. fructicola* (Fig. 2A) e destes, 10% apresentaram intensidade inibitória III (Fig. 2B). Estes isolados, especialmente os que demonstraram maior efeito *in vitro* na inibição de *M. fructicola* (Fig. 3), são importantes candidatos ao biocontrole, devendo ser avaliados em testes posteriores.

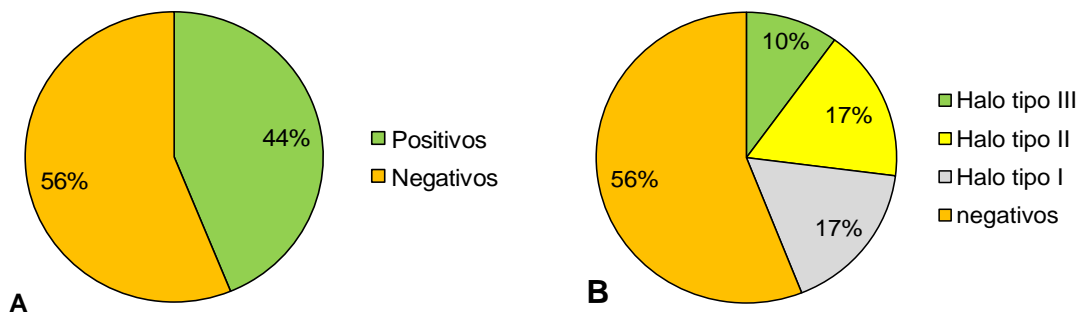


Figura 2 - Porcentagem total de isolados com efeito de antibiose contra *Monilinia fructicola* (A); intensidade de inibição (halo III, halo II, halo I e negativos) dos isolados bacterianos sobre *M. fructicola* (B).

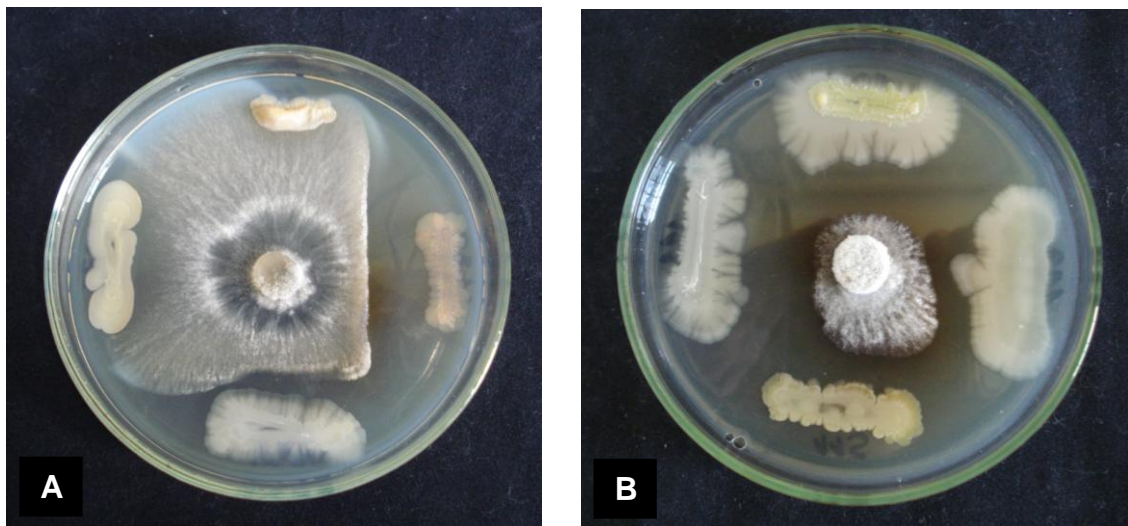


Figura 3 - Teste de antibiose contra *Monilinia fructicola*. Isolados bacterianos da parte direita e inferior mostrando resultado positivo, e esquerda e superior mostrando resultado negativo(A); Isolados bacterianos inibindo crescimento micelial do patógeno com halos de maior intensidade (B).

Há vários relatos da ocorrência de antibiose contra *M. fructicola*, sendo muitos deles induzidos por fungos, como *Penicillium frequentans* Westling (DE CAL; SAGASTA; MELGAREJO, 1990), *Epicoccum nigrum* Link (MADRIGAL; PASCUAL; MALGAREJO, 1994), *Trichothecium roseum* (Pers.:Fr.) Link (HONG; MICHAILIDES, 1997), *Aureobasidium pullulans* (de Bary) Arnaud, *E. purpurascens* Ehrenberg, *Gliocladium roseum* Bainier (WITTIG; JHONSON; PSCHIEDT, 1997). Os relatos para bactérias produtoras de compostos inibitórios se concentram principalmente em espécies de *Bacillus* (ZHOU; SCHNEIDER; LI, 2008; SCHERM; SAVELLE; LAW, 2007; NGUGI et

al., 2005; DEDEJ; DELAPLANE; SCHERM, 2004). No entanto, há um número grande de espécies de diferentes gêneros que foram relatadas como produtores de compostos antimicrobianos nos últimos anos: *Burkholderia* (MASYAHIT et al., 2009), *Streptomyces* (LU et al., 2008), *Xenorhabdus* e *Photorhabdus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* e *Weissella* (TRIAS et al., 2008), *Pantoea* (THORNTON; SVELLE; SCHERM, 2008) e *Microbacterium*, *Raoultella* e *Serratia* (JANISIEWICZ; BUYER, 2010).

Levando em conta o local de isolamento das possíveis bactérias biocontroladoras, a maior percentagem de inibição de *M. fructicola* foi observada por isolados obtidos a partir de plantas de alho, seguido por cebola, feijão e solo de pessegueiro. Quando levado em consideração a maior intensidade de inibição (halo III), constatou-se que alho, cebola, picão preto e feijão foram os que apresentaram maior número de possíveis bactérias biocontroladoras. Os isolados obtidos a partir de solo de figueira foram os que apresentaram menor potencial de inibição a *M. fructicola*. (Tab. 1).

Tabela 1 - Porcentagem de isolados positivos conforme o local de isolamento e porcentagem de isolados com maior intensidade de inibição (halo III) de acordo com o hospedeiro

<b>Hospedeiro</b>	<b>% Total Isolados Positivos</b>	<b>% Isolados Positivos com Halo III</b>
Alho	69,4	26,9
Arroz	40,0	6,0
Cebola	60,9	15,9
Feijão	44,1	8,3
Picão Preto	35,7	14,3
Rizosfera diversos hospedeiros	36,6	7,6
Rizosfera Figueira	27,9	3,3
Rizosfera Pessegueiro	42,1	6,7
<i>Tagetis</i>	36,1	6,9

É consenso que as probabilidades de se encontrar um biocontrolador eficiente contra um dado patógeno são maiores quando os isolados candidatos são obtidos do hospedeiro do patógeno, no caso do presente trabalho, pessegueiro e ou solo sob cultivo deste (BETTIOL, 1991). No entanto, os dados aqui obtidos não

confirmam esta premissa, em contradição até mesmo com trabalhos visando controle no mesmo patossistema como verificado por Janisiewicz; Buyer (2010) que obtiveram redução da severidade de *M. fructicola* em mais de 50% (51,8 a 91,4) na concentração do patógeno de  $10^5$  conídio/mL, através de microflora bacteriana associada com frutas de nectarina. Estes autores observaram que um isolado não identificado reduziu 91,4%, *Microbacterium barkeri* (84,6%), *Raoultella terrigena* (57,7%) e *Serratia grimesii* (51,7%).

Por outro lado, na busca por antagonistas, alguns autores obtiveram isolados da parte aérea de plantas e os testaram para o biocontrole de enfermidades também na parte aérea da própria espécie vegetal de onde foram isolados, como fizeram MICHEREF et al. (1994b); HALFELD-VIEIRA; ROMEIRO; CARRER FILHO, (2000); MACAGNAN, (2005). Já outros autores, isolaram antagonistas de órgãos subterrâneos e testaram como antagonistas à patógenos na parte aérea de plantas conforme relatos de MICHEREF; SILVEIRA; MARIANO, (1994a); STROMBERG; KINKEL; LEONARD, (2000); YUEN et al. (2001).

Adicionalmente, há possibilidade de sucesso mesmo quando os microrganismos são obtidos de habitats inusitados, uma vez que agentes de biocontrole não são isolados exclusivamente de plantas ou de solo. Zhou et al. (2008) utilizando oito agentes de biocontrole para controle de patógenos pós colheita, verificaram que dois deles mostraram atividade biocontroladora após 5 dias da inoculação em frutos de pêssigo, reduzindo a incidência de *M. fructicola* em 92% e diâmetro da lesão em 88%. Em frutos naturalmente infectados, as culturas e filtrados de *Bacillus* sp. reduziram em 77% e 90%, respectivamente, sendo este, isolado de fermento bacteriano de queijo.

Relatos de antibiose *in vitro* e controle *in vivo* de outras espécies de *Monilinia* são também descritos e de extrema importância, inclusive aqueles que também podem infectar pessegueiros, como *M. laxa*. Por meio da utilização de bactérias lácticas isoladas de frutas e legumes frescos, Trias et al. (2008) avaliaram *in vitro* a potencialidade das mesmas para o biocontrole dos fungos fitopatogênicos *Monilinia laxa*, *Penicillium expansum* e *Botrytis cinerea*, e para as fitobactérias *Xanthomonas campestris* e *Erwinia carotovora*, observando resultados estimuladores. Trabalhos *in vivo* para o controle de *M. laxa* em ramos de damasco (*Prunus armeniaca*) por espécies de *Bacillus*, *Burkholderia* e *Pseudomonas* mostraram *Burkholderia* sendo a bactéria mais eficiente, além de apresentar alta atividade antibiótica *in vitro* (ALTINDAG et al., 2006).

O teste visando à detecção de compostos antifúngicos voláteis, aqui implementado, evidenciou a produção de compostos bioativos. Dos 100 isolados bacterianos avaliados, 38 inibiram o crescimento micelial de *M. fructicola*, gerando halos de inibição de diferentes dimensões. Os isolados que produziram compostos voláteis ativos contra este fitopatógeno não o fizeram em 100% das repetições: 13,15% mostraram resultado positivo nas três repetições, 28,94% em duas e 42,11% em uma. Os isolados DFs465, , DFs572, DFs580, DFs628 e DFs1020 (tab. 2) inibiram o crescimento do fitopatógeno nas três repetições executadas (fig. 4 e 5), apresentando média do diâmetro do halo de 30,61 mm; 20,37 mm; 21,99 mm; 25,99 mm e 25,78mm respectivamente (tab. 3), considerando a testemunha com aproximadamente 40,36 mm.

Tabela 2 Habitat dos isolados bacterianos que inibiram o crescimento micelial de *Monilinia fructicola* nas três repetições

<b>Isolado</b>	<b>Habitat</b>
DFs 465	túnicas de alho
DFs 572	sementes de milho
DFs 580	Desconhecido
DFs 628	solo sob cultivo de alho
DFs 1020	Solo

Tabela 3 -Crescimento micelial de *Monilinia fructila* (diâmetro em milímetros) quando em placas sobreposta ao crescimento de bactérias antagonistas

<b>Isolado</b>	<b>repetições (mm)</b>			<b>média(mm)</b>
	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	
DFs 465	23,05	32,79	36,00	30,61
DFs 572	19,85	20,55	20,72	20,37
DFs 580	18,37	20,53	27,09	21,99
DFs 628	23,66	26,39	27,93	25,99
DFs 1020	16,91	21,98	38,45	25,78
Testemunha	-	-	-	40,36

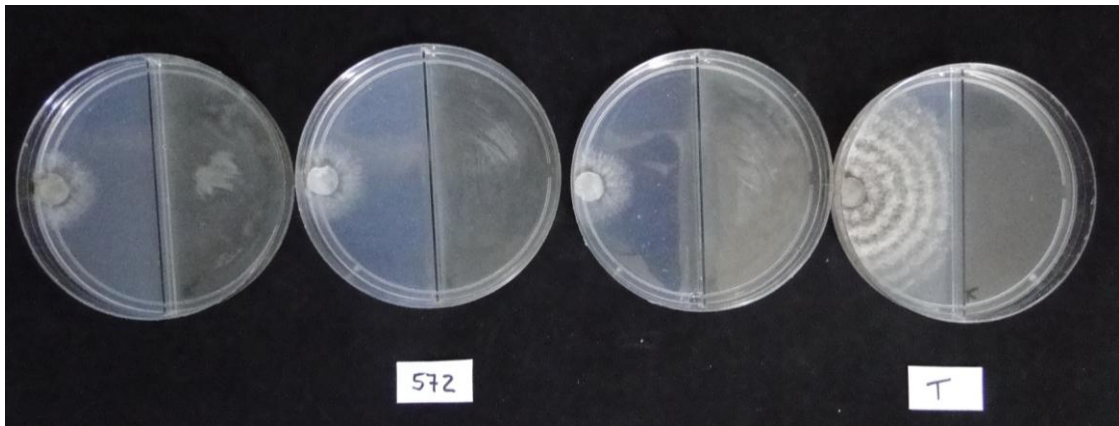


Figura 4 - Isolado DFs572 exemplificando resultado positivo nas três repetições para produção de metabólitos voláteis inibitória de crescimento micelial de *Monilinia fructicola*.

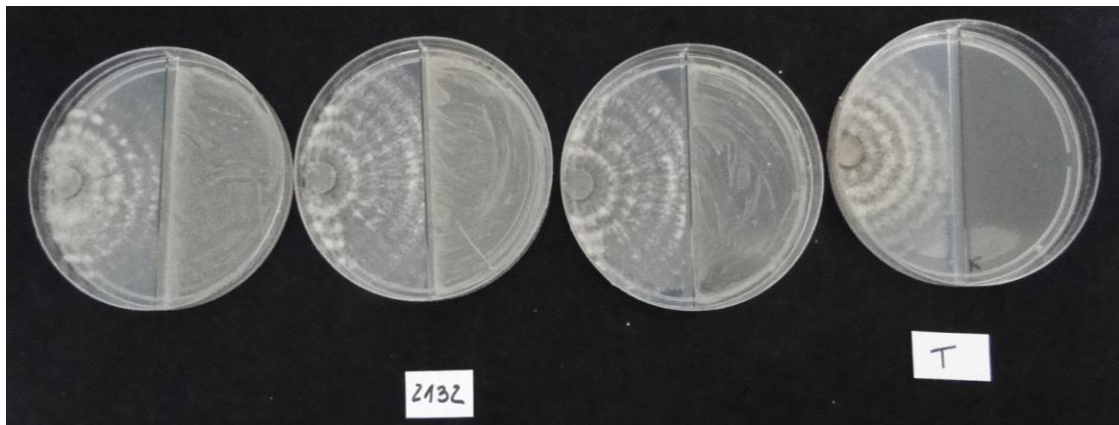


Figura 5 - Teste de produção de compostos voláteis mostrando resultado negativo na inibição do crescimento micelial de *Monilinia fructicola* nas três repetições.

Ladeira (2004), avaliando a produção *in vitro* de compostos antimicrobianos por 11 rizobactérias diferentes observou que todos os isolados bacterianos testados inibiram o crescimento micelial de *Quambalaria eucalypti*. O crescimento micelial variou de 2,6 cm a 7,5 cm, com grau de inibição variando de 54,5% a 84,5%, concluindo que os isolados testados produziram substâncias antifúngicas voláteis tóxicas ao patógeno, resultando na inibição de seu crescimento micelial.

Avaliação similar visando à detecção de compostos antifúngicos voláteis por bactérias de filoplano de macieira evidenciou a produção deste tipo de composto por todos os antagonistas ativos contra os fungos fitopatogênicos testados: *Colletotrichum gloeosporioides*; *C. acutatum* e *Glomerella cingulata* sensíveis a estes compostos apresentando diferença significativa em relação à testemunha (ROLLEMBERG, 2008).

O percentual elevado de bactérias produtoras de voláteis com atividade antimicrobiana nos trabalhos citados pode ser associado a uma seleção prévia para biocontrole e/ou isolamento a partir de hospedeiro do patógeno alvo, o que não ocorreu no presente trabalho. As bactérias aqui avaliadas foram, na maioria, provenientes de solo, rizosfera e filoplano de outras plantas que não o pessegueiro, como arroz, feijão, milho e tomate.

O espectro de ação dos biocontroladores que atuam por antibiose pode ser limitado ou amplo. As bactérias utilizadas neste trabalho parecem enquadrar no grupo de amplo espectro uma vez que outros fungos fitopatogênicos se mostraram sensíveis aos compostos produzidos por estas quando em pareamento de culturas. Marcuzzo (2002) avaliando antibiose por difusão em gel contra patógenos do alho verificou que o isolado DFs465 controlou o crescimento de *Embellisia allii*, *Aspergillus niger* e *Pseudomonas marginalis*. Em outros trabalhos de antagonismo, o isolado DFs628 inibiu o crescimento de patógenos do arroz como *Curvularia* sp., *Bipolaris oryzae*, *Gerlachia oryzae* e *Pyricularia oryzae*, ao passo que DFs465, DFs572, DFs580 e DFs1020 não inibiram nenhum destes fungos (SOARES; MOURA; GONÇALVES, 2006); embora o isolado DFs1020 tenha inibido o crescimento de *Macrophomina phaseolina* (GONÇALVES; MOURA; SOARES, 2006).

Vários são os mecanismos e as substâncias sintetizadas por agentes de biocontrole. Segundo Lu et al. (2010) *Streptomyces lydicus*, isolado de solo, apresenta atividade inibitória estável e intensa contra *Fusarium oxysporum*, *B. cinerea* e *M. laxa*. O composto produzido pelo biocontrolador foi purificado e caracterizado como natamicina, antibiótico também produzido por outras espécies de *Streptomyces* como: *S. chattanovgensis*, *S. natalensis* e *S. gilvosporeus*. Para Lim et al. (2007) *Streptomyces padanus*, isolado de frutos mumificados, produziu valinomicina, um ciclodepsipeptídeo efetivo contra *M. fructicola*.

Em um programa de desenvolvimento de um biocontrolador para controle de doenças de plantas o primeiro passo é a seleção dos potenciais agentes, posteriormente muitas outras etapas são necessárias, sendo a maioria delas *in vivo* e muitas em campo, inclusive, avaliando questões de aplicação do produto e aspectos comerciais.

Neste sentido, existem muitos estudos para o controle de *M. vaccinii-corymbosi* em mirtilo utilizando o produto comercial Serenade AS a base de *B. subtilis* QST713. SCHERM; SAVELLE; LAW, (2007) utilizando técnica de spray eletrostático de



produtos comerciais a base de microrganismos biocontroladores como Serenade AS (*B. subtilis* QST713) e BlightBan A506 (*Pseudomonas fluorescens* A506) observaram que a carga eletrostática aumentou a cobertura dos tecidos e as bactérias não foram afetadas (sobrevivência) pela carga elétrica para o produto Serenade. Em outro estudo, dispensando o mesmo produto por abelhas (*Apis mellifera*) durante a polinização, mostrou resultados de controle eficiente quando em alta densidade de abelhas sem afetar a população destas (DEDEJ; DELAPLANE; SCHERM, 2004). Adicionalmente, Ngugi et al. (2005), avaliaram os possíveis efeitos negativos de Serenade (*B. subtilis*) sobre a polinização e desenvolvimento do fruto, bem como no momento da colheita, em ensaios em casa de vegetação e em campo. Não foram observados efeitos negativos na polinização nem tão pouco nas características do fruto sob condições favoráveis, no entanto, sob condições de baixa polinização, cuidado deve ser tomado.

Finalmente, os dados aqui apresentados são referentes a um estudo inicial, embora mostrem o potencial de algumas bactérias produzirem compostos voláteis ou não, há a necessidade de se avaliar o efeito destas *in vivo*, para que depois se possam aventar as possíveis aplicações destas.

## **6 CONCLUSÃO**

Bactérias isoladas de diferentes habitats apresentam capacidade de produzir compostos voláteis ou não bioativos contra *Monilinia fructicola*.

## 7 REFERÊNCIAS

- ALTINDAG, M.; SAHIN, M.; ESITKEN, A.; ERCISLI, S.; GULERYUZ, M.; FIGEN DONMEZ, F.; SAHIN, F. Biological control of brown rot (*Monilinia laxa* Ehr.) on apricot (*Prunus armeniaca* L. cv. Hachaliloglu) by *Bacillus*, *Burkholderia*, and *Pseudomonas* application under *in vitro* and *in vivo* conditions. **Biological Control**, n.38, p. 369-372, 2006.
- BASSETO, E. Efeito da irradiação UV-C no controle da podridão parda (*Monilinia fructicola*) e da podridão mole (*Rhizopus stolonifer*) em pós colheita de pêssegos. **Fitopatologia Brasileira**, v.5, n. 32, p. 393-399, 2007.
- BETTIOL, W. Componentes do controle biológico de doenças de plantas. In: BETTIOL, W. (Ed.) Controle biológico de doenças de plantas. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA. 1991. p.1-5.
- BLEICHER, J. Doenças de rosáceas de caroço. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. ed. **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3.ed. São Paulo: Ceres, 1997. p.621-627.
- BONATERRA, A.; MARI, M.; CASALINI, L.; MONTESINOS, E. Biological control of *Monilinia laxa* and *Rhizopus stolonifer* in postharvest of stone fruit by *Pantoea agglomerans* EPS125 and putative mechanisms of antagonism. **International Journal of Food Microbiology**, v.84, p.93–104, 2003.
- BORONIN, A.M.; KOCHETKOV, V.V.; DUBEIKOVSKY, A.N.; MORDUKHOVA, E.A. Biological control of soilborn plant pathogens by PGPR *Pseudomonas* isolated in Russia. In: International Congress of Plant Pathology. **Proceedings of the 6th International Congress of Plant Pathology**, Montreal, Canadá, International Society of Plant Pathology, 1993. p.276.
- CASARIN, J.V. **Avaliação da variabilidade de espécies de *Monilinia* associadas à podridão parda do pêssego**. 2007. 56 f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) Setor de Fitopatologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- CATTELAN, A.J. **Métodos quantitativos para determinação de características bioquímicas e fisiológicas associadas com bactérias promotoras do crescimento vegetal**. Londrina: Embrapa Soja, 1999. 36p.
- COELHO, A. R. Biocontrole de doenças pós-colheita de frutas por leveduras: perspectivas de aplicação e segurança alimentar. **Ciências Agrárias**, v.24, n.2, p.337-358, 2003.
- DE CAL, A., SAGASTA, E.M.; MELGAREJO, P. Biological control of peach twig blight (*Monilinia laxa*) with *Penicillium frequentans*. **Plant Pathology** n.39, p.612-618, 1990.

- DE MEYER G.; HÖFTE, M. Salicylic acid produced by the rhizobacterium *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 induces resistance to leaf infection by *Botrytis cinerea* on bean. **Phytopathology**, v.87, p.588-593, 1997.
- DEDEJ, S.; DELAPLANE, K.S.; SCHERM, H. Effectiveness of honey bees in delivering the biocontrol agent *Bacillus subtilis* to blueberry flowers to suppress mummy berry disease. **Biological Control**, n.31, p.422-427, 2004.
- DHINGRA, O.D.; SINCLAIR, J.B. **Basic Plant Pathology methods**. 2 ed. Flórida: CRC Press, 1995. 395p.
- DUNNE, C.; CROWLWEY, J.J.; MOENNE-LOCOZ, Y.; DOWLING, D.N.; BRUJIN, F.J.; O'GARA, F. Biological control of *Pythium ultimum* by *Stenotrophomonas malthophilia* W81 is mediated by an extracellular proteolytic activity. **Mycrobiology**, v. 143, p. 3921-3931, 1997.
- FARIAS, R. de M. Produção convencional x integrada em pessegueiro cv. Marli na depressão central do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 2, p. 253-255, 2003.
- FRANC'ES, J.; BONATERRA, A.; MORENO, M.C.; CABREFIGA, J.; BADOSA, E.; MONTESINOS, E. Pathogen aggressiveness and postharvest biocontrol efficiency in *Pantoea agglomerans*. **Postharvest Biology and Technology**, n.39, p.299-307, 2006.
- GONÇALVES, V.P.; MOURA, A.B.; SOARES, V.N. Prospecção por bactérias produtoras de antibióticos ativos contra fungos que atacam sistema radicular e caules de plantas. In: Congresso de Iniciação Científica, 15., 2006, Pelotas. **Anais...** Pelotas: UFPel, 2006
- GUETSKY, R.; SHTIENBERG, D., ELAD, Y.; DINOOR A. Combining biocontrol agents to reduce the variability of biological control. **Phytopathology**, v. 91, n. 7, p.621-627, 2001.
- HALFELD-VIEIRA, B. A., ROMEIRO, R. S.; CARRER FILHO, R. Atividade antagonística *in vitro* de residentes do filoplano de tomateiro contra fitopatógenos fúngicos e bacterianos da cultura. **Fitopatologia Brasileira**, n.25, p.347, 2000.
- HONG, C.X.; MICHAILIDES, T.J. Prune, plum, and nectarine as hosts of *Trichothecium roseum* in California orchards. **Plant Disease**, n.81, p.112. 1997.
- JANISIEWICZ, W.J.; BUYER, J.S. Culturable bacterial microflora associated with nectarine fruit and their potential for control of brown rot. **Canadian Journal of Microbiology**, v.56, n.6, p.480-486, 2010.
- KADO, C.J.; HESKETT, M.G. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. **Phytopathology** v. 60, p.969-976, 1970.

KLOEPPER, J.W.; CHOONG-MIN, R. ZHANG, S. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. **Phytopathology**, v. 94, n. 11, p.1259-1266, 2004.

LADEIRA, M. C. G. **Biocontrole de *Quambalaria eucalypti* por meio de rizobactérias.** 2004. 46f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Programa de Pós Graduação em Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

LIM, T.H.; OH, H.; KNON, S.Y.; KIM, J.H.; SEO, H.W.; LEE, J.H.; MIN, B.S.; KIM, J.C.; LIM, C.H.; CHA, B. **Natural Product Sciences**, v.13, n.2, p.144-147, 2007.

LU, C.G.; LIU, W.C.; QIU, J.Y.; WANG, H.M.; LIU, T.; LIU, D.W. Identification of an antifungal metabolite produced by a potential biocontrol actinomyces strain A01. **Brazilian Journal of Microbiology**, n.39, p.701-707, 2008.

MACAGNAN, D. **Isolamento e Seleção de bactérias endosporogênicas e do tipo actinomicetos visando biocontrole da vassoura-de-bruxa (*Crinipellis pernicioso*) e da podridão parda (*Phytophthora* spp.) do Cacaueiro (*Theobroma cacao* L.) e estudos dos mecanismos de antagonismo ao fungo *Crinipellis pernicioso*.** 122p. Dissertação (em Fitopatologia) – Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa. Viçosa. 2005.

MADRIGAL, C.; PASCUAL, S.; MALGAREJO, P. Biological control of peach twig blight (*Monilinia laxa*) with *Epicoccum nigrum*. **Plant Pathology**, London, n.43, p.554-561, 1994.

MARCUZZO, L.L. **Seleção e caracterização de bactérias com potencial para controle biológico da queima bacteriana do alho.** 2002. 54f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Departamento de Fitossanidade, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2002.

MARIANO, R.L.R.; GOMES, A.M.A.; ASSIS, S.M.P.; SILVEIRA, E.B. Mecanismos de ação de bactérias promotoras de crescimento de plantas. In: MARIANO, R.L.R.; SILVEIRA, E.B. **Manual de práticas em fitobacteriologia.** 2 ed. Recife. UFRPE. 2005. 184p.

MARTINS, C. R.; CANTILLANO, R. F. F.; TREPTOW, R.; FONSECA, R. M.; ROMBALDI, C. V. Manejo da cobertura vegetal na conservação e qualidade pós-colheita de pêssegos (*Prunus persica* (L.) Batsch) cv. Chimarrita. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.23, n. 1, p. 55-58, 2001.

MASYAHIT, M.; SIJAM, K.; AWANG, Y.; SATAR, M.G.M. *In vitro* assay of factors affecting the growth of pathogens associated with diseases on dragon fruit (*Hylocereus* spp.) in peninsular Malaysia. **Plant Pathology Journal**, v.8, n.4, p.144-151, 2009.

MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. **Ecologia Microbiana**, 1.ed. Jaguariúna: Embrapa CNPMA, 1998. 488p.

MICHEREF, S.J.; SILVEIRA, N.S.S.; MARIANO, R.L.R. Antagonismo de bactérias sobre *Colletotrichum graminicola* e potencial de biocontrole da antracnose do sorgo. **Fitopatologia Brasileira**, n.19, p.541 - 545, 1994a.

MICHEREF, S. J.; SILVEIRA, N.S.S., REIS, A.; MARIANO, R.L.R. Epiphytic bacteria antagonistic to *Curvularia* leaf spot of yam. **Microbial Ecology**, n.28, p.101-110, 1994b.

MOREIRA, L. M. Metodologia para detecção de infecções latentes de *Monilinia fructicola* em frutas de caroço. **Ciência Rural**, v.37, n.3, p.628-633, 2007.

NEGRI, G. **Controle da podridão parda em pessegueiro conduzido em sistema orgânico e produção do antagonista *Trichothecium roseum***. 2007. 147p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

NGUGI, H.K.; DEDEJ, S.; DELAPLANE, K.S., SVELLE, A.T.; SCHERM, H. Effect of flower-applied Serenade biofungicide (*Bacillus subtilis*) on pollination-related variables in rabbiteye blueberry. **Biological Control**, n.33, p.32-38, 2005.

PROTAS, J.F.S.; MADAIL, J.C.M. **Sistema de produção de pêssego de mesa na Região da Serra Gaúcha**, 2003. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/>> Acesso em: 18 de julho de 2009.

ROLLEMBERG, C. L. **Mancha das folhas da macieira: caracterização fisiológica dos agentes causais, controle biológico com bactérias residentes de filoplano e sensibilidade dos antagonistas a fungicidas e inseticidas**. 2008. 124f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

ROMEIRO, R.S. **Controle Biológico de Doenças de Plantas: procedimentos**. 1.ed. Viçosa: Editora UFV, 2007. 172p.

SCHERM, H.; SVELLE, A.T.; LAW, S.E. Effect of electrostatic spray parameters on the viability of two bacterial biocontrol agents and their deposition on blueberry flower stigmas. **Biocontrol Science and Technology**, v.17, n.3, p.285-293, 2007.

SOARES, V. N.; MOURA, A. B.; GONÇALVES, V.P. Prospecção por bactérias produtoras de antibióticos ativos contra fungos causadores de manchas foliares em arroz. In: Congresso de Iniciação Científica, 15., 2006, Pelotas. **Anais...** Pelotas: UFPel, 2006.

STROMBERG, K.D., KINKEL, L.L.; LEONARD, K.J. Interactions between *Xanthomonas translucens* pv. *translucens* the causal agent of bacterial leaf streak of wheat, and bacterial epiphytes in the wheat phyllosphere. **Biological Control**, n.17, p.61-72, 2000.

THOMASHOW, L.S.; WELLER, D.M.; BONSALL, R.F.; PIERSON, L.S. Production of the antibiotic phenazine-1-carboxylic acid by fluorescent *Pseudomonas* species in the

rhizosphere of wheat. **Applied and Environmental Microbiology**, v.56, p.908-912, 1990.

THORNTON, H.A.; SAVELLE, A.T.; SCHERM, H. Evaluating a diverse panel of biocontrol agents against infection of blueberry flowers by *Monilinia vaccinii-corymbosi*. **Biocontrol Science and Technology**, v.18, n.4, p.391-407, 2008.

TRIAS, R.; BAÑERAS, L.; MONTESINOS, E.; BADOSAL, E. Lactic acid bacteria from fresh fruit and vegetables as biocontrol agents of phytopathogenic bacteria and fungi. **International Microbiology**, n.11, p.231-236, 2008.

WAGNER JÚNIOR, A. **Avaliação de germoplasma de pessegueiro, quanto à reação à *Monilinia fructicola* (Wint.) Honey**. 2003. 75p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrônômicas) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

WITTIG, H.P.P., JOHNSON, K.B.; PSCHIEDT, J.W. Effect of epiphytic fungi on brown rot blossom blight and latent infections in sweet cherry. **Plant Disease**, n.81, p.383-387. 1997.

YUEN, G. Y.; STEADMAN, J. R., LINDGREN, D. T., SCHAFF, D.; JOCHUM, C. Bean rust biological control using bacterial agents. **Crop Protection**, n.20, p.395-402, 2001.

ZHANG, Z.; YUEN, G.Y. The role of chitinase production by *Stenotrophomonas malthophilia* strain C3 in biological control of *Bipolaris sorokiniana*. **Phytopathology**, v. 90, p. 384-389, 2000.

ZHOU, T.; SCHNEIDER, K.E.; LI, X.Z. Development of biocontrol agents from food microbial isolates for controlling post-harvest peach brown rot caused by *Monilinia fructicola*. **International Journal of Food Microbiology**, n.126, p.180-185, 2008.

**\* Trabalho realizado conforme:**

GIUSTI, C.L.L.; GOMES, Z.M.F.; OLIVEIRA, A.A DE & ZIBETTI, C.D.D. 2006. **Teses, dissertações e trabalhos acadêmicos: manual de normas da Universidade Federal de Pelotas**. Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Pró-Reitoria de Graduação, Sistema de Bibliotecas (UFPel). 61p. Versão eletrônica disponível em: <[www.ufpel.tche.br/prg/sisbi](http://www.ufpel.tche.br/prg/sisbi)>.