



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA E ZOOTECNIA
CURSO DE ENGENHARIA FLORESTAL**

JOYCE LUZ DOMINGUES

**EFEITO DE FOSFITO DE POTÁSSIO E *Bacillus subtilis* NO CRESCIMENTO
MICELIAL DE *Ganoderma sp.***

**VITÓRIA DA CONQUISTA – BA
2018**

JOYCE LUZ DOMINGUES

**EFEITO DE FOSFITO DE POTÁSSIO E *Bacillus subtilis* NO CRESCIMENTO
MICELIAL DE *Ganoderma* sp.**

Monografia apresentada à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB / *Campus* Vitória da Conquista – BA, para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Florestal.

Orientador: Prof. Dr. Quelmo Silva de Novaes

Vitória da Conquista - BA
2018

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA E ZOOTECNIA
CURSO DE ENGENHARIA FLORESTAL

Campus de Vitória da Conquista – BA

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Título: Efeito de fosfite de potássio e *Bacillus subtilis* no crescimento micelial de *Ganoderma* sp.

Autor: Joyce Luz Domingues

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de BACHAREL EM ENGENHARIA FLORESTAL, pela Banca Examinadora:



Prof. D. Sc. Quélmo Silva de Novaes - UESB
Orientador



Prof. D. Sc. Arminio Santos - UESB



Prof. Daise Cardoso de Souza Bernardino - UESB

Data de realização: 21/05/2018

UESB – Campus Vitória da Conquista, Estrada do Bem Querer, km 04
Telefone: (77) 3424-9380
Fax: (77) 3424-1059 CEP: 45083-900
E-mail: ccengflor@uesb.edu.br

RESUMO

DOMINGUES, Joyce Luz, Graduanda, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, maio de 2017. **Efeito de Fosfito de Potássio e *Bacillus subtilis* no Crescimento Micelial de *Ganoderma* sp.** Orientador: Quelmo Silva de Novaes.

O *Enterolobium contortisiliquum* é uma espécie arbórea pertencente à família Fabaceae e é utilizada na recomposição de áreas degradadas e para o aproveitamento de sua madeira. Por isto, é importante conhecer o comportamento dessa espécie no ambiente em que se encontra, bem como os fatores que afetam seu desenvolvimento. Muitas doenças bióticas e abióticas comprometem o desenvolvimento de espécies florestais. Dentre os agentes causais de doenças bióticas estão os fungos, bactérias, vírus e nematoides. Porém, sua ocorrência em essências florestais ainda é pouco investigada o que dificulta a adoção de medidas que visam o controle dessas doenças. O fungo *Ganoderma* sp. pode causar sérios problemas de podridão de raiz em essências florestais. Em Vitória da Conquista, BA este fungo tem sido observado em árvores de *Enterolobium contortisiliquum* comprometendo seu desenvolvimento. Portanto, o objetivo desse trabalho foi testar alternativas de controle do *Ganoderma* sp. em condições de laboratório. Para isto, isolados de *Ganoderma* sp. foram submetidos a testes *in vitro* para verificação do efeito fungitóxico do fosfito de potássio nas concentrações de 0, 500, 1000, 1500, 2000, 2500 e 3000 ppm do produto comercial, e a interação deste patógeno com o *Bacillus subtilis* em placas de Petri contendo meio de cultura BDA. Os tratamentos tiveram efeito significativo na inibição do crescimento micelial do fungo. O tratamento com o fosfito de potássio na concentração de 3000 ppm apresentou maior significância na inibição do crescimento micelial do fungo. O tratametento com a bactéria *B. subtilis* possibilitou 25,89% de redução do crescimento micelial do *Ganoderma* sp., em relação ao da testemunha.

Palavras-chave: Basidiomycota, controle, doença.

ABSTRACT

DOMINGUES, Joyce Luz, Undergraduate, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, may, 2017. **Effect of Potassium phosphite and *Bacillus subtilis* on the Mycelial growth of *Ganoderma* sp.** Adviser: Quelmo Silva de Novaes.

Enterolobium contortisiliquum is a tree species belonging to the Fabaceae family and is used in the recovery of degraded areas and for the use of its wood. Therefore, is important to know the behavior of this species in the environment in which it is found, as well as the factors that affect its development. Biotic and abiotic diseases compromise the development of forest species. Among causal agents of biotic diseases are fungi, bacteria, viruses and nematodes but their occurrence in forest essences is still poor investigated, difficulting the adoption of controlling measures for these diseases. Fungus of the genus *Ganoderma* can cause root rot problems in several forest essences. In Vitória da Conquista-BA this fungus has been observed in some tree species compromising its development. The objective of this work was test alternatives to control *Ganoderma* sp. in laboratory conditions. For this, isolates of *Ganoderma* sp. were submitted to in vitro tests to verify the fungitoxic effect of potassium phosphite at the concentrations of 0, 500, 1000, 1500, 2000, 2500 and 3000 ppm of the commercial product, and the interaction of this pathogen with *Bacillus subtilis* in Petri dishes containing BDA culture medium. The treatments had a significant effect on the inhibition of fungal mycelial growth. The treatment with potassium phosphite at the concentration of 3000 ppm showed greater significance in the inhibition of fungal mycelial growth. The treatment with *B. subtilis* showed a reduction of 25.89% in mycelial growth of *G. applanatum* in relation to the control.

Keywords: Basidiomycota, control, disease.

SUMÁRIO

1	Introdução	8
2	Revisão de literatura.....	11
2.1	<i>Enterolobium contortisiliquum</i>	11
2.2	Doenças em espécies florestais	11
2.3	O gênero <i>Ganoderma</i>	12
2.4	Controle de doenças em espécies florestais.....	14
2.5	Controle de doenças de plantas utilizando fosfito de potássio	15
2.6	Controle de doenças de plantas utilizando <i>Bacillus subtilis</i>	16
3	Metodologia	19
3.1	Local de estudo	19
3.2	Obtenção do isolado de <i>Ganoderma</i> sp.....	19
3.3	Inibição do crescimento micelial de <i>Ganoderma</i> sp. sob diferentes concentrações de fosfito de potássio.....	20
3.4	Inibição do crescimento micelial de <i>Ganoderma</i> sp. utilizando-se <i>Bacillus subtilis</i> .	21
4	Resultados e discussão	22
4.1	Inibição do crescimento micelial de <i>Ganoderma</i> sp. sob diferentes concentrações de fosfito de potássio.....	22
4.2	Inibição do crescimento micelial de <i>Ganoderma</i> sp. utilizando-se <i>Bacillus subtilis</i> .	26
5	Conclusão.....	29
6	Referência bibliográfica	30

1 Introdução

Enterolobium contortisiliquum (Vell.) Morong, popularmente conhecida como tamboril, é uma árvore pertencente à família das leguminosas. Ocorre em diversos estados brasileiros e apresenta importância do ponto de vista ecológico, podendo ser utilizada na recuperação de áreas degradadas, e econômico, uma vez que sua madeira pode ser destinada à diversos usos (LORENZI, 2000).

Considerando essas finalidades do *E. contortisiliquum*, nota-se a importância de se conhecer o seu comportamento no ambiente em que está inserida, bem como todos os fatores que estão envolvidos ou que podem afetar o seu desenvolvimento.

Portanto, é importante que se faça o devido acompanhamento desses indivíduos, desde a fase de mudas no viveiro até o seu estabelecimento no campo, atentando-se à manutenção das mesmas, incluindo as medidas fitossanitárias necessárias. Para estas últimas, é fundamental que se conheça as doenças associadas às espécies arbóreas, bem como as melhores alternativas de controle dessas moléstias.

Um dos problemas associados a ocorrência de doenças em essências florestais nativas é o fato de que ainda há poucos registros acerca disto, tornando-se uma área ainda pouco investigada. Isto faz com que planejamentos e ações visando o controle de doenças arbóreas sejam dificultados. Conseqüentemente, a primeira alternativa a ser considerada é a retirada dos indivíduos doentes da área onde se encontram.

As doenças em espécies arbóreas podem ter origem abiótica ou biótica. Os agentes fitopatogênicos bióticos são principalmente os fungos, bactérias, vírus e nematoides. Dentre estes, os fungos ganham destaque frente aos danos que podem provocar em árvores afetando funções essenciais para as mesmas. Além disto, estes microrganismos são capazes de crescer em locais variados, agindo na árvore viva ou morta.

Ascomicetos e basidiomicetos já foram relatados como causadores de doenças em espécies florestais, destacando-se o segundo como causador de podridão em árvores de grande porte (SILVA, 2014). Algumas espécies do gênero *Ganoderma*, por exemplo, são encontradas em espécies florestais provocando podridão de raiz e de colo.

Os métodos de controle de doenças fúngicas em plantas são, muitas vezes, aqueles baseados na erradicação dos indivíduos doentes e na utilização de fungicidas, sendo estes muitas vezes utilizados de maneira indiscriminada. Diante disto, é importante que se façam

estudos de métodos de controle alternativos os quais devem atender eficientemente o objetivo de controlar doenças em campo.

Observa-se, por todos esses aspectos, a importância de estudos preliminares, os quais são realizados em condições de laboratório e que visam subsidiar estudos em campo, de controle de doenças. As pesquisas realizadas *in vitro* podem auxiliar o desenvolvimento de produtos propícios a combater doenças de árvores, os quais podem substituir métodos agressivos de controle dessas doenças, com menor custo, porém, com semelhante eficácia.

Dentre os métodos alternativos de controle de fungos patogênicos em árvores tem-se a utilização do fosfito de potássio, que é normalmente utilizado como fertilizante, e também apresenta potencial fungitóxico. Outra alternativa já bastante estudada é o controle biológico, tendo como agente inibidor bactéria do gênero *Bacillus*, sendo a espécie *B. subtilis* uma das mais empregadas para este fim.

Algumas árvores de *Enterolobium contortisiliquum* na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, campus Vitória da Conquista, têm sido encontradas apresentando severos sintomas de cancro, podridão de raiz, seca de ramos e morte da planta. Trata-se de uma doença provocada pelo fungo *Ganoderma* sp. (Figura 1), que ataca as árvores afetando funções fisiológicas essenciais para a sobrevivência das mesmas.



Figura 1. Basidiocarpo de *Ganoderma* sp. em *Enterolobium contortisiliquum* localizada na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

Diante de todos esses aspectos, objetivou-se com este trabalho testar dois métodos alternativos de controle do *Ganoderma* sp., causador de podridão de raiz em espécies arbóreas, por meio da avaliação do efeito de fosfito de potássio e da bactéria *Bacillus subtilis* no crescimento micelial em condições de laboratório.

2 Revisão de literatura

2.1 *Enterolobium contortisiliquum*

O *Enterolobium contortisiliquum* (Vell) Morong, pertence à família Fabaceae, e é conhecido popularmente como tamboril, orelha-de-macaco, timbori, timbaúva, pau-de-sabão, além de outros que variam de acordo com a região (LORENZI, 2000).

De acordo com Lorenzi (2000) esta espécie pode alcançar 35 m de altura e 1,60 m de diâmetro. Sua ocorrência vai desde os estados do Pará, Maranhão e Piauí até o Mato Grosso do Sul e Rio Grande do Sul, nas florestas pluvial e semidecídua e frequente na floresta latifoliada da bacia do Paraná.

A madeira desta espécie pode ser utilizada na confecção de barcos, canoas, brinquedos, compensados, armações de móveis, portas e caixotarias. Apresenta copa ampla e frondosa, o que proporciona sombra durante o verão. Além disso, é excelente para programas de reflorestamento de áreas degradadas em plantios mistos devido, sobretudo, ao seu rápido crescimento inicial. Sua floração ocorre em setembro e prolonga-se até novembro (LORENZI, 2000).

2.2 Doenças em espécies florestais

Doença de plantas pode ser definida como o mau funcionamento de células e tecidos do hospedeiro que resulta da sua contínua irritação por um agente patogênico ou fator ambiental e que conduz ao desenvolvimento de sintomas; é uma condição envolvendo mudanças anormais na forma, fisiologia, integridade ou comportamento da planta, as quais podem resultar em dano parcial ou morte da planta ou de suas partes (AGRIOS, 1997).

Auer (2001) descreveu em ipês a presença de algumas doenças provocadas por fungos, como a crosta-marrom (*Apiosphaeria guaranitica*), o oídio (*Ovulariopsis* sp.), a ferrugem (*Prospodium bicolor*), a fumagina (*Polychaeton* sp.); por bactérias, declínio do ipê-rosa (*Bartonella* sp.) e por algas, mancha-de-alga (*Cephaleuros* sp.). Lippert et al. (2013) relataram pela primeira vez a ocorrência do fungo *Prospodium bicolor* em ipê-roxo (*Handroanthus heptaphyllus*) no estado do Rio Grande do Sul.

Sologuren e Juliatti, (2007) relataram *Alternaria* sp. e *Oidium* sp. em árvores de oiti (*Moquilea tomentosa*), *Tripospermum* sp. em espatódea (*Spathodea vernicosa*), *Cocodiella* sp. em quaresmeira (*Tibouchina grandiflora*) e *Puccinia gregariana* em pimenta de macaco (*Xylopia aromatica*).

Fungos causadores da ferrugem da pata-de-vaca (*Uromyces viegassi*), da mancha foliar (*Sclerotium coffeicola*) (BRUN; MUNIZ, 2006) e oídio (*Oidium caesalpinacearum*) (MENDES; URBEN, 2010) foram relatados em plantas de pata-de-vaca (*Bauhinia* sp.). Em macadâmia (*Macadamia integrifolia*), Santos (2016) identificou o fungo *Neopestalotiopsis clavispora* como sendo o agente causal da mancha foliar da macadâmia.

Fungos apoderecedores de madeira são em sua maioria classificados como sendo do Filo Basidiomycota. Encontra-se neste Filo organismos causadores da podridão parda, responsáveis pela decomposição de polissacarídeos da parede celular deixando uma cor parda na madeira; e da podridão branca, os quais atacam tanto lignina quanto polissacarídeos (OLIVEIRA et al., 2005).

De Angelis et al. (2007), ressaltam que todas as ocorrências de cancro em árvores estão relacionada à presença de algum fungo. Além disso, os fungos causadores dessa doença atacam espécies arbóreas de todas as idades, porém, nas mais velhas a necrose é mais avançada. Segundo esses autores a ocorrência de cancro é mais referenciada em espécies de eucalipto, seringueira e pinus.

2.3 O gênero *Ganoderma*

O gênero *Ganoderma* pertence à família Ganodermataceae, filo Basidiomycota, no qual estão inseridos patógenos causadores de podridão em troncos de árvores vivas (BINDER et al., 2013). Seus representantes podem atacar diversas plantas, angiospermas ou gimnospermas, porém, para provocar uma doença necessitam de grande quantidade de inóculo inicial (REES et al., 2007). Entretanto, Hazan e Flood (2003) mostraram que um único basidiósporo de *Ganoderma boninense* germinado produz micélio monocariótico em dendê (*Elaeis guineenses*).

Ganoderma spp. produzem as seguintes enzimas de degradação da parede celular: amylase, oxidase, invertase, coagulase, protease, renetase, pectinase e celulase. *Ganoderma boninense* pode crescer a um pH de 3 e 8,5, a uma temperatura ótima de 30 ° C, impedido a 15 e 35 ° C e incapaz de crescer a 40 ° C (CHON et al. 2017).

O *Ganoderma* cresce espontaneamente em ramos de árvores, notadamente, formando carpóforos semicirculares e pode ser encontrados no mundo todo (JO et al., 2009). Alguns representantes deste gênero é responsável por provocar na árvore um tipo de podridão, resultado da deslignificação altamente seletiva e extensiva (DILL; KRAEPELIN, 1986).

Algumas espécies deste gênero apresentam-se como uma ameaça podendo causar podridão de raiz como relatado, por exemplo, na Indonésia onde a espécie *G. philippii* é

considerada o patógeno mais comum responsável por essa doença em plantios de *Acacia mangium* e *Eucalyptus pellita* (COETZEE et al., 2011).

O basidiocarpo de *Ganoderma applanatum* é capaz de produzir 30 bilhões de esporos por dia, durante um período de seis meses (MEREDITH, 1973), sendo que aproximadamente 10% de todas essas estruturas produzidas e que são dispersas pelo ar podem distanciar-se da fonte atingindo mais de 10 metros, de acordo com Sesartic e Dallafior (2011). Assim, fica evidente o potencial dos esporos dessa espécie em percorrerem longas distâncias, alcançando áreas nas quais ainda não havia a presença deste fungo (SADYS'; SKJØTH; KENNEDY, 2014).

Dependendo da espécie pela qual uma determinada árvore está sendo atacada, esta pode sobreviver por longos anos ainda que infectada. Fernando (2008), observou que espécies de *Cassia nodosa* e *Delonix regia* podem sobreviver até dois anos após a formação de basidiocarpos de *G. lucidum*, enquanto que *Cassia fistula* pode morrer em apenas seis meses após a infecção deste mesmo fungo.

Ganoderma phillipii é responsável pelo aparecimento de doença denominada podridão vermelha em plantios de cupuaçuzeiros. Este fungo desenvolve estruturas denominadas carpóforos ou basidiocarpos em troncos de árvores já em decomposição. Assim, raízes de plantas saudáveis, ao entrarem em contato com essas estruturas fúngicas, são contaminadas, podendo ocasionar, com isto, a morte da planta (LIMA; SOUZA, 1998).

No município de Manaus-AM, Cruz e Jesus (2012) registraram a ocorrência de várias árvores, localizadas em áreas verdes da cidade, sendo atacadas por fungos das espécies *G. amazonense*, *Ganoderma* sp., *G. australe*, *G. curtisii* e *G. resinaceum*. As autoras enfatizam que a maior ocorrência do fungo se deu na zona sul da cidade, onde as árvores estão mais expostas às condições de estresse devido a poluição ou a lesões provocadas por podas facilitando o ataque pelo patógeno.

Madeiras de *Eucryphia cordifolia*, *Drimys winteri* e *Nothofagus dombeyi*, foram encontradas por Dill e Kraepelin (1986) degradadas por *Ganoderma applanatum* em florestas tropicais do sul chileno, apresentando deslignificação e desfibração ao longo do interior dos troncos.

Em Vitória da Conquista – BA, várias essências florestais da arborização urbana têm sido encontradas apresentando severos sintomas provocados por fungo do gênero *Ganoderma*, o qual pode ser identificado pela formação de suas estruturas típicas como o basidiocarpo.

2.4 Controle de doenças em espécies florestais

As doenças de plantas podem causar enormes prejuízos, tornando, portanto, o controle como sendo o objetivo prático mais importante da Fitopatologia (BERGAMIN FILHO; KIMATI; AMORIM, 1995).

Quando se trata de doenças de árvores, deve-se levar em consideração, além do controle fitossanitário, a forma de controle, a oneração vinculada ao tipo de controle, o tempo necessário para que haja o controle eficiente e os possíveis danos ao ambiente em estão esses indivíduos. Assim, no planejamento do controle de doenças de espécies arbóreas, é necessário pensar em um sistema econômico, eficaz e com o mínimo impacto ambiental.

As doenças que ocorrem em árvores urbanas devem ser controladas de maneira específica para cada espécie, embora algumas enfermidades podem ser agrupadas para serem combatidas de maneira integrada, de acordo com Auer (1996). Assim, pode-se citar para o manejo integrado os Princípios de Whetzel (WHETZEL, 1929):

Exclusão: onde se pretende a prevenção da entrada de determinado patógeno em áreas que se encontram livres de doenças, como por exemplo o plantio de mudas que não estejam infestadas por patógenos.

Erradicação: Pretende-se à prevenção do estabelecimento do patógeno, quando este já está introduzido, através de sua eliminação, remoção de tocos e raízes colonizados, remoção de ramos, copas e plantas parasitas e podas de limpeza.

Proteção: visa prevenir que o hospedeiro tenha contato com o patógeno, por meio da interposição de uma barreira protetora entre as partes da planta que são suscetíveis e o inóculo do patógeno, aplicando-se produtos protetores. Outra maneira, é a desinfecção das ferramentas que são utilizadas nas podas das árvores.

Imunização: Este método impede que as relações parasíticas íntimas ocorram entre o hospedeiro e o patógeno, com o desenvolvimento de plantas resistentes ou aplicação de produtos sistêmicos.

Terapia: Visa restabelecer a sanidade de uma planta, embora o patógeno já se estabeleceu na mesma numa íntima relação parasítica. Refere-se à cura da planta com aplicação de fertilizantes, corretivos de solo e cirurgia de lesões como cancro e podridão em raízes e tronco.

Além desses, Bergamin, Kimati e Amorim (1995) apresentam os princípios da evasão e da regulação, sugeridos por Marchionatto (1949):

Evasão: Usa-se técnicas de fuga em relação ao patógeno e ao ambiente quando este se encontra em condições favoráveis à doença, ou seja, baseia-se no plantio nas épocas em que o inóculo é infectivo, raro ou ausente. Também pode se proceder o plantio em áreas com estas mesmas condições.

Regulação: O fator ambiente aqui é condicionante, a prevenção ocorre pela aplicação de calagem, para controlar a podridão de raiz; melhoria da drenagem do solo, como forma de prevenir o aparecimento de podridão de raiz, morte de ponteiros e cancos; e controle da irrigação, a fim de prevenir a morte de ponteiros e cancro.

Deve-se, entretanto, se atentar à real necessidade do uso dessas medidas de controle, a fim de justificar sua aplicação, sobretudo em relação ao uso dos produtos químicos, que devem ser utilizados de maneira consciente para, com isso, minimizar os possíveis impactos que podem ser provocados ao meio ambiente.

2.5 Controle de doenças de plantas utilizando fosfito de potássio

O fosfito de potássio é recomendado como fertilizante foliar, entretanto, pode ser utilizado como agente antagônico de fitopatógenos. Caracteriza-se por ser um produto pouco oneroso que não apresenta fitotoxidez, além de ser pouco tóxico à mamíferos (DALIO et al., 2012). Dentre os fosfitos, este é o mais frequentemente utilizado como fertilizante, sendo proveniente do ácido fosforoso (H_3PO_3), que se origina a partir da reação de neutralização com o hidróxido de potássio (ROMA, 2013).

Segundo Deliopoulos et al. (2010), os fungicidas convencionais efetivos estão ficando menos disponíveis fazendo com que o manejo integrado de doenças de plantas ganhe cada vez mais destaque por meio do uso de produtos alternativos, que são considerados ambientalmente corretos, como acontece com os sais inorgânicos, por exemplo.

Neste manejo integrado inclui, dentre outros produtos, o fosfito de potássio que pode ser utilizado para o controle de doenças em campo e também utilizando-o em produtos de pós colheita (PEREIRA et al., 2012). Este adubo também é empregado para controlar doenças em espécies arbóreas, frutíferas e hortícolas em países como a Austrália, União Europeia e Estados Unidos (Miller et al. 2006).

A atividade fungicida em plantas do fosfito de potássio está relacionada ao íon HPO_3^{2-} o qual confere a característica ácida ao produto, como relatam Cohen e Coffey (1986). Trata-se, portanto, de um sal, no qual o fósforo está ligado ao potássio, e que é capaz de induzir resistência à planta de maneira que esta produza suas próprias substância de defesa contra o ataque de fungos (SÔNEGO et al., 2002).

O uso do fosfito de potássio como forma alternativa de controle de doenças torna-o vantajoso do ponto de vista social, ambiental e econômico, já que trata-se de um produto de baixo custo, que apresenta um menor risco à saúde humana e apresenta menor efeito residual frente aos produtos químicos convencionais (ROMA, 2013). O mecanismo por meio do qual ele irá atuar na planta para o controle de doenças fúngicas é por indução de resistência.

De acordo com o que é relatado por Guest e Grant (1991), o fosfito de potássio bem como outros fosfitos, primeiramente foram utilizados visando o fornecimento de fósforo às culturas como um fertilizante foliar. Apenas anos depois é que foi descoberto seu potencial fungicida para microrganismos da classe Oomycetes, como os dos gêneros *Phytophthora*, *Plasmopora* e *Pythium*. No Brasil os fosfitos são ainda muito recomendados como fertilizante.

2.6 Controle de doenças de plantas utilizando *Bacillus subtilis*

O *Bacillus Subtilis* é uma bactéria benéfica encontrada naturalmente no solo com importante função de decomposição e mineralização de restos vegetais e está entre os microrganismos mais estudados como antagonistas de fitopatógenos. Sendo assim, este microrganismo pode ser utilizado no controle de doenças, tanto em culturas quanto em produtos de pós colheita, uma vez que o mesmo pode prevenir patógenos de várias espécies vegetais (FERREIRA; MATTHEE; THOMAS, 1991)

O uso de *B. subtilis* na agricultura apresenta algumas vantagens como a inexistência de tempo de carência, menor toxidez em relação a outras substâncias e compatibilidade com outros produtos comumente utilizados, como é o caso de micronutrientes, enxofre, cobre e até mesmo inseticidas e fungicidas (RIBEIRO; SEI; LEITE, 2011).

O gênero *Bacillus* é capaz de formar endósporos e ainda apresenta vários mecanismos antagônicos (LANNA FILHO; FERRO; PINHO, 2010) o que torna esta bactéria um eficaz agente de combate a patógenos de plantas. De acordo com Cano e Boruck (1995), os esporos formados por esta bactéria são bastante resistentes fazendo com que suas populações possam sobreviver quando expostas a condições desfavoráveis do ambiente.

Outra característica desta bactéria é que, além do biocontrole, também pode ser utilizada comercialmente para o aumento de produtividade (YAO et al., 2006) tendo em vista que sua presença nas culturas pode promover o crescimento vegetal (HAMMAMI et al., 2009). Com relação ao controle de doenças o efeito atagônico do *B. subtilis* pode ser de natureza direta ou indireta, como enfatiza Leelasuphakul et al. (2008).

Segundo estes autores, no mecanismo direto de antagonismo do *B. Subtilis* ocorre o envolvimento da antibiose, ou seja, síntese de substâncias antibióticas e de compostos voláteis, bem como a competição por espaços e por nutrientes. Por outro lado, no mecanismo indireto observa-se o fenômeno conhecido com resistência sistêmica induzida (LANNA FILHO; FERRO; PINHO, 2010).

A resistência sistêmica induzida (ISR) acontece quando a bactéria entra em contato com o tecido vegetal e estimula a geração de sinais bioquímicos celulares que farão com que haja o aumento da concentração tanto de ácido jasmônico quanto de etileno na planta. O acúmulo destas substâncias fará com que genes de defesa que expressam proteínas relacionadas à patogênese sejam transcritos (LANNA FILHO; FERRO; PINHO, 2010).

Ainda no contexto da ISR, Ongena et al (2005) salientam que o *B. Subtilis* sintetiza moléculas capazes de atuar como eliciadoras da resistência sistêmica induzida, fazendo com que a planta apresente uma resposta sistemática de defesa contra o patógeno. Além disto, esta bactéria antagônica produz compostos voláteis que estimulam o estado de defesa da planta contra organismos patogênicos (RYU et al, 2004).

O efeito de antibiose dos microrganismos geralmente apresenta amplo espectro de ação, de forma que a produção de substâncias tóxicas é mais efetiva do que qualquer outro mecanismo, atuando na inibição de fungos patogênicos (KUPPER; GIMENES-FERNANDES; GOES, 2003). Assim, *B subtilis* age geralmente pelo mecanismo de antibiose e, eventualmente, por competição e parasitismo (ARRAS E ARRU, 1997).

Muitos metabólitos antifúngicos podem ser produzidos pela bactéria *B. subtilis*, segundo Ongena et al. (2005) como por exemplo, os lipopeptídeos, os quais são compostos cíclicos de sete ou dez α -aminoácidos que estão ligados a apenas um β -amino ou β -hidroxi ácido graxo, sendo que seu comprimento varia de C13 a C18. Estes peptídeos são semelhantes estruturalmente, porém, possuem diferença quanto a atividade biológica (LANNA FILHO; FERRO; PINHO, 2010).

Zaim, Bekkar, e Belabid, (2018), em trabalho onde os autores analisaram o efeito do *Bacillus subtilis* no controle da murcha-de-fusarium em grão-de-bico, foi verificada a eficácia no controle da doença, com 66,33% de redução na incidência dessa moléstia.

Pode-se, concluir que o *B. subtilis* apresenta diversas vantagens no controle de doenças em plantas e que, por isto, certos produtos bioformulados, que contém esta bactéria como princípio ativo, carregam em seu rótulo características de amplo espectro contra agentes fitopatogênicos, adicionalmente à sua propriedade de promover o crescimento vegetal.

No entanto, cabe salientar que, apesar do aumento na procura por alternativas de controle de fitomoléstias, há ainda algumas barreiras para a chegada do produto final ao consumidor. Estes entraves são principalmente devido a problemas tanto burocráticos quanto legislativos (LANNA FILHO; FERRO; PINHO, 2010).

Estudos concluídos por Suryanto et al. (2012) mostraram que *Bacillus* spp. foi capaz de degradar a parede celular de *G. boninense* resultando em crescimento anormal de hifas. Habilidade de *Bacillus* para produzir enzimas micolíticas como quitinase e β -1,3-glucanase provocando lise das células fúngicas. Estes estudos mostram uma inibição do crescimento do *Ganoderma*.

3 Metodologia

3.1 Local de estudo

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia e Virologia vegetal do Departamento de Fitotecnia e Zootecnia, localizado na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, *campus* Vitória da Conquista - BA.

3.2 Obtenção do isolado de *Ganoderma* sp.

O fungo *Ganoderma* sp. foi obtido da Coleção de Culturas Micoteca do Laboratório de Fitopatologia, local onde foi realizado o experimento. Portanto, o fungo já estava devidamente identificado e classificado. Após isto, o patógeno foi repicado para placa de Petri contendo meio BDA e em seguida incubado em câmara BOD com fotoperíodo de 12 horas, a $\pm 25^{\circ}\text{C}$, por período necessário para que houvesse a total colonização do meio de cultura.

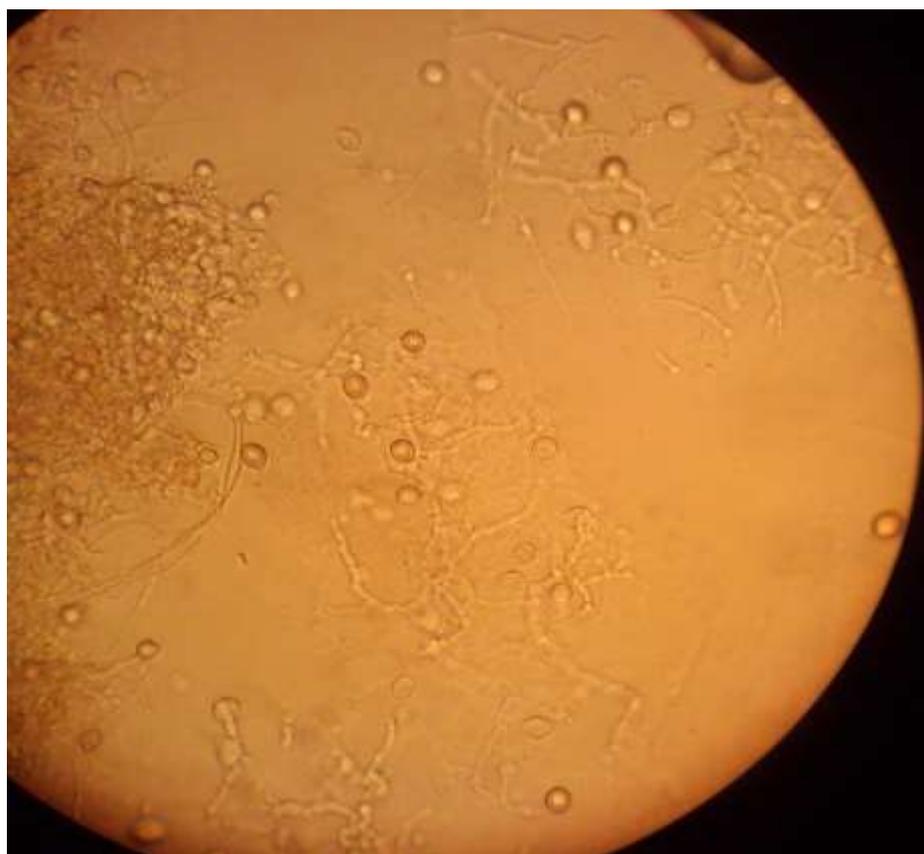


Figura 2. Hifas e basidióporos de *Ganoderma* sp. vistos por meio de microscopia, após incubação em câmara BOD por sete dias.

3.3 Inibição do crescimento micelial de *Ganoderma* sp. sob diferentes concentrações de fosfito de potássio

Utilizou-se o produto comercial Phytogard Potassio para o teste de inibição, que contém em sua composição 596 g.L⁻¹ de P₂O₅ e 298 g.L⁻¹ de K₂O. Este produto foi adicionado ao meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) fundente a aproximadamente 45°C, diluído em sequências de modo a se obter as seguintes concentrações do produto: 0, 500, 1000, 1500, 2000, 2500 e 3000 ppm.

Após isto, foram vertidos 20 mL do meio de cultura com as respectivas concentrações do produto comercial em placas de Petri com nove centímetros de diâmetro. Para compor a testemunha foram preparadas placas com meio BDA sem a adição de fosfito de potássio.

O meio de cultura colonizado com *Ganoderma* sp. durante sete dias foi utilizado para obter discos com oito milímetros de diâmetro, os quais foram transferidos para cada placa de Petri. Em seguida, estas placas foram incubadas em BOD com fotoperíodo de 12 horas, a 25°C por um período de sete dias.

Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), com sete tratamentos, com diferentes concentrações do fosfito de potássio (T1= 0, T2= 500, T3= 1000, T4= 1500, T5= 2000, T6= 2500 e T7= 3000 ppm), sendo cada tratamento com quatro repetições onde cada placa era considerada como uma repetição.

O crescimento micelial do *Ganoderma* sp. foi avaliado a cada dois dias até que, pelo menos, uma das placas da testemunha se apresentasse preenchida pela colônia fúngica. Assim, foram realizadas medições em dois sentidos perpendiculares entre si, com o auxílio de uma régua graduada, sendo a média destas duas medidas o valor do diâmetro. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e de regressão, por meio do programa estatístico SASM-Agri, versão 8.2 (CANTERI et al., 2001).

Utilizando-se a média dos diâmetros das colônias foi calculado o percentual de inibição dos tratamentos em relação à testemunha pela seguinte fórmula:

$$\%I = (C-T) / C \times 100$$

Sendo:

%I = percentagem de inibição;

C = diâmetro médio do crescimento micelial da testemunha;

T = diâmetro médio do crescimento micelial do tratamento.

3.4 Inibição do crescimento micelial de *Ganoderma* sp. utilizando-se *Bacillus subtilis*

O efeito antagônico do *B. subtilis* sobre o fungo *Ganoderma* sp. foi avaliado através do teste de confrontação direta. Para tanto, um disco de meio de cultura BDA de 8 mm de diâmetro contendo micélio do fungo foi transferido para o centro da placa de Petri de 9 cm de diâmetro, também contendo meio de cultura BDA. Este material foi, então, transferido para câmara incubadora com fotoperíodo de 12 horas, a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, durante dois dias.

Após este período, foram dispostas quatro gotas de 0,1 mL do produto comercial Serenade[®], que contém em sua composição células da bactéria *Bacillus subtilis*, uma gota em cada quadrante, de forma equidistante entre si e do centro da placa de Petri. As placas foram mantidas nas mesmas condições citadas anteriormente, em incubadora.

Foram realizadas medições diárias do crescimento do diâmetro da colônia do patógeno, com o auxílio de régua graduada. Diante dos dados de crescimento micelial, foi calculado o percentual de inibição, como descrito no tópico anterior.

Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com dois tratamentos, sendo T1: *Ganoderma* sp. (testemunha); T2: *Ganoderma* sp. x *B. subtilis*, e 10 repetições onde cada placa de Petri representava uma repetição.

A comparação das médias foi feita pelo teste “F” a 1% de probabilidade.

4 Resultados e discussão

4.1 Inibição do crescimento micelial de *Ganoderma* sp. sob diferentes concentrações de fosfito de potássio

Dois dias após o isolamento do *Ganoderma* sp., na primeira avaliação, as colônias fúngicas ainda apresentavam valores aproximados do diâmetro (Figura 3. A). Já nas avaliações posteriores, segunda e terceira, foi verificada uma notável diferença no crescimento micelial do fungo.

Conforme mostra a Figura 3, o modelo de regressão polinomial quadrática foi o que apresentou o ajuste mais adequado aos dados de inibição de crescimento do diâmetro médio das colônias de *Ganoderma* sp. sob diferentes concentrações do fosfito de potássio em meio de cultura BDA.

Observou-se que o efeito inibitório do fosfito de potássio foi maior na segunda (4° dia) e terceira (6° dia) avaliações, de modo que nas maiores concentrações do produto a inibição da colônia foi maior (Figura 3. B e C).

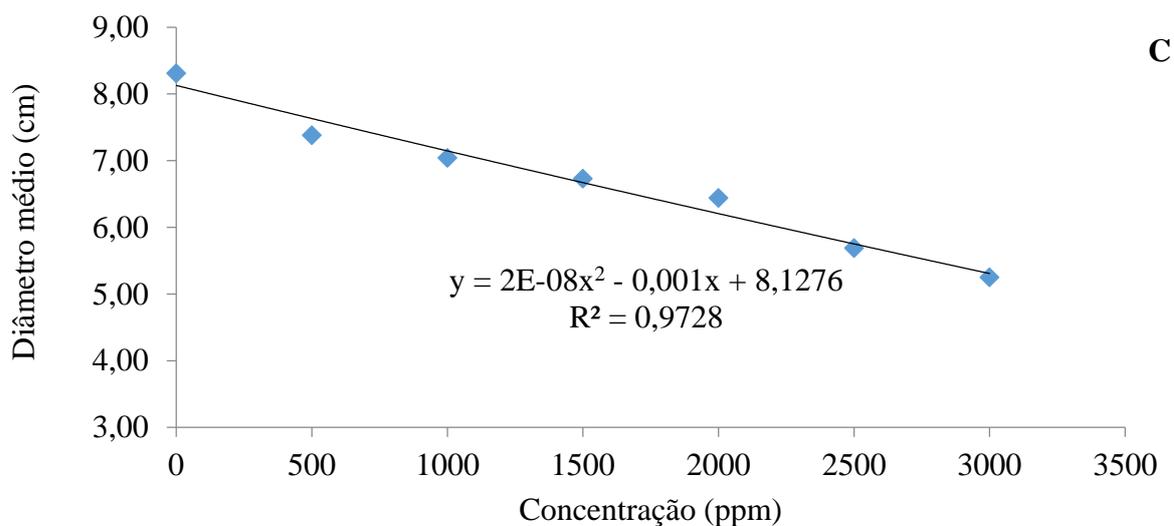
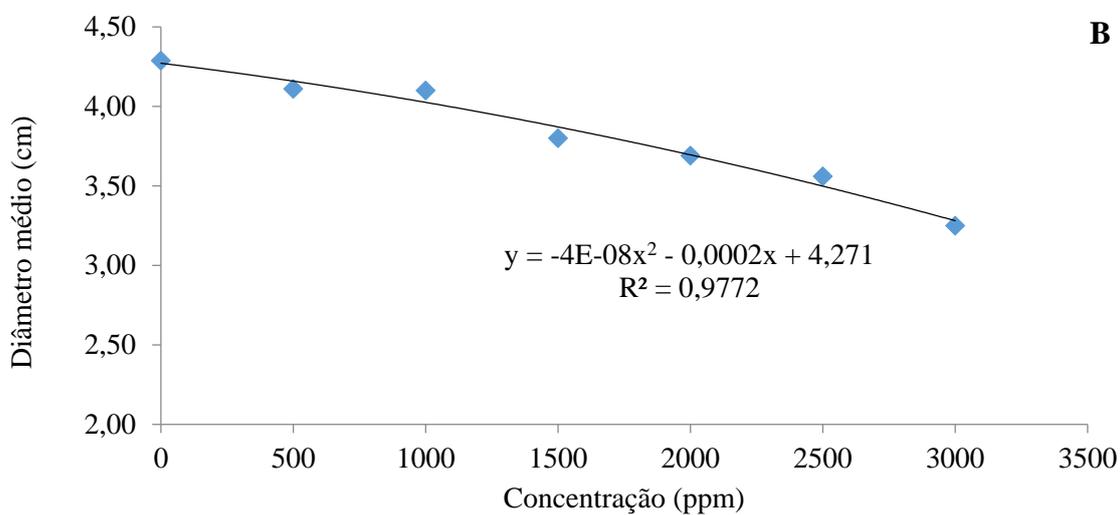
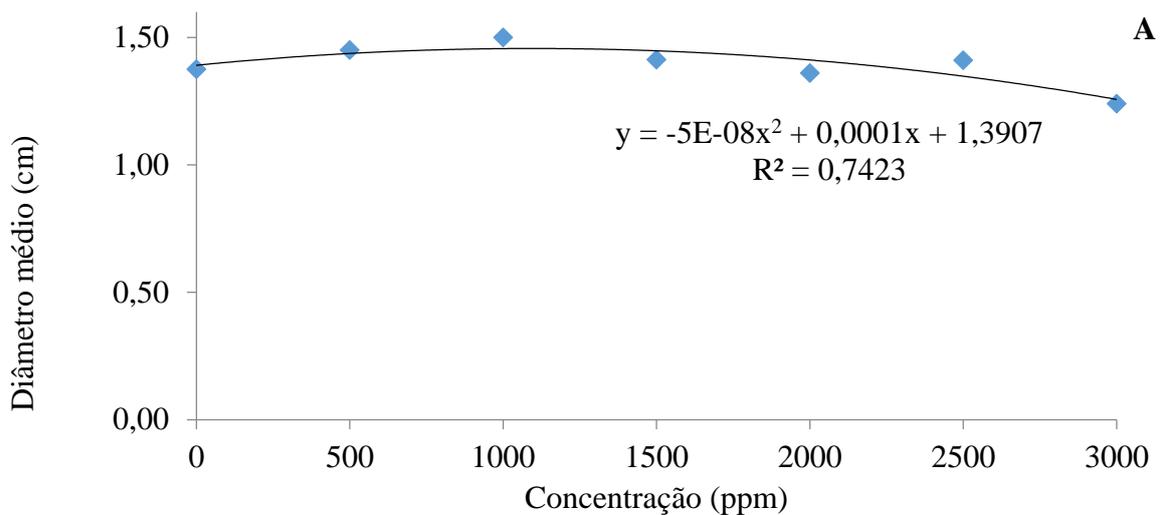


FIGURA 3. Crescimento micelial do *Ganoderma* sp. sob diferentes concentrações do fosfito de potássio em meio BDA. A: primeira avaliação (2º dia); B: segunda avaliação (4º dia) C: terceira avaliação (6º dia).

No quarto dia (segunda avaliação), já foi possível perceber que o fosfito apresentou um efeito inibitório ao *Ganoderma* sp., de maneira que a menor concentração (500 ppm) possibilitou um percentual de inibição de 4,1% e a maior concentração (3000 ppm) um percentual de 24,2%, em relação à testemunha (0 ppm) (Tabela 1).

Tabela 1. Porcentagem de inibição *in vitro* do *Ganoderma* sp. em meio de cultura BDA sobre diferentes concentrações de potássio de fosfito.

Doses de fosfito de potássio (ppm)	% de inibição		
	2° dia	4° dia	6° dia
0	0,00	0,00	0,00
500	-5,5	4,1	11,3
1000	-9,1	4,4	15,3
1500	-2,7	11,4	19,1
2000	0,9	14,0	22,6
2500	-2,7	16,9	31,6
3000	10,0	24,2	36,8

$$\%I = (C-T) / C \times 100$$

%I = percentual de inibição

C = diâmetro médio do crescimento micelial da testemunha;

T = diâmetro médio do crescimento micelial do tratamento.

O percentual de inibição do fungo chegou a 36,8% na maior concentração testada (3000 ppm) do fosfito de potássio, no 6° dia de avaliação (Tabela 1).

Em estudo realizado por Santos (2016), no qual avaliou-se o efeito *in vitro* do fosfito de potássio ao crescimento micelial do fungo *Neopestalotiopsis clavispora* responsável pela mancha foliar em macadâmia, o autor constatou que o efeito inibitório do produto ocorreu a partir da concentração de 100 ppm. A partir daí observou-se uma maior inibição com o aumento na concentração do fosfito, até a concentração de 500 ppm. Houve inibição de 17% do crescimento micelial do fungo, na concentração de 10 ppm e acima de 50% a partir da concentração de 250 ppm.

Nesta mesma linha, Rocha Sobrinho (2015) verificou que o crescimento micelial de *Fusarium solani* do maracujazeiro submetido a diferentes concentrações do fosfito de potássio, foi inibido a partir da concentração de 10 ppm. O autor observou um percentual de inibição do crescimento micelial deste fungo de 84,3% na dosagem de 500 ppm do fosfito de potássio e de 91,5% na concentração de 1000 ppm do mesmo produto.

Em teste *in vitro* sobre a inibição do fungo *Colletotrichum lindemuthianum* submetido a diferentes dosagens de fosfito de potássio, Caixeta et al. (2012) constataram que os menores

diâmetros das colônias deste fungo estavam relacionados às maiores concentrações do produto. Além disto, a velocidade de crescimento micelial dos isolados foi reduzida em função do tempo de incubação.

Portanto, evidencia-se um efeito do produto atuando sobre o crescimento micelial do patógeno nas concentrações testadas, tendendo ao aumento da inibição do seu crescimento a partir do aumento das concentrações do fosfito.

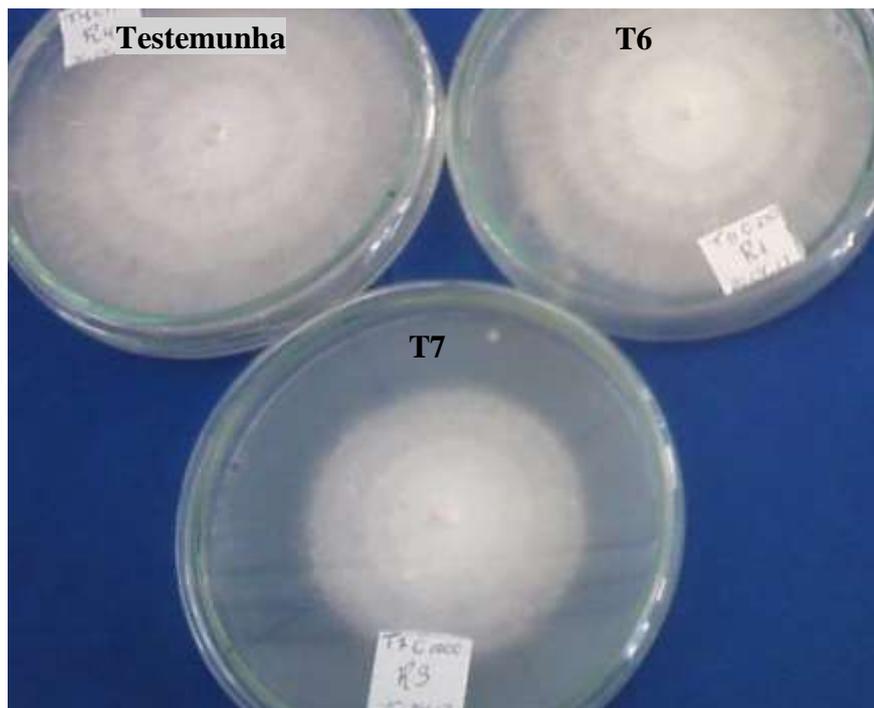


FIGURA 4. Colônia do *Ganoderma* sp. nas concentrações de 0 ppm (Testemunha), 2500 ppm (T6) e 3000 ppm (T7) do fosfito de potássio em meio BDA, após sete dias de incubação em câmara BOD.

As placas de Petri contendo as colônias fúngicas, apresentadas na figura 4, elucidam o comportamento do *Ganoderma* sp. sob o efeito do fosfito de potássio, após sete dias de inoculação. Assim, é possível perceber o contraste do diâmetro da colônia fúngica submetida ao tratamento de maior concentração (3000 ppm) ao da testemunha (0 ppm).

A partir dos resultados obtidos no trabalho de Töfoli, Mello e Domingues (2012), os autores ressaltaram sobre a eficácia do uso de fosfito de potássio no controle de *Phytophthora infestans* quando da baixa infestação desse fungo, ou ainda para aumentar a eficiência em sistemas de controle integrados com fungicidas.

Marcuzzo et al. (2016), avaliando o efeito de fosfito de potássio e de fungicidas no controle da cercosporiose (*Cercospora beticola*) da beterraba, puderam verificar que o uso isolado de fosfito de potássio tem a mesma eficiência de controle de alguns fungicidas no controle dessa doença.

4.2 Inibição do crescimento micelial de *Ganoderma* sp. utilizando-se *Bacillus subtilis*

A bactéria *Bacillus subtilis* apresentou ação antagônica sobre o *Ganoderma* sp. (Figura 5). Observa-se na Tabela 1 que o efeito da bactéria ao crescimento micelial do fungo *Ganoderma* sp. foi significativo a partir do segundo dia de avaliação.

TABELA 2. Efeito do *Bacillus subtilis* ao crescimento micelial (cm) de *Ganoderma* sp. durante os quatro dias de incubação

Tratamento	Diâmetro médio (cm) de colônias de <i>Ganoderma</i> sp. ao longo de quatro dias de avaliação			
	1°	2°	3°	4°
com <i>B. subtilis</i>	2,97	4,27*	5,65*	6,67*
Testemunha	3,08	4,92	7,07	9,00

* significativo a 1% de probabilidade.

No 1° dia de avaliação, os diâmetros dos tratamentos com e sem o *Bacillus subtilis* não apresentaram diferença significativa. Porém, a partir da segunda avaliação já foi possível perceber um efeito da bactéria afetando o crescimento micelial do *Ganoderma* sp. (Tabela 2). Estes resultados evidenciam que o *B. subtilis* apresenta um efeito fungitóxico ao *Ganoderma* sp.

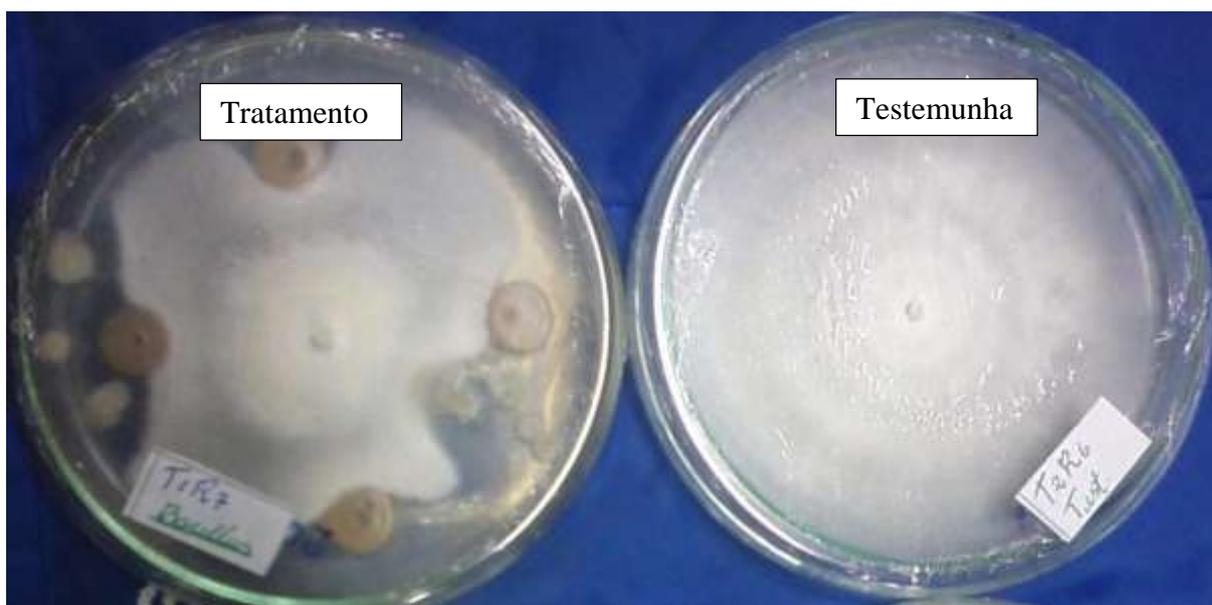


FIGURA 5. Colônias do *Ganoderma* sp. em meio de cultura BDA com *B. subtilis* (Tratamento) e sem (Testemunha), após quatro dias de incubação em câmara BOD.

A Tabela 3 apresenta os valores, em percentual, da ação antagônica do *B. subtilis* à colônia de *Ganoderma* sp. Nota-se que essa ação foi mais pronunciada no terceiro e quarto dias de avaliação, com inibição de aproximadamente 20 e 26%, respectivamente. Por outro lado, nas duas primeiras avaliações a média do diâmetro do tratamento foi aproximada à da testemunha.

Maciel et al. (2014), estudando o efeito antagônico *in vitro* de *B. subtilis* sobre o *Fusarium sambucinum* em *Pinus elliottii*, observaram que a o patógeno cresceu até as primeiras 48 h de incubação com uma média aproximada com a da testemunha, porém, quando as estruturas da colônia do fungo aproximavam-se do agente antagônico, o crescimento micelial do patógeno era interrompido. Isto foi evidenciado pela formação de halo de inibição entre o patógeno e o antagonista.

Alexander e Chong (2014) mostraram que a combinação *Bacillus* spp. e *Trichoderma* spp. foi a mais efetiva no controle da colonização de *Bacillus* spp. e *Trichoderma* spp. foi efetiva no controle da colonização de *Ganoderma*.

Tabela 3. Porcentagens de inibição *in vitro* do *Ganoderma* sp., pareado com *Bacillus subtilis*, em relação à testemunha, respectivos aos quatro dias avaliados

Dias	Inibição (%)
1°	3,57
2°	13,21
3°	20,08
4°	25,89

$$\%I = (C-T) / C \times 100$$

%I = percentual de inibição

C = diâmetro médio do crescimento micelial da testemunha;

T = diâmetro médio do crescimento micelial do tratamento.

A ação antagônica do *B. subtilis* pode ser explicada pelo mecanismo por meio do qual essa bactéria atua, em condição “*in vitro*”, o qual está relacionado com a capacidade desse microrganismo em produzir metabólitos como iturina A e surfactina, capazes de agir na inibição do crescimento micelial do fungo (ASAKA; SHODA, 1996).

Efeito fungitóxico de *Bacillus* também foi observado por Remuska e Pria (2007) em que as autoras puderam verificar que *B. thuringiensis* apresentou efeito antagônico aos fungos *Monilinia fructicola*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium solani* e *Sclerotium rolfsii*.

Por isso, torna-se evidente o papel das empresas que apresentam interesse em produzir e comercializar bioprodutos, de forma a atender o tripé da sustentabilidade e também da sociedade, em aderir produtos à base de microrganismos com vistas a racionalizar cada vez mais a maneira de se fazer agricultura.

5 Conclusão

O fosfito de potássio e a bactéria *Bacillus subtilis* apresentaram efeito de inibição do crescimento micelial do *Ganoderma* sp. em condição *in vitro*.

6 Referência bibliográfica

- AGRIOS, G.N. Introduction. In: AGRIOS, G.N. **Plant pathology**. 4th ed. San Diego: Academic Press, 1997. p.3-41.
- ALEXANDER A, CHONG K. P. Combination of biological agents in suppressing colonization of *Ganoderma boninense* of basal stem rot. **Am Eur J Sust Agri** v. 8 p.1–7 2014.
- ARRAS, G. ARRU, S. Mechanism of action of some microbial antagonists against fungal pathogens. **Annali di Microbiologia ed Enzimologia**, Milan, v. 47, n.1, p. 97-120, jan. 1997.
- ASAKA, O; SHODA, M. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* Damping-Off of Tomato with *Bacillus subtilis* RB14. **Applied and environmental microbiology**, v.62, n.11, p.4081-4085, nov. 1996.
- AUER, C. G. **Doenças de árvores urbanas**. Colombo: EMBRAPA, 18 p. 1996 (Série documentos).
- AUER, C. G. **Doenças dos ipês: identificação e controle**. Colombo, PR: Embrapa Florestas (Embrapa Florestas. Documentos, 67). 2001. 16p.
- BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 1. 919 p.
- BINDER, M. et al. phylogenetic and phylogenomic overview of the polyporales. **Mycologia**, New York, v. 105, n. 6, p 1350 – 1373, Dec. 2013.
- BRUN, F. G. K.; MUNIZ, M. B. **DOENÇAS EM ÁRVORES E PLANTAS ORNAMENTAIS URBANAS**. UFSM. Departamento de Ciências Florestais. CENTRO DE PESQUISAS FLORESTAIS. 2006. 90p.
- CAIXETA, A. O.; VIEIRA, B. S.; CANEDO E. J. Efeito do fosfito de potássio sobre fungos fitopatogênicos do feijoeiro. **Revista do Centro Universitário de Patos de Minas**. Patos de Minas, UNIPAM, v. 3, p. 35-43, nov. 2012.
- CANO, R. J.; BORUCKI, M. K. Revival and Identification of Bacterial Spores in 25- to 40-Million-Year-Old Dominican Amber. **Science**, v.268, p. 1060-1064, mai. 1995.
- CANTERI, M. G.; ALTHAUS, R. A.; VIRGENS FILHO, J. S.; GIGLIOTI, E. A.; GODOY, C. V. SASM – Agri: Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scoft - Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, Ponta Grossa-PR, v.1, n.2, p. 18-24, dez. 2001.
- CHON, K. P.; DAYOU J.; ALEXANDER, A. **Detection and Control of *Ganoderma boninense* in Oil Palm Crop**. Springer International Publishing AG, 2017. 50p.
- COETZEE, M. P. A. et al. A single dominant *Ganoderma species* is responsible for root rot of *Acacia mangium* and *Eucalyptus* in Sumatra. **Southern Forests: a Journal of Forest Science**, v. 73, p. 3-4, jan. 2011.

COHEN, Y; COFFEY, M. D. Systemic fungicides and the control of oomycetes **Annual Review of Phytopathology**, v. 24, p 311-338, set. 1986.

CRUZ, K. S.; JESUS, M. A. Ocorrência de *Ganoderma* em áreas verdes da cidade de Manaus, AM. In: **I Congresso de Iniciação Científica PIBIC/CNPq - PAIC/FAPEAM**. Manaus, 2012.

DALIO, R. J. D. et al. O triplo modo de ação dos fosfitos em planta. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Passo Fundo: RAPP, v. 20, p. 206 – 242, 2012.

DE ANGELIS, B. L. D.; CASTRO, R. M.; DE ANGELIS NETO, G. Ocorrência do cancro de tronco em árvores de acompanhamento viário na cidade de Maringá, Paraná. **SBAU**. Piracicaba, v. 2, n.2, p. 31-45, 2007.

DELIOPOULUS, T. KETTLEWELL, P. S.; HARE, M.C. Fungal disease suppression by inorganic salts: a review. **Crop Protection**, Guildford, v. 29, n.10, p. 1059 – 1075, 2010.

DILL, I., KRAEPELIN, G. Palo Podrido: model for extensive delignification of wood by *Ganoderma applanatum*. **Appl. Environ. Microbiol**, v. 52, n. 6, p.1305-1312, dez. 1986.

FERNANDO, K.M.E.P. The host preference of a *Ganoderma lucidum* strain for three tree species of Fabaceae family; *Cassia nodosa*, *Cassia fistula* and *Delonix regia*. **Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka**, Sri Lanka, v. 36, n. 4, p 323 – 326, July 2008.

FERREIRA, J.H.S., MATTHEE, F.N; THOMAS, A.C. Biological control of *Eutypa lata* on grapevine by an antagonistic strain of *Bacillus subtilis*. **Phytopathology**, v. 81, p. 283-287, may. 1991.

GUEST, D.; GRANT, B. The complex action of phosphonates as antifungal agentes. **Biological. Review**, v. 66, n. 2, p. 159-187, may. 1991.

HAMMAMI, I et al. Optimization and biochemical characterization of a bacteriocin from a newly isolated *Bacillus subtilis* strain 14B for biocontrol of *Agrobacterium* spp. strains. **Letters in Applied Microbiology**, v.48, n. 2, p. 253 - 260, fev. 2009.

HASAN, Y.; FLOOD, J. Colonization of rubber wood and oil palm blocks by monokaryons and dikaryons of *Ganoderma boninense* - implications to infection in the field. **The Planter**, Kuala Lumpur, v, 79, n. 922, p. 31 - 38, 2003.

JO, WS et al. Culture conditions for the mycelial growth of *Ganoderma* sp. **Mycobiology**, v. 37, n. 2, p94–102, 2009.

KUPPER, K. C.; GIMENES-FERNANDES, N.; GOES, A. de. Controle biológico de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da queda prematura dos frutos cítricos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p.251-257, mai./jun. 2003.

LANNA FILHO, R.; FERRO, H. M.; PINHO, R. S. C. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, Lavras, v. 4, n. 2, p. 12 - 20, jul. 2010.

LEELASUPHAKUL, W. et al. Growth inhibitory properties of *Bacillus subtilis* strains and their metabolites against the green mold pathogen (*Penicillium digitatum* Sacc.) of citrus fruit. **Postharvest. Biology and Technology**, v.48, n. 2, p.113-121, abr. 2008.

LIMA, M. I. P. M; SOUZA, A. G. C. **Diagnose das principais doenças do cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) Schum.) e seu controle**. Manaus, AM: EMBRAPA-CPAA, 1998. 18p (Documentos, 9).

LIPPERT, D. B; LAZAROTTO, M.; MUNIZ, M. F. B.; DOS SANTOS, A. F. Primeiro relato de *Prospodium bicolor* em ipê-roxo (*Handroanthus heptaphyllus*) no estado do Rio Grande do Sul. **Summa Phytopathol.** Botucatu, v. 39, n. 3, p. 214, jul. 2013.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 3. ed.Vol. 1. Nova Odessa/SP: Instituto Plantarum, 2000. 352p.

MACIEL, C. G. et al. Antagonismo de *Trichoderma* spp. e *Bacillus subtilis* (UFV3918) a *Fusarium sambucium* em *Pinus elliottii* Engelin. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 38, p. 505-512, mai/jun. 2014.

MARCHIONATTO, J. B. Directivas en la lucha contra las enfermedades de las plantas. **Rev. Argent. Agron.**, v. 16, p, 29-32, 1949.

MARCUZZO, L. L., DUARTE, T. D. S., ROSA NETO, A. J., & HOFFMANN, F. Efeito de fosfito de potássio e de fungicidas no controle da cercosporiose (*Cercospora beticola*) da beterraba. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.42 n.2, p.186-187, abr./jun. 2016.

MENDES, M. A. S.; URBEN, A. F.; Fungos relatados em plantas no Brasil, Laboratório de Quarentena Vegetal. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2010. Disponível em: <http://pragawall.cenargen.embrapa.br/aiqweb/michtml/fgbanco01.asp>. Acesso em 30 abr 2018.

MEREDITH, D.S. Significance of spore release and dispersal mechanisms in plant disease epidemiology. **Annu. Rev. Phytopathol**, Honolulu, v. 11, 313-342, set. 1973.

MILLER, J. S. et al. Postharvest applications of zoxamide and phosphate for controlo of patato fiber rots caused by oomycetes at harvest. **American Journal of Potato Research**, Orono, v. 83, p. 405-411, jan. 2006.

OLIVEIRA, J. T. S.; SOUZA, L. C. S.; DELLA LUCIA, R. M.; SOUZA JÚNIOR, W. P. Influência dos extrativos na resistência ao apodrecimento de seis espécies de madeira, **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.29, n.5, p.819-826, set./out. 2005

ONGENA, M et al. *Bacillus subtilis* M4 decreases plant susceptibility towards fungal pathogens by increasing host resistance associated with differential gene expression. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.67, p. 692-698, jun. 2005.

PEREIRA, V. F. et al. Fosfito de potássio no controle do míldio da videira e características físico-químicas de uvas Merlot. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.47, n.11, p.1581-1588, nov. 2012.

REES, R. W. et al. Effects of inoculum potential, shading and soil temperature pathogen *Ganoderma boninense* root infection of oil palm seedlings by the basal stem rot. **Plant Pathology**, v. 56, p. 862–870, jun. 2007.

RIBEIRO, R; SEI, F. B.; LEITE, M. S. *Bacillus subtilis*: agente de controle biológico e promotor de crescimento em plantas. **Jornal Dia de Campo**. 2011. Disponível em: <<http://www.diadecampo.com.br/zpublisher/materias/Materia.asp?id=24104&secao=Colunas%20e%20Artigos#null>>. Acesso em: 04 jun. 2017.

ROCHA SOBRINHO, G. G. **Epidemiologia comparativa de viroses e efeito de fosfito de potássio no crescimento do *Fusarium solani* do maracujazeiro**. UESB, 2015, 65 p. Dissertação (Mestrado em fitotecnia) Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

ROMA, R. C. C. **Fosfito de potássio no controle de doenças pós-colheita em bagas de uva 'ítália' e possíveis mecanismos de ação à *Rhizopus stolonifer***. Piracicaba, SP: ESALQ/USP, 2013, 94 f. Tese (Doutorado em ciências). – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2013.

RYU, C. M et al. Bacterial Volatiles Induce Systemic Resistance in Arabidopsis. **Plant Physiology**, v.134, p.1017-1026, mar. 2004.

SADYS´, M., SKJØTH, C. A., & KENNEDY, R. Back-trajectories show export of airborne fungal spores (*Ganoderma* sp.) from forests to agricultural and urban areas in England. **Atmospheric Environment**, Amsterdam, v. 84, p. 88-99, fev. 2014.

SANTOS, C. C. **Caracterização morfológica, molecular e inibição do crescimento micelial, pelo fosfito de potássio, do agente causal da mancha foliar da *Macadamia integrifolia* Maiden e Betche**, 2016, 46 p. Dissertação (Ciências Florestais) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2016.

SESARTIC, A.; DALLAFIOR, T.N. Global fungal spore emissions, review and synthesis of literature data. **Biogeosciences**, v. 8, p1181-1192, mai. 2011.

SILVA, B. N. S. **Seleção de fungos apodrecedores de madeira e caracterização de basidiomicetos associados à podridão de tecidos de árvores vivas**. Lavras, MG: UFLA, 2014. 91 f. Dissertação (Patologia Florestal). Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2014.

SOLOGUREN, F. J; JULIATTI, F. C. Doenças fúngicas em plantas ornamentais em Uberlândia-MG. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 23, n. 2, p. 42-52, abr./jun. 2007.

SURYANTO, D.; WIBOWO R. H, SIREGAR, E. B.; MUNIR, E. A possibility of chitinolytic bacteria utilization to control basal stem disease caused by *Ganoderma boninense* in oil palm seedling. **Afr J Microbiol Res**, v. 69, p. 2053–2059, mar. 2012.

SÔNIGO, O. R. et al. **Recomendações para o manejo das doenças fúngicas e das pragas da videira**. Bento Gonçalves: EMBRAPA uva e vinho, 2002, 12 p. (Circular técnica, 39).

TÖFOLI, J. G.; MELLO, S. C.; DOMINGUES, R. J. Efeito do fosfito de potássio isolado e em mistura com fungicidas no controle da requeima do tomateiro. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 79, n. 2, p. 201-208, abr./jun. 2012.

WHETZEL, H. H. The terminology of phytopathology. **Proc. Int. Congr. Plant sciences**, v. 2: 1204-1215, 1929

YAO, A et al. *Bacillus subtilis* as a biofertilizer on cotton yields in field tests. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v.39, p.323-328, jan. 2006.

ZAIM, S.; BEKKAR, A. A.; BELABID, L. Efficacy of *Bacillus subtilis* and *Trichoderma harzianum* combination on chickpea Fusarium wilt caused by *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 51, p. 217-226, mar. 2018.