



**CONTROLE DA SARNA COMUM DA BATATA
POR MICRORGANISMOS ANTAGÔNICOS**

JOHN SILVA PORTO

2019

JOHN SILVA PORTO

**CONTROLE DA SARNA COMUM DA BATATA POR
MICROORGANISMOS ANTAGÔNICOS**

Tese apresentada à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fitotecnia, para obtenção do título de “Doutor”.

Orientadora:
Tiyoko Nair Hojo Rebouças

VITÓRIA DA CONQUISTA
BAHIA - BRASIL
2019

P882c Porto, John Silva.

Controle da sarna comum da batata por microrganismos antagônicos. / John Silva Porto, 2019.

76f.

Orientador (a): D. Sc. Tiyoko Nair Hojo Rebouças.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia,

Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Área de concentração

Fitotecnia, Vitória da Conquista, 2019.

Inclui referência F. 64 – 72.

1. *Solanum tuberosum* L. 2. *Streptomyces* sp. 3.

Trichoderma spp. 4. *Bacillus subtilis*. 5. Biocontrole. I. Rebouças, Tiyoko Nair Hojo. II. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia Área de concentração Fitotecnia. III. T.

CDD 635.2189

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
Área de Concentração em Fitotecnia


Campus de Vitória da Conquista - BA

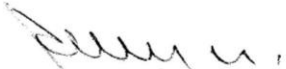
DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

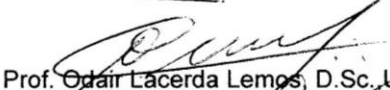
Título: “Controle da Sarna Comum da Batata por Microrganismos Antagônicos”

Autor: John Silva Porto


Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM AGRONOMIA, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM FITOTECNIA, pela Banca Examinadora:


Prof.^a Tiyoko Nair Hojo Rebouças, D.Sc., UESB
(Presidente)


Prof. Abel Rebouças São José, D.Sc., UESB


Prof. Odair Lacerda Lemos, D.Sc., UESB


Prof. José Magno Queiroz Luz, D.Sc., UFU/CIAG


Prof. José Rafael de Souza, D.Sc., FAAHF

Data de realização: 08 de abril de 2019.

Estrada do Bem Querer, Km 4 – Caixa Postal 95 – Telefone: (77) 3425-9383
Vitória da Conquista – BA – CEP: 45031-900

A Deus;
Aos meus pais, João e Cleci.
A todos que até aqui contribuíram
em minha formação profissional e
pessoal.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Toda honra e glória seja dada a Deus, pois tudo foi segundo o seu plano e propósito. “Porque dele e por ele, e para ele, são todas as coisas; glória, pois, a ele eternamente. Amém” (Romanos 11:36).

À minha família, pela compreensão e apoio incondicional nesta etapa;

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), pela contribuição na minha formação acadêmica;

À coordenação, às secretárias e aos professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio por meio da concessão da bolsa de doutorado;

A Prof^ª. Dr^ª Tiyoko Nair Hojo Rebouças, Prof. Dr. Abel Rebouças São José e Prof. Dr. Alcebíades Rebouças São José, pelas orientações, contribuições e incentivo;

À Associação Brasileira dos Batata (ABBA), às empresas diretamente envolvidas com execução do projeto (Altech Cropsciense, FMC agrícola e Biofungi defensivos biológicos), e aos produtores de batata da Chapada Diamantina, que cederam suas áreas como campos experimentais;

À Prof^ª Dr^ª Suzete Aparecida Lanza Destefano e sua equipe de pesquisa do Laboratório de Bacteriologia Vegetal do Instituto Biológico de Campinas, pela consultoria e suporte dado na manipulação de bactérias do gênero *Streptomyces*;

À Alma Adela Lira Vargas, pelos ensinamentos em técnicas laboratoriais em fitopatologia;

Aos colegas do Programa de Pós-Graduação em Agronomia;

A todos os colegas e amigos de laboratório - Ana Paula Prado Barreto Públio, Everardes Públio Junior, Denis Pereira Ribeiro, José Rafael de Souza, Talitta Santos Paiva, Ednaldo da Silva Dantas, Alex Barbosa Mafessoni, Rosane Mendonça do Nascimento, Bismark Lopes Bahia, Jonilson Santos Carvalho, Adriana de Abreu Silva, Pedro Rocha Marques, Hellen Thallyta Alves e Mendes pela amizade;

Em especial, aos amigos Ivan Vilas Boas Souza, Jailson Silva de Jesus, Cintia Sousa, Lorena Andrade, Jamire de Jesus, Jecilene de Jesus, Diego de Jesus, pelo

companheirismo e apoio desde o mestrado;

À banca examinadora, que enriqueceu este trabalho com seus conhecimentos e experiências;

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para o êxito desta pesquisa.

RESUMO

PORTO, J. S. **Controle da sarna comum da batata por microrganismos antagônicos**. Vitória da Conquista, BA: UESB, 2019. 68p. (Tese-Doutorado em Agronomia, Área de Concentração em Fitotecnia)*

A produção de batata se configura como uma importante atividade econômica em várias regiões brasileiras, com significativos ingressos financeiros, contribuindo para estabilização social no meio rural. A batateira (*Solanum tuberosum* L.) é uma das espécies cultivadas mais acometidas por enfermidades em ambientes tropicais, sendo a sarna comum da batata um problema comum em todo mundo, que lesiona o tubérculo em fase de formação e enchimento. A sarna comum, causada por bactérias fitopatogênicas do gênero *Streptomyces*, é uma doença bastante estudada, no entanto, ainda não se entende completamente a natureza da interação entre o fitopatógeno e hospedeiro, por consequência, as estratégias de controle utilizadas apresentam baixa eficiência. Todavia, o controle biológico tem se mostrado eficaz no controle de outros fitopatógenos em diversas culturas e, diante desse argumento, o objetivo do trabalho foi avaliar a ação de microrganismos benéficos no controle de *Streptomyces* sp. que causam a sarna comum da batata *in vitro*, *in vivo* e *in locu*. Para verificar o efeito do controle biológico sobre *Streptomyces*, foi realizado um ensaio *in vitro* no qual se testou o pareamento direto e a antibiose por metabólitos voláteis e não voláteis, utilizando o *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus subtilis* + *Enterococcus faecium*, *Bacillus subtilis* + *Trichoderma longibrachiatum* contra *Streptomyces* sp. Em seguida, foi realizado o ensaio *in vivo*, utilizando *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* + *Enterococcus faecium*, *Bacillus subtilis* + *Trichoderma longibrachiatum*, e avaliando os níveis de severidade em tubérculos de batata. Por último, foram realizados dois experimentos em campo, sendo o primeiro testando a dois tipos de cobertura de solo (ervilhaca e capim Brachiária) e os microrganismos *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* + *Enterococcus faecium*, *Bacillus subtilis* + *Trichoderma longibrachiatum*. O segundo experimento somente o *Trichoderma longibrachiatum* e *Trichoderma harzianum* foram testados, avaliando os níveis de controle de sarna da batata. Os resultados do teste *in vitro* apontam para maiores níveis de antagonismo ocasionado pelo *Trichoderma harzianum* junto com o *Trichoderma longibrachiatum* no pareamento direto; já no teste de antibiose por metabólitos voláteis, o *Bacillus subtilis* obteve o maior nível de antagonismo, contudo, os *Trichoderma* spp. obtiveram maior êxito na antibiose por metabólitos não voláteis. No ensaio *in vivo*, os *Trichoderma*, juntamente com o *Bacillus subtilis* + *Enterococcus faecium*, obtiveram melhores resultados com

*Orientadora: Tiyoko Nair Hojo Rebouças, D. Sc., UESB.

relação à severidade da sarna. No primeiro experimento *in locu*, somente a ervilhaca mostrou efeito sobre a severidade e perdas por sarna comum, entretanto, no segundo experimento, foi verificado efeito do *Trichoderma longibrachiatum* sobre a severidade e perdas de produção por sarna da batata. Portanto, o controle biológico da sarna da batata por *Trichoderma* spp. mostra ser uma alternativa viável para controle da doença.

Palavras-chave: *Solanum tuberosum* L.; *Streptomyces* sp.; *Trichoderma* spp.; *Bacillus subtilis*; biocontrole.

ABSTRACT

PORTO, J. S. **Common potato scab Control by antagonistic microorganisms.** Vitória da Conquista, BA: UESB, 2019. 68p. (Thesis – Doctor degree in Agronomy, Concentration Area Fitotecnia)*

Potato production is a several economic activity in Brazilian regions, with financial increase, contributing to social stabilization in rural areas. Potato (*Solanum tuberosum* L.) is one crop of the most affected by diseases in tropical environments, being common potato scab a problem in worldwide that tuber injures in forming and filling phase. Common scabies have the phytopathogenics species *Streptomyces* is a enough studied bacterium; however, the interaction between the phytopathogen and the host not yet understood, beyond presented low efficiency control. Yet, the biological control has been effective in the control of other phytopathogens in several cultures and based on this argument, the aim this work have been available an action of beneficial microorganisms in the production of potato tubers and control of *Streptomyces* sp. phytopathogenic *in vitro*, *in vivo* and *in locu* that cause a common potato scab. To verify the effect of biological control on *Streptomyces in vitro* assay was used to test direct antagonism and antibiosis by volatile and non-volatile using *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus subtilis* + *Enterococcus faecium*, *Bacillus subtilis* + *Trichoderma longibrachiatum* against *Streptomyces* sp. The use *in vivo* assay of *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* + *Enterococcus faecium*, *Bacillus subtilis* + *Trichoderma longibrachiatum* was evaluated to severity levels in potato tubers. Finally, the two field trials were done, the first to test the vetch as a soil cover and the microorganisms *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* + *Enterococcus faecium*, *Bacillus subtilis* + *Trichoderma longibrachiatum*. The second experiment tested only the *Trichoderma longibrachiatum* and the *Trichoderma harzianum* evaluating the levels of losses of production per year. The results of *in vitro* test are indicated for the higher levels of antagonism caused by *Trichoderma harzianum* with *Trichoderma longibrachiatum* in direct pairing. Already antibiosis test by volatile metabolites of *Bacillus subtilis* had higher antagonism level, however *Trichoderma* spp. obtained higher antibiosis response by non-volatile metabolites. In the *in vivo* assay *Trichoderma* together with *Bacillus subtilis* + *Enterococcus faecium* obtained results on the severity of scabies. In the first experiment *in loco* only to vetch showed some effect on severity and production

* Adviser: Tiyoko Nair Hojo Rebouças, D. Sc., UESB

losses by common scab, yet in the second experiment showed major effect of *Trichoderma longibrachiatum* on the severity and loss of the production of common potato scab. For the biological control of potato by *Trichoderma* spp. can be an alternative to being seen for disease control.

Keywords: *Solanum tuberosum* L.; *Streptomyces* sp.; *Trichoderma* spp.; *Bacillus subtilis*; biocontrol.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Resultados do teste bioquímico da <i>Streptomyces</i> isolada a partir de lesões de tubérculos de batata. Vitória da Conquista-BA, 2019.....	40
Tabela 2 – Inibição de microrganismos antagonísticos por pareamento direto à <i>Streptomyces</i> sp. após as 96h de incubação. Vitória da Conquista-BA, 2019.....	43
Tabela 3 – Inibição de microrganismos antagonísticos por metabólitos voláteis à <i>Streptomyces</i> sp. após as 96h de incubação. Vitória da Conquista-BA, 2019.....	44
Tabela 4 – Inibição de microrganismos antagonísticos por metabólitos não voláteis à <i>Streptomyces</i> sp. após as 96h de incubação. Vitória da Conquista-BA, 2019..	45
Tabela 5 – Número de tubérculos lesionados por sarna comum da batata em função da aplicação dos microrganismos. Vitória da Conquista-BA, 2019.....	46
Tabela 6 – Área lesionada por sarna comum da batata em função da aplicação dos microrganismos. Vitória da Conquista-BA, 2019.....	47
Tabela 7 – Índice de Severidade da sarna comum da batata em função da aplicação dos microrganismos. Vitória da Conquista-BA, 2019.....	48
Tabela 8 – Perdas por sarna comum da batata em função da aplicação dos microrganismos. Vitória da Conquista-BA, 2019.	49
Tabela 9 – Número de tubérculos de batata lesionados por sarna em função de microrganismos antagonísticos e cobertura de solo. Vitória da Conquista-BA, 2019.	50
Tabela 10 – Área lesionada por sarna dos tubérculos de batata em função de microrganismos antagonísticos e cobertura de solo. Vitória da Conquista-BA, 2019.	52
Tabela 11 – Índice de severidade da sarna nos tubérculos de batata em função de microrganismos antagonísticos e cobertura de solo. Vitória da Conquista-BA, 2019.	52
Tabela 12 – Perdas de produção de tubérculos por sarna da batata em função de microrganismos antagonísticos e cobertura de solo. Vitória da Conquista-BA, 2019.	53

Tabela 13 – Produção de tubérculo de batata em função de microrganismos antagônicos. Vitória da Conquista – BA, 2019.	54
Tabela 14 – Análise química de solo das faixas de área do primeiro antagonico. Vitória da Conquista-BA, 2019.	55
Tabela 15 – Número de tubérculos lesionados de batata em função de <i>Trichoderma</i> . Vitória da Conquista-BA, 2019.	56
Tabela 16 – Área da lesão em tubérculo de batata em função de <i>Trichoderma</i> . Vitória da Conquista-BA, 2019.	57
Tabela 17 – Índice de severidade de tubérculo de batata em função de <i>Trichoderma</i> . Vitória da Conquista-BA, 2019.	57
Tabela 18 – Perdas de produção de batata em função de <i>Trichoderma</i> . Vitória da Conquista-BA, 2019.	58
Tabela 19 – Produção de tubérculo de batata em função de <i>Trichoderma</i> . Vitória da Conquista-BA, 2019.	58

TABELA DE FIGURAS

Figura 1 - Pareamento direto de microrganismo antagonico a <i>Streptomyces</i> sp. Seta no centro da placa aponta o disco de meio de cultura contendo o microrganismo antagonico já semeado com a bactéria fitopatogênica. Vitória da Conquista – BA, 2019.	32
Figura 2 – Pareamento por metabólitos voláteis. Vitória da Conquista – BA, 2019.	33
Figura 3 – Pareamento por metabólitos voláteis. Vitória da Conquista – BA, 2019.	34
Figura 4 – Isolamento e caracterização morfológica da <i>Streptomyces</i> sp. (a) Colônia bacteriana; (b) Controle; (c) Teste de patogenicidade; (d) Micromorfologia de hifas; (e) Coloração de esporos; e (f) Coloração do pigmento da colônia. Vitória da Conquista-BA, 2019.	39
Figura 5 – Crescimento da colônia do antagonista durante o período de incubação sobre a <i>Streptomyces</i> sp. TL- <i>T. longibrachiatum</i> ; TH- <i>T. harzianum</i> ; PC- <i>P. chlamydosporia</i> ; BS- <i>B. subtilis</i> ; BSEF- <i>B. subtilis</i> + <i>E. faecium</i> ; BSTL- <i>B. subtilis</i> + <i>T. longibrachiatum</i> . Vitória da Conquista-BA, 2019.	41
Figura 6 – Antagonismo de TL - <i>T. longibrachiatum</i> ; TH - <i>T. harzianum</i> ; PC - <i>P. Chlamydosporia</i> ; BS - <i>B. subtilis</i> ; BSTL - <i>B. subtilis</i> + <i>T. longibrachiatum</i> ; BSEF - <i>B. subtilis</i> + <i>E. faecium</i> e Controle (sem microrganismo) sobre <i>Streptomyces</i> sp. durante as 96h de incubação. Vitória da Conquista-BA, 2019.	42
Figura 7 – Dados meteorológico de (A) Temperatura, (B) Umidade relativa, (C) Radiação e (D) Radiação da região de Mucugê-BA, no período de janeiro a abril de 2017. Vitória da Conquista-BA, 2019.	60

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	20
2.1 Aspectos alimentar, econômicos e técnicos da cultura batata	20
2.2 Sarna comum da batata	21
2.2.1 Sintomas da sarna comum	23
2.3 Controle da sarna comum	23
2.4 Controle biológico	25
2.5 <i>Trichoderma</i> spp.....	27
2.6 <i>Bacillus subtilis</i>	28
3 METODOLOGIA.....	30
3.1 Isolamento e identificação do fitopatógeno	30
3.2 Testes de antagonismo <i>in vitro</i>	31
3.2.1 Teste do pareamento direto	31
3.2.2 Teste de antibiose por metabólitos voláteis	32
3.2.3 Teste de antibiose por metabólitos não voláteis	33
3.3 Teste de antagonismo <i>in vivo</i>	35
3.4 Avaliação de produção, severidade e níveis de controle da sarna comum <i>in locu</i>	36
3.5 Análise estatística	37
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
4.1 Isolamento e identificação do fitopatógeno	39
4.2 Testes de antagonismo <i>in vitro</i>	41
4.3 Teste de antagonismo <i>in vivo</i>	46
4.4 Avaliação de produção, severidade e níveis de controle da sarna comum <i>in locu</i>	50

<i>4.4.1 Primeiro experimento</i>	50
<i>4.4.2 Segundo experimento</i>	56
5 CONCLUSÃO	63
REFERÊNCIAS	64
APÊNDICE.....	73

1 INTRODUÇÃO

A sarna da batata causada por espécies bacterianas fitopatogênicas do gênero *Streptomyces* é um dos principais problemas enfrentados por produtores de batatas no mundo (CORRÊA, 2015). Embora a doença não afete drasticamente o rendimento, torna os tubérculos não comercializáveis para batata de mesa e para processamento.

No Brasil, a doença está amplamente distribuída nas regiões produtoras, tornando-se um fator limitante no cultivo, respondendo por significativas perdas econômicas no setor de produção.

Na Bahia, a região produtora da Chapada Diamantina têm registrado perdas acima de 60% da produção batata, de modo que os produtores de batata dessa região têm declarado insistentemente a insustentabilidade da situação, visto que a produção de batata requer altos investimentos, por ser uma das culturas com custos de produção mais elevados no Brasil (R\$20 a 30 mil por hectare).

Prejuízos como esses podem acarretar não só em perdas econômicas, mas também em perdas sociais, uma vez que a produção de batata nessa região da Bahia é responsável por gerar muitos empregos, sendo, em muitos casos, a única fonte de sustento de muitas famílias, além de ser umas das principais atividades financeiras que movimenta a economia da região.

A incidência da sarna pode ser promovida por fatores como: predominância de espécies de *Streptomyces* spp. mais agressivas, uso de variedades de batata suscetíveis, disseminação por meio de batata semente contaminada, plantio contínuo em solos infestados, compactação do solo e a alteração da microbiota do solo, devido ao uso indiscriminado de defensivos agrícolas.

Contudo, diferentes estratégias de controle podem ser adotadas, a fim de reduzir a incidência ou severidade da sarna, contudo, na prática, tem-se mostrado ineficientes no controle da bactéria.

A utilização de agentes biológicos tem sido estudada e implementada como uma ferramenta alternativa ou auxiliar a diversos outros tipos de estratégias de controle fitossanitário. O controle biológico consiste na redução do inóculo ou atividade biológica do organismo fitopatológico com a presença natural, ou introduzida de um organismo competidor ou inibidor (TARIQ; YASMIN; HAFEEZ, 2010).

As vantagens da utilização de agentes biológicos antagonistas são: a redução do uso de defensivos químicos, contribuindo para maior sustentabilidade da área de produção; redução dos custos de produção; além de produzir e exsudar compostos que promovem o crescimento de plantas.

Recentemente, no Brasil, diversas biofábricas de microrganismos foram implantadas para produção de agentes de biocontrole, assim como algumas empresas da área de defensivos agrícolas têm aderido aos biológicos, incorporando-os ao seu portfólio de produtos. No entanto, essas ações se concretizam para aumentar a gama de soluções para a agricultura brasileira, potencializando os resultados, e, de nenhuma maneira, um único método de controle fitossanitário é capaz de solucionar ou amenizar o problema em sua totalidade.

Vários são os antagonistas utilizados no controle biológico, contudo, o *Bacillus* spp. e *Trichoderma* spp. são os mais estudados e utilizados no Brasil, por possuírem diversos mecanismos de biocontrole, conferindo-lhes a habilidade de superar as defesas do fitopatógeno.

As espécies de *Trichoderma* spp. e *Bacillus subtilis*, relatadas como agentes de biocontrole, são fungos e bactéria, respectivamente, mais utilizados para esse propósito e estão presentes em diversos tipos de ambientes. Esses microrganismos possuem crescimento principalmente sobre a matéria orgânica

do solo e ambientes úmidos com temperaturas mais elevadas (28 – 34°C), conferindo-lhes alta adaptabilidade em ambientes tropicais, além de possuir a capacidade produção de antibióticos.

Devido a essas habilidades de competição que os *Trichoderma* spp. e *Bacillus subtilis* possuem contra outros microrganismos, estes agentes de biocontrole poderiam exercer inibição do crescimento bacteriano e diminuição de sua atividade, resultando, assim, na redução dos danos causados por sarna nos tubérculos de batata.

Diante do contexto dessa explanação, o objetivo do trabalho foi avaliar a ação de microrganismos benéficos no controle de *Streptomyces* sp. que causam a sarna comum da batata *in vitro*, *in vivo* e *in locu*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos alimentar, econômicos e técnicos da cultura batata

A batata (*Solanum tuberosum* L.) é um dos alimentos mais importantes para alimentação humana, sendo excelente fonte de carboidratos, proteínas, sais minerais e compostos nutracêuticos (NICK; BORÉM, 2017). Em alguns países da Europa, constitui-se como base alimentar da população, sendo o terceiro alimento mais consumido no mundo, atrás apenas do arroz e do trigo (FAO, 2018).

A batata possui também grande significância econômica com egressos financeiros, podendo contribuir para a estabilização social do meio rural (PEREIRA; DANIELS, 2003). Para exemplificar a importância da batata, segundo dados levantados de 2001 a 2011, o comércio internacional de batata movimentou anualmente entre importações e exportações, valores entre 95 a 100 bilhões de dólares (FAO, 2018).

A contribuição do Brasil no mercado mundial é pequena, movimentando apenas \$25 milhões em 2016 (FAO, 2018). A Associação Brasileira da Batata – ABBA estima que o PIB movimentado pela cadeia produtiva da batata é 1,3 bilhões de dólares anuais. A produção nacional, em 2017, foi de 3,66 milhões de toneladas em área colhida de 118 mil ha (FAO, 2018). A produção brasileira não é tão expressiva quanto a europeia, sendo o Brasil o 20º produtor mundial de batata, sendo uma das hortaliças de maior importância econômica no país.

Nos últimos anos, a cadeia produtiva da batata brasileira tem ganhado importância, devido à inserção de indústrias de processamento de alimento nesse seguimento, e ao estímulo que se tem dado ao consumo através de produtos processados, como chips, palhas, palitos e féculas.

Na Bahia, a produção de batata está concentrada na região da Chapada

Diamantina, com 266,4 mil toneladas de tubérculos produzidos em 2017 (IBGE, 2017), sendo o sexto maior produtor brasileiro de batata, contudo, a região possui uma das maiores produtividades do Brasil, com médias de 50 mil toneladas por hectare.

Para atender às demandas da competitividade internacional da produção agrícola, a modernização e tecnificação, ocorrida no campo nas últimas décadas, também foi incorporada na bataticultura, que passou de uma cultura de pequena escala para assumir características empresariais, com avanços tecnológicos constantes e áreas extensas de cultivo.

A produção de batata requer o emprego de pacotes tecnológicos de ponta, dentre os quais elevado nível de mecanização e insumos modernos e mais eficientes. Contudo, a utilização de alta tecnologia durante o cultivo onera significativamente a produção de batata, tornando-a um dos maiores investimentos no setor agrícola. Portanto, equívoco no gerenciamento de algumas das etapas de produção pode causar sérios prejuízos econômicos, inviabilizando a atividade agrícola para o produtor.

Alguns dos problemas mais comuns da produção da batata estão relacionados ao manejo fitossanitário. De acordo com Filgueira (2008), a batata é uma das culturas oleráceas mais afetadas por fitopatógenos, sendo alvo de várias espécies de fungos, bactérias, vírus e nematoides, que ocasionam perdas econômicas.

No que diz respeito a essas doenças, a sarna comum tem provocado bastante preocupação nos produtores, sobretudo, pela dificuldade de controle. Os relatos sobre a ocorrência da sarna comum no Brasil têm aumentado nos últimos anos e, na Bahia, já é responsável por grandes prejuízos econômicos.

2.2 Sarna comum da batata

A sarna comum da batata, causada por espécies fitopatogênicas de

bactérias do gênero *Streptomyces*, é muito comum nas regiões produtoras do mundo e tem ameaçado essa atividade agrícola (CORRÊA, 2015).

Segundo Garcia (2008), espécies do gênero *Streptomyces* constituem-se um grupo distinto de bactérias, que possui características similares às dos fungos. Apesar da semelhança com os fungos, são classificados como bactérias Gram-positivas, procariotos filamentosos, com grande habilidade em produzir metabólitos secundários (RODRIGUES NETO; DÉSTEFANO; SHIMOYANA, 2008).

As cepas fitopatogênicas de *Streptomyces* podem colonizar e infeccionar tubérculos de batata, raízes de cenoura, beterraba e batata doce, causando lesões necróticas nesses órgãos de reserva (CORRÊA, 2015).

Os genes responsáveis pela patogenicidade e virulência da sarna comum estão em uma região do cromossomo, denominada *pathogenicity island* - PAI (WANNER, 2006). Essa região possui duas áreas distintas, designadas como *colonization region* – CR e *toxicogenic region* – TR.

A região CR contém os genes *tomA* e *nec1*, que codificam as proteínas tomatinase e *Nec1*, respectivamente, responsáveis pela entrada e evasão do microrganismo às defesas da planta. A TR inclui os genes *txtAB*, *txtC*, *txtE*, *txtR* e estão relacionados à síntese da fitotoxina taxtomina A (*AITTAMAA* e outros, 2010; LERAT; SIMAO-BEAUNOIR; BEAULIEU, 2009), responsável pela patogenicidade das linhagens, por induzir as lesões necróticas em tubérculos de batata (BABCOCK; ECKWALL; SCHOTTEL, 1993).

Streptomyces scabiei é uma bactéria com grande capacidade de sobrevivência saprofítica no solo, infectando, além da batata, outras olerícolas, como beterraba, cenoura, nabo, rabanete, repolho e salsa (DIAS; IAMUTI, 2005). Embora várias espécies de *Streptomyces* estejam associadas aos sintomas da sarna comum, *Streptomyces scabiei* é a mais relatada em diferentes regiões onde a batata é cultivada.

2.2.1 Sintomas da sarna comum

Os danos da sarna comum não estão diretamente relacionados à redução do potencial de produção da planta. As lesões nos tubérculos podem ser superficiais e, portanto, os tubérculos podem ser consumidos normalmente, porém, os prejuízos econômicos podem ser grandes, devido à depreciação comercial do produto (DIAS; IAMUTI, 2005).

No desenvolvimento das lesões, inicialmente, observa-se uma pequena elevação da cutícula, que, ao se intensificar, deixa a superfície áspera e suberificada, com lesões irregulares que podem coalescer. Nas lesões, que contém tecido suberificado, também estão as estruturas do patógeno (DIAS; IAMUTI, 2005). A profundidade das lesões varia de 1 a 5 mm, com coloração escura e rugosa, e diâmetro de até 2 centímetros (RODRIGUES NETO; DÉSTEFANO; SHIMOYANA, 2008).

Os sintomas dessa doença são muito variáveis em formato e profundidade, dependendo da estirpe bacteriana, da cultivar e das condições edafoclimáticas da área de cultivo, sendo mais comum aparecerem lesões superficiais corticosas, marrons ou avermelhadas, de aspecto úmido na periderme do tubérculo (LOPES e outros, 2011).

Com a colonização permanente do tubérculo pelo patógeno, pode-se distinguir tipos distintos de sarna, sendo a sarna profunda a mais encontrada no Brasil. Entretanto, outros tipos também ocorrem, como a sarna superficial, avermelhada superficial, estrela e reticulada (RODRIGUES NETO; DÉSTEFANO; SHIMOYANA, 2008).

2.3 Controle da sarna comum

A incidência da sarna é promovida por fatores como: predominância de espécies de *Streptomyces* mais agressivas, disseminação por meio de batata

semente contaminada, plantio contínuo em solos infestados, compactação do solo e a alteração da microbiota do solo, devido ao uso indiscriminado de fertilizantes e defensivos agrícolas (FISCHER e outros, 2009).

Embora não se conheça métodos de controle eficientes a essa doença, as ações para intervir devem ser executada de forma agregada para aumentar a eficácia do controle. Dentre as medidas, estão:

- A aquisição de sementes de batata isentas dessa doença, reduzindo diretamente a contaminação inicial da área pelo patógeno no início do desenvolvimento da cultura e evitando a sua introdução em áreas até então livres dessa enfermidade, assim como a disseminação de estirpes fitopatogênicas de *Streptomyces* spp. até então ausentes (LOPES, 2011);
- O uso cultivares de batata resistente. No Brasil, a maioria das cultivares utilizadas apresentam susceptibilidade à sarna comum, além disso, essas variedades ainda estão entre as preferidas pelos consumidores. Recentemente, foi introduzido no mercado brasileiro a cv. Electra e Orkestra, ambas apresentando alta resistência à doença, mas com o seu cultivo em locais com alta infestação, já são observadas lesões superficiais com baixo nível de dano;
- A rotação de culturas durante 3 a 4 anos com gramíneas ou outras espécies reconhecidamente não hospedeiras de *Streptomyces* spp. é uma medida eficaz no controle da doença, pois diminui o potencial de inóculo no solo e a doença em cultivos seguintes (POWELSON; JOHNSON; ROWE, 1993);
- A manutenção do pH abaixo de 5,5 é uma medida que tem se mostrado eficaz, quando a doença é provocada pela espécie *Streptomyces scabiei*, visto que essa bactéria não apresenta um bom desenvolvimento em solos ácidos. Porém, se a espécie dominante for *S. acidiscabiei*, esse método não apresenta eficácia, pois ela se desenvolve bem em solos

com pH de 4,5 a 5,5 (LOPES, 2011);

- O controle químico apresenta eficácia variável, de acordo com a região onde é utilizado, devido, principalmente, às diferenças nos fatores que influenciam no desenvolvimento da sarna comum;
- A manutenção da umidade do solo desfavorece o desenvolvimento da sarna, pois favorece a permanência do microrganismos antagonistas no local. A umidade do solo deve ser mantida com capacidade de campo entre 80 e 90% nas primeiras quatro semanas após a semeadura, período considerado crítico para ação da bactéria sobre os tubérculos (BRUEHL, 1987);
- Os estudos visando o controle biológico para a sarna comum ainda são poucos, havendo a necessidade de mais pesquisas para consolidá-la como uma estratégia de controle concreto em cultivos de batata. Dessa maneira, aumenta a importância da realização de novos estudos, inclusive associando o controle biológico à rotação de cultura ou cobertura orgânica do solo, pois poderá proporcionar maior eficácia no controle da sarna.

2.4 Controle biológico

Desde os primórdios da agricultura, a ação antrópica sobre os ecossistemas têm favorecido o incremento de produção, ampliação e exploração de áreas agrícolas. Entretanto, nas últimas décadas, as altas produtividades têm sido mantidas em função do uso de agrotóxicos e fertilizantes sintéticos, altamente solúveis, o que tem provocado um forte desequilíbrio ecológico (DOMINGUES; BERMANN, 2012) .

O uso intensivo de defensivos agrícolas no controle de doenças, pragas e plantas invasoras na agricultura tem promovido diversos problemas ambientais, como a contaminação do solo, da água e dos animais. Além disso, tem

proporcionado criação de resistência dos fitopatógenos, pragas e plantas invasoras a certos princípios ativos usados para controle (MORANDI; BETTIOL, 2009).

Contudo, essas práticas têm sido aprimoradas, no intuito de racionalizar o uso desses produtos, a fim de aumentar a rentabilidade do agricultor, reduzir os impactos ambientais e diminuir os riscos à saúde humana. Dessa maneira, agricultores e pesquisadores consideram e aceitam, desde que eficazes, o uso de métodos alternativos no combate a doenças (PUNJA; UTKHEDE, 2003). Nesse sentido, o controle biológico tem grande potencial para a manutenção da sanidade dos cultivos agrícolas.

Existem várias definições para controle biológico, porém, a mais aceita entre os pesquisadores foi descrita por Baker e Cook (1975), quando se trata da diminuição da densidade do inóculo ou das atividades que determinam a doença por um patógeno ou parasita, promovida por um ou mais organismos que não o homem, e que são favorecidos naturalmente ou pela manipulação do seu habitat ou ambiente, hospedeiros ou antagonistas ou pela manipulação em massa de um ou mais antagonistas.

Para Bettiol e Ghini (1995), o controle biológico visa manter, por meio de certas práticas, um equilíbrio no agroecossistema, de modo que o hospedeiro, na presença do patógeno, não tenha danos significativos, devido à ação controladora dos organismos não patogênicos.

A maioria das pesquisas publicadas ressalta a utilização de fungos pertencentes ao gênero *Trichoderma* e à espécie bacteriana *Bacillus subtilis*, como agentes de controle biológico de enfermidades, importantes de várias culturas a nível mundial, pois atuam como antagonistas naturais de vários fungos fitopatogênicos (STEYAERT e outros, 2003; HAN e outros, 2004; YENDIO, RAMESH E PANDEY, 2017).

2.5 *Trichoderma* spp.

São fungos filamentosos de vida livres não patogênicos, que vivem naturalmente nos solos, especialmente encontrados como componentes da microbiota em quase todos os tipos de solos, incluindo a camada de húmus das florestas e solos agrícolas, vivendo saprofiticamente ou parasitando outros fungos, e exercendo antagonismo através do parasitismo, competição e/ou antibiose (KRUGNER; BACCHI, 1995).

Por ser antagonista a vários fitopatogênicos, o *Trichoderma* pode exercer o controle de forma indireta, competindo por espaço e nutrientes, modificando as condições ambientais, produzindo antibióticos, inativando as enzimas do patógeno ou, diretamente, mediante o micoparasitismo (BENITEZ e outros, 2004).

Entre os mecanismos de ação que envolvem o *Trichoderma* spp., estão a quebra da parede celular, produzida por enzimas como quitinase, proteases e glucanases; indução de resistência, além da produção de antibióticos (HARMAN, 2006).

São vários os relatos na literatura científica indicando a eficiência do uso de *Trichoderma* como agente de biocontrole contra diversos fitopatógenos em plantas de interesse agrícola, como *Phytophthora palmivora*, em mamoeiro (TAVARES, 2009); *Sclerotinia sclerotiorum*, em soja (GÖRGEN e outros, 2009); *Sclerotium rolfsii*, no meloeiro (GAVA; MENEZES, 2012); *Fusarium solani*, em meloeiro (FONSECA NETO e outros, 2016); *Colletotrichum lindemuthianum*, em feijão (ALVES; NUNES, 2016); *Macrophomina phaseolina*, em feijão e soja (ARAÚJO, 2018).

A maioria dos trabalhos abordam o controle de fungos por agentes bacterianos de biocontrole, contudo, são poucos os trabalhos que relatam *Trichoderma* spp. controlando bactérias. Alguns desses trabalhos são: Yendio, Ramesh e Pandey (2017), controlando *Ralstonia solanacearum*; e Astorga-

Quirós e outros (2014), controlando *Pseudomonas marginalis*.

As espécies de *Trichoderma*, além do biocontrole, podem colonizar com facilidade o sistema radicular e promoverem o crescimento de diversas espécies de plantas (VINALE e outros, 2008), seja na decomposição de matéria orgânica solo, disponibilização de nutrientes ou exsudação de compostos secundários que melhoram o desenvolvimento de plantas (CONTRERAS-CORNEJO e outros, 2009), denotando, assim, os benefícios exercidos pelo *Trichoderma*.

2.6 *Bacillus subtilis*

O *Bacillus subtilis* é uma bactéria Gram-positiva com habitat natural em fontes de água ou no solo, ou associados a plantas, estabelecendo-se na rizosfera, filoplano e nos tecidos internos, onde se multiplicam e exercem a ação antagonista do restante da microflora autóctone (CAMPOS SILVA e outros, 2008).

O *B. subtilis* tem a capacidade de produção de antibióticos ou de enzimas de gradativas extracelulares (STRAGIER; LOSICK, 1996). Também tem a capacidade de produção de estruturas de resistência, como “o endósporo”, caso seja submetida a condições desfavoráveis a sua sobrevivência, podendo permanecer intactas por milhões de anos (CANO; BORUCKI, 1995).

O *B. subtilis* também tem se destacado por apresentar habilidade de colonizar e induzir a resistência sistêmica da planta (COMPARONI, 2015) e a capacidade de sobreviver na rizosfera, aumentando sua eficiência como agente de controle fitossanitário (ORTEGA-MORALES e outros, 2009).

Na agricultura brasileira, o *B. subtilis* tem sido recentemente usado para o biocontrole de enfermidades de plantas, assim como para aumentar a produtividade de culturas (YAO e outros, 2006). A exposição de células vivas de *B. subtilis* pode ocasionar o biocontrole no local, podendo ser competição, parasitismo, antibiose ou indução de resistência sistêmica da planta

(LEELASUPHAKUL; HEMMANEE; CHUENCHITT, 2008).

Os relatos na literatura científica que se tem notícia a respeito da eficácia de *Bacillus subtilis* sobre doenças de plantas são diversos. Podemos citar alguns dos trabalhos de biocontrole de *Pseudomonas marginalis* e *Sclerotium cepivorum* no alho (ASTORGA-QUIRÓS e outros, 2013), *Ralstonia solanacearum* em tomate (CHEN e outros, 2014) e nematoide no feijão (OLIVEIRA e outros, 2017).

3 METODOLOGIA

3.1 Isolamento e identificação do fitopatógeno

Os testes de antagonismo *in vitro* e *in vivo* ocorreram no laboratório Biofábrica da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, *campus* de Vitória da Conquista-BA, no período de junho a dezembro de 2017. Foram coletados tubérculos de batata cv. Ágata com lesões características da doença em área de produção comercial de batata, situada no município de Mucugê – BA (lat. 13° 02' 7,92" sul e long. 41° 27' 36,91" oeste), para isolamento, caracterização do gênero e patogenicidade da bactéria e, posterior utilização nos ensaios de antagonismo *in vitro*.

No processo de isolamento, os tubérculos foram limpos e higienizados em água corrente e detergente neutro; logo após, foram retiradas pequenas amostras entre tecidos sadio e lesionado do tubérculo; e colocado em aquecimento em banho Maria a $55 \pm 1^\circ\text{C}$, durante 30min. Em seguida, as amostras foram maceradas em lâminas de vidro, quando foram colocadas 2 gotas de água destilada esterilizada nas amostras e o caldo inoculado em placas de Petri em meio de cultura agar-água.

As placas foram incubadas em BOD, durante 7 dias, sob temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, e, após o período de crescimento, foram selecionadas das placas, cinco diferentes colônias com características morfológicas semelhantes ao da espécie *Streptomyces scabies*, descrita por Corrêa (2015). As colônias foram retiradas das placas e colocadas em suspensões bacterianas com água destilada, esterilizadas, posteriormente, foram inoculadas em placas contendo meio *Yeast Malt Extract* (YME) para multiplicação da bactéria sob incubação em BOD durante 7 dias e $28 \pm 1^\circ\text{C}$.

Após o período de crescimento, foi feito o teste de patogenicidade, utilizando-se pequenos discos de tubérculos de batata, onde foi inoculado a colônia bacteriana sobre os discos. As amostras de batata foram submetidas à incubação, durante 120 horas a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, logo após, foram feitas as avaliações da patogenicidade bacteriana.

Para caracterizar a bactéria isolada, foi feita a caracterização morfológica e bioquímica. A caracterização morfológica foi feita através da avaliação da micromorfologia de hifas por microscopia óptica, coloração de colônia, coloração de esporos e produção de pigmentos.

A caracterização bioquímica foi avaliada através da utilização de diferentes carboidratos, segundo Shirling e Gottlieb (1966), usando diferentes meios com as seguintes fontes de açúcares: D-glicose (testemunha positiva), D-manitol, D-rafinose, L-arabinose, D-frutose, L-ramnose, Mio-inositol, D-xilose, Sacarose e o meio básico (Agar-água) – sem açúcares (testemunha negativa).

3.2 Testes de antagonismo *in vitro*

O antagonismo foi medido por meio do teste de pareamento direto entre microrganismos, teste de antibiose por metabólitos voláteis e teste de antibiose por metabólitos não voláteis.

3.2.1 Teste do pareamento direto

A avaliação de antagonismo *in vitro* foi feita através do pareamento radial entre a bactéria fitopatogênica e os microrganismos antagonistas: *Trichoderma longibrachiatum* (TL); *Trichoderma harzianum* (TH); *Pochonia chlamydosporia* (PC); *Bacillus subtilis* (BS) (testemunha positiva); *Bacillus subtilis* + *Trichoderma longibrachiatum* (BSTL); *Bacillus subtilis* + *Enterococcus faecium* (BSEF).

A bactéria fitopatogênica foi semeada em toda superfície da placa de Petri contendo o meio YME, em seguida, foi inserido, no centro da placa, um disco do meio de cultura contendo o antagonista (Figura 1). As placas foram colocadas em BOD sob temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$ em delineamento inteiramente casualizado, com 4 repetições, durante 96h; e a cada 24h, foram feitas as medidas de crescimento da colônia do microrganismo antagonista. Após as 96h, foi obtida a área de crescimento ou inibição, provocada pelo microrganismo antagonista em relação à área total da base da placa e depois calculado o percentual de inibição do crescimento da bactéria fitopatogênica.

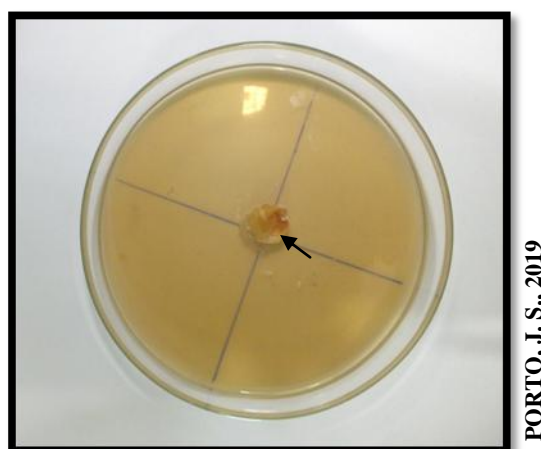


Figura 1 - Pareamento direto de microrganismo antagônico a *Streptomyces* sp. Seta no centro da placa aponta o disco de meio de cultura contendo o microrganismo antagônico já semeado com a bactéria fitopatogênica. Vitória da Conquista – BA, 2019.

3.2.2 Teste de antibiose por metabólitos voláteis

Utilizando-se os mesmos tratamentos do pareamento direto, na antibiose de metabólitos voláteis foram inoculados discos da bactéria fitopatogênica em

placas com meio YME e discos dos microrganismos antagonistas em placas com meio *Potato Dextrose Agar* (PDA), cujas bases das placas foram postas uma sobre a outra, vedadas com parafilme (Figura 2) e submetidas à incubação na BOD $28 \pm 1^\circ\text{C}$, durante 7 dias, em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições; ao final, foi medido o raio de crescimento da colônia com paquímetro digital.

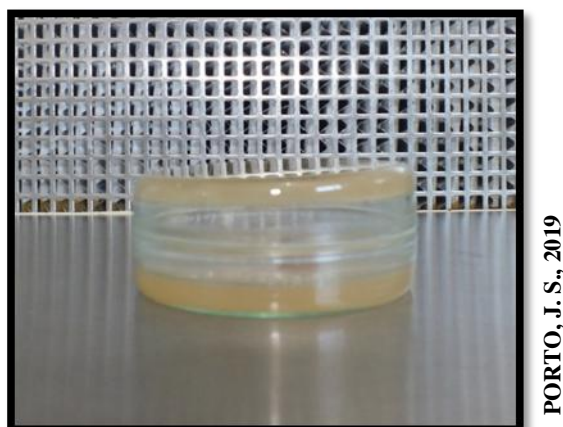


Figura 2 – Pareamento por metabólitos voláteis. Vitória da Conquista – BA, 2019..

3.2.3 Teste de antibiose por metabólitos não voláteis

O teste de antibiose por metabólitos não voláteis foi feito através do crescimento da bactéria fitopatogênica em meio YME, contendo os metabólitos secundários produzidos de antagonistas. Os metabólitos foram extraídos por uma suspensão de microrganismos antagonistas, feita com meio líquido *Potato Dextrose* (PD), no qual foi inserido um disco no meio de cultura e, logo em seguida, incubado em $28 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48h. Após as 48h, a suspensão foi filtrada com filtro milipore (SANTOS, 2014) e colocado em 99 ml de meio YME fundente (Figura 3). As placas foram colocadas em BOD, sob temperatura de 28

$\pm 1^{\circ}\text{C}$ em delineamento inteiramente casualizado, com 4 repetições. Ao final de cinco dias de incubação, foi medido o raio de crescimento da bactéria fitopatogênica.



Figura 3 – Pareamento por metabólitos voláteis. Vitória da Conquista – BA, 2019.

Com os resultados de crescimento da colônia bacteriana dos metabólitos voláteis e não voláteis, foi calculado o percentual de inibição de crescimento colonial (PICC), utilizando a seguinte fórmula:

$$PICC = \frac{R1 - R2}{R1} \cdot 100 \quad (1)$$

Em que:

R1 = raio maior (crescimento da colônia testemunha – sem o antagonista);

R2= raio menor (crescimento da colônia sob influência do antagonista).

3.3 Teste de antagonismo *in vivo*

O teste de antagonismo *in vivo* foi conduzido em ambiente protegido, onde plantas de batata foram cultivadas em vasos de 20 dm³ em solo contaminado, coletado em área de produção comercial com incidência natural de *Streptomyces* sp. e histórico de perdas da produção em plantios anteriores, no município de Mucugê-BA.

Foram testados o antagonismo de TL (2 x 10⁸ conídios g⁻¹), TH (2 x 10⁸ conídios g⁻¹), PC (2 x 10⁸ conídios g⁻¹), BSTL (3,75 x 10⁸ ufc g⁻¹) e BSEF (3 x 10⁸ ufc g⁻¹) a *Streptomyces* sp. em tubérculos de batata durante a produção. Foram utilizados dois controles para avaliação: solo esterelizado – SE em autoclave (testemunha positiva) e solo sem tratamento (testemunha negativa).

Foi realizada a prévia fertilização dos vasos com 30 g do formulado organomineral 06-30-00, 5 g de formulado micronutrientes (FTE) e, posteriormente, durante o desenvolvimento das plantas 10 g de KCl, parcelada em 3 aplicações. Em seguida, foram plantados tubérculos de batata semente tipo II, geração 2, da cultivar Ágata. Todos os tratamentos foram aplicados semanalmente, a partir do plantio 0,66 g do microrganismo antagonista em 1 L de água diretamente no solo.

Ao final de 86 dias após o plantio (DAP), foi retirada a parte aérea das plantas para maturação dos tubérculos; e, após 10 dias, os tubérculos foram colhidos para avaliação dos seguintes parâmetros: número de tubérculos lesionados; área da lesão, utilizando a escala diagramática de lesão (JAMES, 1971); índice de severidade, calculado pelo método de Granja, Hirano e Silva (2013), modificado, em que se utilizou para os cálculos as notas da escala diagramática (JAMES, 1971); e porcentagem de perdas, obtido pelo peso de tubérculos lesionados em relação ao peso total dos tubérculos das plantas.

3.4 Avaliação de produção, severidade e níveis de controle da sarna comum *in locu*

Para testar a produção, severidade da sarna comum e níveis de controle, foram realizados, simultaneamente, dois experimentos *in locu* entre os meses de janeiro e abril de 2017, no Município de Mucugê-BA, em áreas de produção comercial de batata com histórico de incidência de sarna comum em duas propriedades distintas.

O primeiro experimento foi conduzido nas coordenadas lat. 13° 15' 42,95'' Sul – long. 41° 32' 56,51'' Oeste, em delineamento blocos casualizados no esquema de experimento, em faixas com três repetições, e parcelas contendo oito linhas de plantio de cinco metros.

Foram utilizados os tratamentos TL (2×10^8 conídios g^{-1}), TH (2×10^8 conídios g^{-1}), PC (2×10^8 conídios g^{-1}), BSTL ($3,75 \times 10^8$ ufc g^{-1}) e BSEF (3×10^8 ufc g^{-1}) e um tratamento controle (sem microrganismo), aplicados sobre plantas de batatas cultivadas em duas faixas de área anteriormente cultivada, com diferentes plantas para cobertura morta. Uma faixa foi cultivada com ervilhaca durante três meses e outra faixa de área foi anteriormente coberta com capim *Brachiaria brizantha* (faixa ou cobertura controle).

O solo foi previamente fertilizado com 2000 kg ha^{-1} de super simples e tubérculos de batata semente, tipo III, geração 2 cv. Ágata, sendo plantadas em linhas de plantio ao longo das faixas e, logo depois, estabeleceu-se parcelas de 5 m lineares com seis linhas de plantio. Após a semeadura, foi realizada a primeira aplicação dos microrganismos na dosagem de 15 kg ha^{-1} , e as demais aplicações foram repetidas a cada 15 dias. As irrigações foram feitas em pivô central e os demais manejos, segundo recomendação da cultura da batata.

Ao final de 78 DAP, foi aplicada herbicida à base de Paraquat para dessecação da parte aérea das plantas e maturação dos tubérculos. Após 10 dias, os tubérculos foram colhidos e avaliados os seguintes parâmetros: peso de

tubérculos comerciais; peso de tubérculos lesionados com sarna; área da lesão, utilizando a escala diagramática de lesão de James (1971); Índice severidade, calculado pelo método de Granja, Hirano e Silva (2013) modificado, em que se utilizou para os cálculos a escala diagramática de lesão (JAMES, 1971) para avaliar e aplicar as notas; e porcentagem de perdas, obtido pelo peso de tubérculos lesionados em relação ao peso total dos tubérculos das plantas.

O segundo experimento estava localizado nas coordenadas lat. 13° 02' 04,52" Sul – long. 41° 27' 36,09" Oeste. Nesse ensaio, foram plantados tubérculos sementes cv. Ágata tipos I, II e III, geração 3, e utilizados os tratamentos (2×10^8 conídios g^{-1}), TH (2×10^8 conídios g^{-1}) e um tratamento controle (sem microrganismo). O teste foi conduzido aplicando-se cada tratamento em um quadrante da área, sob sistema de irrigação por pivô central de 100 ha, com intuito de reduzir os risco de contaminação cruzada entre os tratamentos.

As aplicações dos tratamentos foram feitas como o primeiro experimento, a cada 15 dias até próximo da dessecação, diferenciando-se na dosagem de 10 kg ha^{-1} . As fertilizações e manejo da irrigação foram feitas segundo manejo da fazenda.

Aos 89 DAP, a área foi dessecada e, após 10 dias, foram amostrados 18 pontos bem distribuídos em cada quadrante utilizado para o teste, com parcelas de oito linhas de oito metros, onde em cada ponto amostral foi feita uma parcela de 5 metros com duas linhas de plantio, e coletou-se dados dos mesmos parâmetros avaliados no primeiro experimento.

3.5 Análise estatística

Os dados foram submetidos a tratamento estatístico, sendo a normalidade testada pelo teste Shapiro-Wilk e sua homogeneidade pelo teste Bartlett, através

do software AgroEstat. Em seguida, os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F ($p < 0,05$). Por fim, as médias dos experimento *in vitro* e *in vivo* foram comparadas pelo teste LSD ($p < 0,05$), enquanto que as médias dos experimentos *in locu* comparadas pelo teste Tukey ($p < 0,05$), com auxílio do software AgroEstat© .

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Isolamento e identificação do fitopatógeno

A Figura 4 mostra imagens da caracterização da espécie bacteriana, isolada a partir das lesões dos tubérculos de batata coletadas em área de produção comercial de batata. A Figura 4A apresenta uma das colônias bacterianas que foram isoladas, após 7 dias de incubação e crescimento.

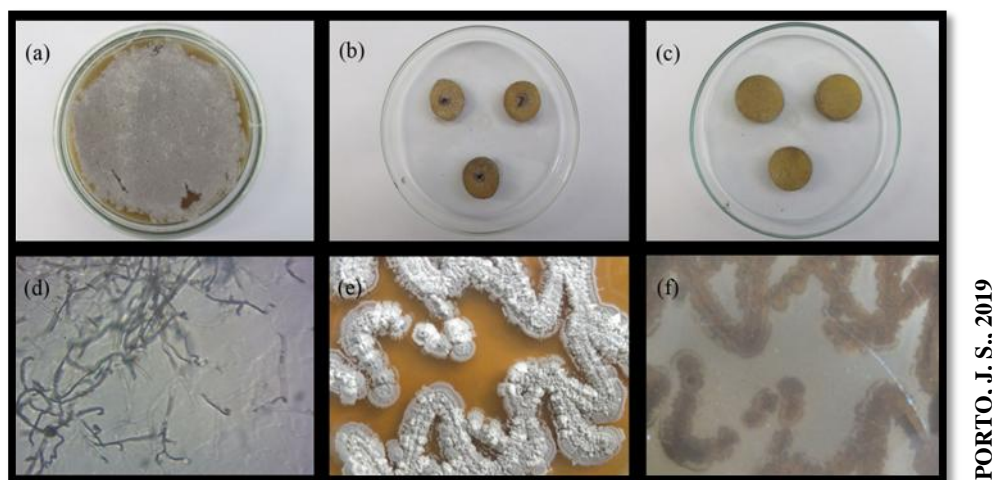


Figura 4 – Isolamento e caracterização morfológica da *Streptomyces* sp. (a) Colônia bacteriana; (b) Controle; (c) Teste de patogenicidade; (d) Micromorfologia de hifas; (e) Coloração de esporos; e (f) Coloração do pigmento da colônia. Vitória da Conquista-BA, 2019.

A patogenicidade de cinco colônias previamente isoladas foram testadas neste trabalho, cujos discos de tubérculos que levaram o inóculo bacteriano (Figura 4B) causaram lesões com área necrótica média de 6,28 mm² e profundidade de 1,2 mm, com incidência de 100% dos discos contaminados em

relação à testemunha (Figura 4C), e a bactéria isolada trata-se de um microrganismo fitopatogênico, sendo que uma delas, de acordo com os resultados encontrados por Corrêa (2015), trata-se de uma espécie com alta virulência, e a partir deste resultado foi escolhida a colônia que seria trabalhada no teste *in vitro*.

Na Figura 4D são demonstradas as células bacterianas, formando um agrupamento filamentosos similar ao de hifas em fungos, bactérias com essas características são microrganismos pertencentes ao gênero *Streptomyces* (WAKSMAN; HENRICI, 1943).

A *Streptomyces* estudada produz esporos de cor branca e cinza (Figura 4E), a coloração de sua colônia é bege e produz pigmentos marrons, conforme Figura 4F. O teste bioquímico (Tabela 1) aponta que a espécie utiliza várias fontes de carbono como alimento, exceto o carboidrato manitol.

Tabela 1 – Resultados do teste bioquímico da *Streptomyces* isolada a partir de lesões de tubérculos de batata. Vitória da Conquista-BA, 2019

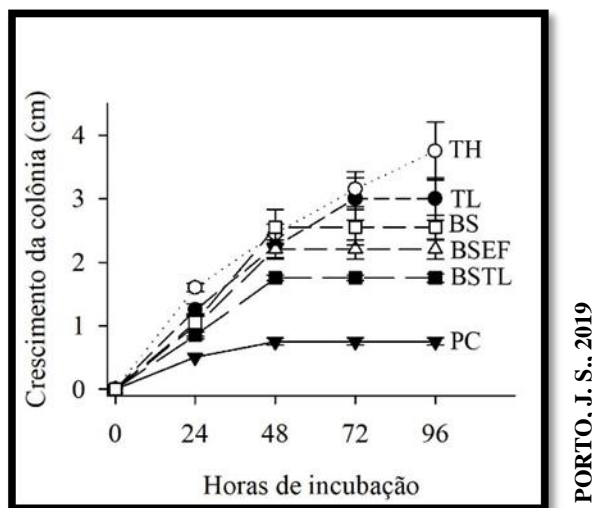
MB*	Glic	Arab	Frut	Inos	Man	Raf	Ram	Suc	Xil
-	+	+	+	+	-	+	+	+	+

*MB.: Meio Básico (controle negativo); Glic.: Glicose (controle positivo) Arab.: L-arabinose; Frut.: D-Frutose; Inos.: mioinositol; Man.: D-Manitol; Raf.: D-Rafinose; Ram.: L-Ramnose; Suc.: Sacrose; Xil.: D-Xilose; (+), utilização positiva; (+/-), utilização duvidosa; (-), utilização negativa.

Confrontando os resultados deste trabalho com os encontrados por Corrêa (2015) em relação às características morfológicas e bioquímicas da *Streptomyces* isolada, é sugerido que pode se tratar de uma nova espécie fitopatogênica ainda não catalogada, mas só o teste molecular com investigação do gene 16 S confirmará essa suposição. Corrêa (2015), em seu trabalho de caracterização de novas espécies de *Streptomyces* fitopatogênicas, identificou 20 novos grupos genéticos e estimou que há pelo menos 34 novas linhagens entre espécies e subespécies que causam sarna em tubérculos de batata.

4.2 Testes de antagonismo *in vitro*

A Figura 5 mostra o resultado do crescimento dos microrganismos antagonistas frente ao teste de antagonismo realizado contra a *Streptomyces* sp.



PORTO, J. S., 2019

Figura 5 – Crescimento da colônia do antagonista durante o período de incubação sobre a *Streptomyces* sp. TL- *T. longibrachiatum*; TH- *T. harzianum*; PC- *P. chlamydosporia*; BS- *B. subtilis*; BSEF- *B. subtilis* + *E. faecium*; BSTL- *B. subtilis* + *T. longibrachiatum*. Vitória da Conquista-BA, 2019.

Todas as espécies estudadas neste trabalho exerceram influência sobre o crescimento da colônia de *Streptomyces*, porém, a *Trichoderma* spp. mostrou-se mais agressiva no crescimento dos fitopatógenos em relação aos demais microrganismos testados. O TH apresentou potencial de crescimento até o último dia de avaliação (96 horas) com crescimento radial de 3,75 cm.

No entanto, o TL, diferentemente do TH, cessou seu crescimento às 72 horas após a inoculação com crescimento colonial de 3 cm. A medida que as

espécies fúngicas cresciam, notava-se a reação da colônia de *Streptomyces* que começavam a esporular rapidamente, formando uma massa branca sobre a colônia (Figura 6). Após a esporulação (formação da massa branca), os microrganismos não exerciam mais efeitos sobre a bactéria.

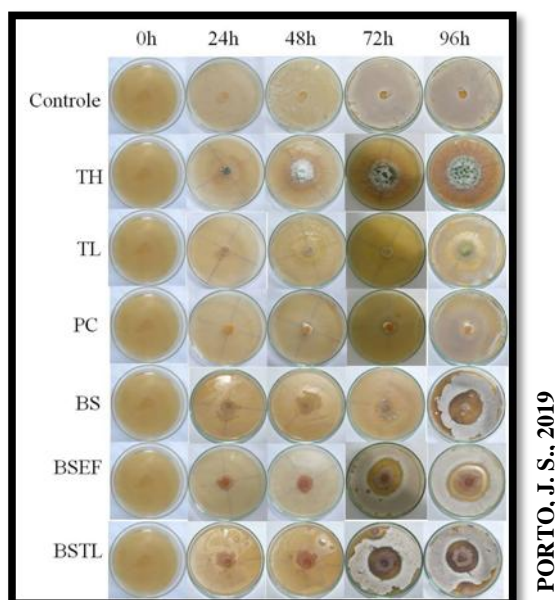


Figura 6 – Antagonismo de TL - *T. longibrachiatum*; TH - *T. harzianum*; PC - *P. Chlamydosporia*; BS - *B. subtilis*; BSTL - *B. subtilis* + *T. longibrachiatum*; BSEF - *B. subtilis* + *E. faecium* e Controle (sem microrganismo) sobre *Streptomyces* sp. durante as 96h de incubação. Vitória da Conquista-BA, 2019.

Dentre as bactérias antagonistas, o BS se destacou dentre os demais microrganismos, estando próximo do controle exercido pelas espécies de *Trichoderma*, porém, teve seu crescimento cessado em 48 horas. Esse mesmo resultado foi verificado nos demais tratamentos que continham bactérias.

Em relação à inibição de *Streptomyces* sp. por microrganismos antagonistas no teste *in vitro* (Tabela 2), os melhores resultados foram observados no TH e TL, com 79,62 e 66,67% de inibição da *Streptomyces* sp.,

respectivamente. Entre os tratamentos testados, o BS teve desempenho inibitório intermediário, obtendo valor de inibição de 57% crescimento de *Streptomyces* sp.

Tabela 2 – Inibição de microrganismos antagonísticos por pareamento direto à *Streptomyces* sp. após as 96h de incubação. Vitória da Conquista-BA, 2019.

Tratamentos	Crescimento (cm)	Inibição (%)
Testemunha	4,50	-
<i>T. longibrachiatum</i>	3,00	66,67 ab
<i>T. harzianum</i>	3,75	79,62 a
<i>P. clamydosporia</i>	0,75	16,30 d
<i>B. subtilis</i>	2,55	57,04 bc
<i>B. subtilis</i> + <i>E. faecium</i>	2,20	48,52 bc
<i>B. subtilis</i> + <i>T. longibrachiatum</i>	1,75	40,00 c
CV(%)	-	15,51

Médias seguidas de letras iguais, não difere entre si estatisticamente pelo teste LSD ($p < 0,05$).

O BS já está documentado na literatura científica controlando cepas fitopatogênicas de *Streptomyces* (HAN e outros, 2005; COMPARONI, 2015), portanto, os resultados aqui apontados mostram que os *Trichoderma* podem exercer eficiente controle sobre crescimento populacional da bactéria fitopatogênica, na qual o TH e o TL obtiveram inibição de 28 e 14,46% em relação ao BS.

Yendyo e outros (2017), trabalhando com antagonismo *in vitro* de diferentes espécies de *Trichoderma*, inclusive o *T. harzianum*, observaram efeito antagonístico da espécie fúngica contra *Ralstonia solanacearum* em tomate. Astorga-Quirós e outros (2013) também verificaram o efeito de *Trichoderma* sp. sobre a inibição do crescimento de *Pseudomonas marginalis* isolada de alho.

O TH, TL e o BS, no teste de antibiose por metabólitos voláteis (Tabela 3), obtiveram bom desempenho, inibindo 34, 34 e 39% do crescimento da populacional da *Streptomyces* sp, respectivamente. Enquanto que o tratamento com o menor resultado na utilização dessa estratégia de antagonismo foi o BSEF, que inibiu 18% do crescimento bacteriano, ou seja, cerca de 50% de inibição a menos que os microrganismos com resultados superiores.

Tabela 3 – Inibição de microrganismos antagonicos por metabólitos voláteis à *Streptomyces* sp. após as 96h de incubação. Vitória da Conquista-BA, 2019.

Tratamentos	Crescimento (cm)	Inibição (%)
Testemunha	0,97	-
<i>T. longibrachiatum</i>	0,60	34,21 ab
<i>T. harzianum</i>	0,65	34,21 ab
<i>P. clamydosporia</i>	0,67	26,32 bc
<i>B. subtilis</i>	0,70	39,47 a
<i>B. subtilis</i> + <i>E. faecium</i>	0,80	18,42 c
<i>B. subtilis</i> + <i>T. longibrachiatum</i>	0,60	25,00 bc
CV(%)	-	23,98

Médias seguidas de letras iguais, não difere entre si estatisticamente pelo teste LSD (p<0,05).

A inibição de *Streptomyces scabiei* pelo BS por metabólitos voláteis foi testada por Comparoni (2015), que verificou controle de 33,33% para a linhagem de *S. scabiei* IBSBF 2049T e de 37,87% para a linhagem nacional IBSBF 2298, semelhantemente aos resultados alcançados neste trabalho com o TL e TH. Segundo Ryan, Kinkel e Schottel (2010), a magnitude das respostas pode também estar em função da condição isolada do fitopatogênico, da linhagem do antagonista em que ocorre o teste de antibiose.

Na antibiose de metabólitos não voláteis (Tabela 4), o BSEF junto com o TH obtiveram os melhores resultados entre os demais tratamentos (44,73% de inibição), enquanto que o menor resultado foi observado no BS (13,15% de inibição). A relação desses dois tratamentos com relação ao tipo de antibiose foi inversamente proporcional, indicando que, ao se tratar da exsudação de compostos antimicrobianos, o BS pode usar preferencialmente compostos gasosos para inibir o crescimento da população de *Streptomyces* spp., enquanto que o BSEF pode usar de preferência compostos não gasosos (líquido, plasma etc.), para controlar a *Streptomyces* spp.

Tabela 4 – Inibição de microrganismos antagonísticos por metabólitos não voláteis à *Streptomyces* sp. após as 96h de incubação. Vitória da Conquista-BA, 2019.

Tratamentos	Crescimento (cm)	Inibição (%)
Testemunha	0,97	-
<i>T. longibrachiatum</i>	0,57	40,79 a
<i>T. harzianum</i>	0,70	27,63 b
<i>P. clamydosporia</i>	0,70	26,32 b
<i>B. subtilis</i>	0,85	13,16 c
<i>B. subtilis</i> + <i>E. faecium</i>	0,50	44,74 a
<i>B. subtilis</i> + <i>T. longibrachiatum</i>	0,65	27,63 b
CV(%)	-	22,71

Médias seguidas de letras iguais, não difere entre si estatisticamente pelo teste LSD ($p < 0,05$).

O BSEF, além de conter o *Bacillus subtilis*, contém também o *Enterococcus faecium*, que é uma bactéria gram-positiva que produz ácido láctico, presente no trato intestinal dos animais e em alimentos lácteos. Estudos mostram que a utilização do potencial antagonista de *Enterococcus faecium* está mais relacionada a microrganismos que decompõem alimentos, principalmente de origem láctea, mas podem ser encontrados em alimentos de origem vegetal (ASPRI e outros, 2017). Portanto, o *Enterococcus faecium* pode ter contribuído para maiores respostas entre os tratamentos bacterianos no teste de pareamento e antibiose por metabólitos não voláteis, visto que foi observada menor eficiência desse mecanismo de controle, quando se utilizou somente o *Bacillus subtilis*.

O TL no teste de antibiose por metabólitos não voláteis obteve valor de inibição de 40,79%, semelhante ao BSEF, porém, o TH teve baixo desempenho (27,63% de inibição). De acordo com o resultado do TH no teste de antagonismo e antibiose por metabólitos voláteis e não voláteis, pode ser sugerido que, além da antibiose, uma outra estratégia de antagonismo pode ter tido forte influência sobre a inibição do crescimento de *Streptomyces* spp.

Tavares (2009) demonstrou que o *Trichoderma harzianum* e o *Trichoderma virens* foram capazes de inibir o desenvolvimento de *Phytophthora palmivora* por metabólitos não voláteis liberados em meio de cultura, contudo, foi observada maior inibição em metabólitos de *T. harzianum* em relação ao *T. virens*, ratificando a dependência da resposta da antibiose a vários fatores, como

inclusive a espécie que é controlada, pois a antibiose depende da habilidade do antagonista de contornar as defesas do fitopatógeno.

Segundo Chaurasia e outros (2005), o antagonismo pode ser mediado por vários compostos de origem microbiana. Dessa forma, outros estudos podem identificar e caracterizar esses compostos liberados pelos microrganismos antagonísticos, uma vez que o resultado parece ser promissor para testes em casa de vegetação e campo, ou até mesmo desenvolvimento de novos produtos antibióticos.

4.3 Teste de antagonismo *in vivo*

Na avaliação do teste de antagonismo em tubérculos de batata, o número de tubérculos lesionados por *Streptomyces* sp. em função dos microrganismos antagonísticos estão demonstrados na Tabela 5. O *Trichoderma* e o BSEF tiveram os melhores resultados, com lesões ocorrendo somente em 1, 2 e 1 tubérculos, para os tratamentos TL, TH e BSEF, respectivamente.

Esses resultados representam uma diferença média de 77,51% de redução de tubérculos lesionados em relação à testemunha absoluta (cultivado sem a introdução do microrganismo), e estão bem próximos da testemunha positiva (solo esterilizado), na qual, não houveram lesões de sarna.

Tabela 5 – Número de tubérculos lesionados por sarna comum da batata em função da aplicação dos microrganismos. Vitória da Conquista-BA, 2019.

Tratamentos	Nº tubérculos lesionados
Testemunha	6,67 c
<i>T. longibrachiatum</i>	0,67 ab
<i>T. harzianum</i>	2,00 ab
<i>P. clamydosporia</i>	4,67 bc
<i>B. subtilis</i> + <i>E. faecium</i>	1,00 ab
<i>B. subtilis</i> + <i>T. longibrachiatum</i>	4,33 abc
Solo Esterilizado	0,00 a
CV(%)	41,12

Médias seguidas de letras iguais, não difere entre si estatisticamente pelo teste LSD ($p < 0,05$).

No que diz respeito à superfície lesionada no tubérculo da batata (Tabela 6), os tratamentos com *Trichoderma* e *Bacillus*, embora, não tenha havido diferença estatística, reduziram, respectivamente, em 55 e 28% o tamanho da lesão ocasionada pela *Streptomyces* sp., em relação à testemunha absoluta, mostrando evidências de inibição da formação de lesões.

Tabela 6 – Área lesionada por sarna comum da batata em função da aplicação dos microrganismos. Vitória da Conquista-BA, 2019.

Tratamentos	Área lesionada (%)
Testemunha	16,84 b
<i>T. longibrachiatum</i>	6,67 ab
<i>T. harzianum</i>	8,67 ab
<i>P. clamydosporia</i>	15,00 ab
<i>B. subtilis</i> + <i>E. faecium</i>	11,67 ab
<i>B. subtilis</i> + <i>T. longibrachiatum</i>	12,35 ab
Solo Esterelizado	0,00 a
CV(%)	43,56

Médias seguidas de letras iguais, não difere entre si estatisticamente pelo teste LSD (p<0,05).

Han e outros (2005), trabalhando com *B. subtilis* no controle de *Streptomyces scabiei* em tubérculos de batata, verificaram redução da área de infecção provocada pelo patógeno.

As espécies de *Trichoderma* têm também se mostrado eficientes em reduzir infecções causadas por agentes bacterianos fitopatogênicos. Nielsen e outros (2004) mostraram que houve significativa redução do percentual de infecção de raiz por *Spongospora subterranea* em tomate.

O índice de severidade (Tabela 7), por ser consequência do tamanho da lesão e de sua frequência pelo ataque do fitopatógeno, apresentou resultados semelhantes ao número de tubérculos lesionados e superfície lesionada do tubérculo, cujas menores severidades foram observadas em tubérculos de plantas tratadas com o TL, TH e BSEF, com severidade média de 4,88, ou seja, 85% a menos que o índice de severidade da testemunha negativa.

Tabela 7 – Índice de Severidade da sarna comum da batata em função da aplicação dos microrganismos. Vitória da Conquista-BA, 2019.

Tratamentos	Índice de severidade
Testemunha	32,00 c
<i>T. longibrachiatum</i>	2,67 ab
<i>T. harzianum</i>	6,67 ab
<i>P. clamydosporia</i>	18,67 abc
<i>B. subtilis</i> + <i>E. faecium</i>	5,33 ab
<i>B. subtilis</i> + <i>T. longibrachiatum</i>	22,67 bc
Solo Esterelizado	0,00 a
CV(%)	45,77

Médias seguidas de letras iguais, não difere entre si estatisticamente pelo teste LSD ($p < 0,05$).

Há na literatura muitos trabalhos que demonstram a redução da gravidade de doenças fitológicas por *Trichoderma* (SOUZA e outros, 2014; YENDIO; RAMESH; PANDEY, 2017) e *B. subtilis* (HAN e outros, 2005; YENDIO; RAMESH; PANDEY, 2017) sobre um amplo espectro de fitopatógenos em variadas culturas, fortalecendo os resultados e proposições até aqui abordados.

O *Bacillus subtilis* age no solo formando um biofilme bacteriano, envolvendo toda a raiz da cultura de interesse econômico, inibindo o contato dos microrganismos fitopatogênicos com a raiz ou também induzindo a resistência da planta ao fitopatógeno (BAIS; FALL; VIVANCO, 2004; CHEN e outros, 2014). Por isso, possivelmente o *B. subtilis* pode ter se valido dessas estratégias nas plantas e tubérculos de batata.

Já *Trichoderma* spp. possuem alta interatividade com as diversas partes vegetais das plantas, principalmente com as raízes. Estes fungos são de rápido crescimento, então, podem colonizar ligeiramente a região radicular da planta e inibir a atividade do fitopatógeno por antibiose, competição por espaço e nutriente, ou até mesmo através do parasitismo, reduzindo os prejuízos causados pelos agentes patológicos de plantas (SAITO e outros, 2009).

As perdas por sarna são observadas na Tabela 8, na qual é mostrado o tratamento que obteve a menor perda de tubérculo por sarna no TL (4,47%). Esse

resultado representa uma redução significativa de 90% de perdas em relação à testemunha.

Tabela 8 – Perdas por sarna comum da batata em função da aplicação dos microrganismos. Vitória da Conquista-BA, 2019.

Tratamentos	Perdas (%)
Testemunha	47,37 c
<i>T. longibrachiatum</i>	4,47 a
<i>T. harzianum</i>	13,26 ab
<i>P. clamydosporia</i>	27,70 bc
<i>B. subtilis</i> + <i>E. faecium</i>	11,29 ab
<i>B. subtilis</i> + <i>T. longibrachiatum</i>	19,20 ab
Solo Esterelizado	0,00 a
CV(%)	44,69

Médias seguidas de letras iguais, não difere entre si estatisticamente pelo teste LSD ($p < 0,05$).

Em todos os parâmetros avaliados *in vitro* e *in vivo*, o PC demonstrou ser um dos tratamentos menos eficazes, isso se deve ao fato desse microrganismo estar mais relacionado ao controle de fitonematoides (NUNES; TEXEIRA; POMELA, 2010; FERNANDES e outros, 2014; MONTEIRO, 2017), sugerindo não ter efeitos significativos no controle de *Streptomyces* sp.

Os resultados aqui apresentados mostram a eficácia do controle biológico de *Trichoderma* e *Bacillus* sobre a *Streptomyces* sp., contudo, estudos testando a eficiência desses agentes de biocontrole contra *Streptomyces* sp. em campo devem ser feitos para ratificar os resultados obtidos neste trabalho, assim como testar também outras variantes, como linhagens de antagonista, linhagens fitopatogênicas, materiais genéticos vegetais e ambientes.

4.4 Produção, severidade e níveis de controle da sarna comum *in locu*

4.4.1 Primeiro experimento

Os efeitos dos microrganismos e da cobertura com ervilhaca sobre os danos de sarna comum nos tubérculos de batata, no primeiro experimento *in locu*, são estudados a seguir. No que diz respeito ao número de tubérculos lesionados, estão apresentados na Tabela 9. Dentre a combinação de tratamentos, o TH e BSEF, ambos sobre faixa de área com a presença da matéria orgânica da ervilhaca, tiveram os melhores desempenhos com redução de, aproximadamente, 50% do número de tubérculos lesionados em relação ao controle absoluto (sem microrganismo e faixa de área controle).

Tabela 9 – Número de tubérculos de batata lesionados por sarna em função de microrganismos antagonísticos e cobertura de solo. Vitória da Conquista-BA, 2019.

Tratamentos	Ervilhaca	Controle
Testemunha	51,06 Ca	60,09 BCa
<i>T. longibrachiatum</i>	45,54 BCa	50,15 Aa
<i>T. harzianum</i>	38,19 Aa	54,24 Ab
<i>B. subtilis</i> + <i>T. longibrachiatum</i>	44,29 Aba	60,72 Cb
<i>B. subtilis</i> + <i>E. faecium</i>	40,95 Aa	58,37 ABb
CV (%)		12,86

Médias seguidas de mesma letra maiúsculas não difere entre si na coluna e médias seguidas de mesma letra minúsculas não difere entre si na linha pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

Já o TL apresentou uma interação negativa com a presença da ervilhaca na área, na qual aumentou o número de tubérculos com lesões, quando estes eram produzidos nesse ambiente. Entretanto, quando os tubérculos foram produzidos sobre os restos da vegetação espontânea, o TL apresentou os melhores resultados para tubérculos lesionados entre os outros microrganismos na mesma condição.

Görge e outros (2009) verificaram o efeito sinérgico da aplicação de doses intermediárias de *Trichoderma harzianum* (0,5 e 1,0 L ha⁻¹) e uso da palhada de braquiária no controle *Sclerotinia sclerotiorum* em soja. Contudo, Fonseca Neto e outros (2016) observaram o controle de *Trichoderma harzianum* e da crotalária sobre o *Fusarium solani* em meloeiro, mas não notaram a ação sinérgica desses fatores sobre o fitopatógeno.

Todavia, Debode e outros (2018) apontaram que palhada de *Miscanthus* sp. sobre o canteiro de morango pode substituir a turfa, pois o *Miscanthus* sp. favoreceu aos agentes de controle biológico no local de produção. Há também na literatura inúmeros relatos evidenciando a inibição de material vegetal sobre diversos agentes fitopagênicos por extratos aquosos (VENTUROSO e outros, 2011; SILVA e outros, 2011; FERREIRA, 2014; PEIXINHO e outros, 2017).

Diante desse contexto, juntamente com os resultados obtidos neste trabalho, para TH, TL e BSEF, supõem-se que o desempenho dos microrganismos sobre a sarna da batata pode está condicionado a uma possível interação específica entre o agente de biocontrole e o material orgânico utilizado, sendo esta positiva ou negativa.

A Tabela 10 mostra a área superficial de lesão em tubérculos de batata. Não foi constada influência dos microrganismos sobre o tamanho da superfície lesionada do tubérculo. Contudo, nota-se que pode haver evidência de redução de 32% do tamanho das lesões pelo TH e BSEF na faixa de área com ervilhaca, e 16% na faixa de área controle, comparado à testemunha, em suas respectivas faixas.

Embora a diferença média da área lesionada entre a faixa de ervilhaca e padrão foi de 57,5%, essa diferença só foi apontada na presença do agente de biocontrole BSEF. Esse parâmetro apresentou alta variação dos dados, evidenciado pelo coeficiente de variação da Tabela 10, o que explica os resultados obtidos, levando a questionar se é uma característica natural.

Tabela 10 – Área lesionada por sarna dos tubérculos de batata em função de microrganismos antagonísticos e cobertura de solo. Vitória da Conquista-BA, 2019.

Tratamentos	Ervilhaca	Controle
	-----%-----	
Testemunha	5,57 Aa	11,93 Aa
<i>T. longibrachiatum</i>	5,75 Aa	9,72 Aa
<i>T. harzianum</i>	3,24 Aa	9,49 Aa
<i>B. subtilis</i> + <i>T. longibrachiatum</i>	4,96 Aa	10,92 Aa
<i>B. subtilis</i> + <i>E. faecium</i>	3,16 Aa	9,89 Ab
CV (%)	47,71	

Médias seguidas de mesma letra maiúsculas não difere entre si na coluna e médias seguidas de mesma letra minúsculas não difere entre si na linha pelo teste Tukey (p<0,05).

A área lesionada da sarna da batata é um bom parâmetro científico para se estudar o desenvolvimento da doença em tubérculos de batatas, mas não pode ser considerada um bom parâmetro técnico, visto que um tubérculo danificado, seja qual o tamanho da lesão por sarna, pode ser descartado a depender da oferta do mercado.

Quanto ao índice de severidade da sarna da batata, observa-se na Tabela 11 que a ervilhaca reduziu em aproximadamente 30% a severidade da doença sobre os tubérculos de batata, mas só foi verificada controle significativo quando aplicado o TH e BSEF em plantas. Esse efeito pode reforçar a hipótese antes levantada, na qual o desempenho do microrganismo antagonístico pode ser fortemente influenciado pelo tipo de material orgânico presente no solo.

Tabela 11 – Índice de severidade da sarna nos tubérculos de batata em função de microrganismos antagonísticos e cobertura de solo. Vitória da Conquista-BA, 2019

Tratamentos	Ervilhaca	Controle
Testemunha	77,33 Aa	99,67 Aa
<i>T. longibrachiatum</i>	75,33 Aa	93,00 Aa
<i>T. harzianum</i>	61,67 Aa	97,33 Ab
<i>B. subtilis</i> + <i>T. longibrachiatum</i>	70,67 Aa	97,33 Aa
<i>B. subtilis</i> + <i>E. faecium</i>	62,67 Aa	96,67 Ab
CV (%)	14,34	

Médias seguidas de mesma letra maiúsculas não difere entre si na coluna e médias seguidas de mesma letra minúsculas não difere entre si na linha pelo teste Tukey (p<0,05).

Com relação às perdas de produção por sarna (Tabela 12), foi observado o mesmo desempenho dos tratamentos sobre a severidade da doença, na qual as menores perdas significativas foram associadas aos tratamentos TH e BSEF na faixa de área da cobertura de ervilhaca, onde obtiveram redução média de 33,34% dessas perdas, resultando em alternativo potencial de controle sobre a sarna comum da batata.

Tabela 12 – Perdas de produção de tubérculos por sarna da batata em função de microrganismos antagonísticos e cobertura de solo. Vitória da Conquista-BA, 2019.

Tratamentos	Ervilhaca	Controle
	-----%-----	
Testemunha	66,11 Aa	83,77 Aa
<i>T. longibrachiatum</i>	61,77 Aa	63,11 Aa
<i>T. harzianum</i>	38,89 Aa	69,44 Ab
<i>B. subtilis</i> + <i>T. longibrachiatum</i>	48,77 Aa	85,55 Aa
<i>B. subtilis</i> + <i>E. faecium</i>	44,77 Aa	71,67 Ab
CV (%)	15,20	

Médias seguidas de mesma letra maiúsculas não difere entre si na coluna e médias seguidas de mesma letra minúsculas não difere entre si na linha pelo teste Tukey (p<0,05).

A ervilhaca relatada como adubo verde, por fixar N atmosféricos, tem por propriedade enriquecer o solo física, química e biologicamente (VARGAS; SCHOLLES, 2000). Este último, pode promover a introdução, manutenção ou aumento da atividade microbiana, entre eles de inimigos naturais que combatem, controlam ou inibem a ação negativa dos fitopatógenos sobre as plantas de interesse agrícola.

Vargas e Scholles (2000) verificaram o aumento de carbono da biomassa microbiana (211 a 252 mg kg⁻¹) e da atividade da biomassa microbiana (104 a 147 mg kg⁻¹ C-CO₂ emitido), quando se cultivou milho em sucessão com ervilhaca e aveia preta no sistema de cultivo reduzido, comparado com aveia preta isolada como cultura anterior. Os mesmos autores explicam que tal fato se deve à presença de N no solo, proporcionado pela presença de leguminosa no sistema.

Na Tabela 13 estão apresentados os valores de produção de batata concernente ao primeiro experimento, no qual foram aplicados os agentes de biocontrole em diferentes coberturas de solo para testar seu efeito sobre a sarna da batata. Os resultados demonstram mínima ou inexistente influência desses microrganismos sobre a produção total de batata.

Tabela 13 – Produção de tubérculo de batata em função de microrganismos antagonísticos. Vitória da Conquista – BA, 2019.

Tratamentos	Produção total		Produção comercial	
	Ervilhaca	Controle	Ervilhaca	Controle
	-----kg ha ⁻¹ -----			
Testemunha	16.028,22	18.257,78	7.847,34	7.285,55
<i>T. longibrachiatum</i>	14.202,45	16.467,11	8.970,89	6.495,55
<i>T. harzianum</i>	14.044,45	17.327,33	10.164,66	8.619,78
<i>B. subtilis</i> + <i>S. longibrachiatum</i>	12.798,00	16.256,45	7.355,78	5.003,33
<i>B. subtilis</i> + <i>E. faecium</i>	15.852,67	15.589,34	11.042,45	6.530,67
CV (%)	23,29		24,42	

Há alguns relatos na literatura que apontam a promoção de crescimento e ganhos em produção proporcionados por *Trichoderma* spp. (ZHANG; GAN; XU, 2016; NIETO-JACOBO e outros, 2017; OLIVEIRA e outros, 2018) e *Bacillus* spp. (SHAN-SHAN e outros, 2014; RADHAKRISHNAN; HASHEM; ABD-ALLAH, 2017; AKINRINLOLA e outros, 2018) em outras espécies vegetais. Contudo, não foi uma realidade neste experimento com a cultura da batata.

Assim como os efeitos dos microrganismos sobre a produção de batata não mostraram ser significativos, o efeito da cobertura do solo com ervilhaca também não mostrou influência sobre a produção de batata, mas aparentou ter uma efeito negativo na produção, na qual a presença da matéria orgânica da ervilhaca pareceu ter reduzido a produção de tubérculo, visto que plantas cultivadas em faixa controle obtiveram 12% a mais de produção em relação à faixa com ervilhaca. Entretanto, outros trabalhos poderão confirmar esta suposição.

A utilização da ervilhaca tem sido reportada como adubo verde com a cultura de interesse, sendo implantada em sucessão no sistema de plantio direto ou manejo dessa cobertura incorporado ao solo. Viola e outros (2013), verificando a produção de trigo sobre sucessão com cultivo de diferentes adubos verdes, dentre eles a ervilhaca, demonstraram que a cobertura morta dessa planta promoveu acréscimos significativos na produtividade de grãos em comparação ao pousio, por aumentar o N do solo pela decomposição dos restos vegetais ervilhaca. Resultados que confrontaram a produção de batata neste trabalho.

O desempenho negativo deste trabalho sobre a produção observada na Tabela 14 é justificada, pois faixas de área onde a batata foi cultivada na presença de cobertura de ervilhaca continha menor teor de Ca e Mg, porventura, menor saturação por base. Visto que a batateira requer solos mais alcalinos com boa CTC e elevada V%, este pode ser o motivo da baixa produção de tubérculos em relação à faixa controle.

Tabela 14 – Análise química de solo das faixas de área do primeiro antagonico. Vitória da Conquista-BA, 2019.

Cobertura	M.O	pH	K	P¹	H+Al	Ca	Mg	SB	CTC	V
	dag dm ⁻³		---mg dm ⁻³ ---		-----cmol dm ⁻³ -----					%
Controle	1,7	6,2	198	178,1	2,6	3,5	0,9	4,91	7,51	65
Ervilhaca	1,7	5,3	210	188,0	4,3	2,0	0,6	3,14	7,44	42

¹Melich

A ervilhaca, por se tratar de uma planta leguminosa, deve possuir uma relação C/N nitrogênio alta, aumentando a atividade mineralizadora desse material, a emissão de ácidos orgânicos no solo, a redução do pH da solução do solo pelo aumento de H⁺ e a liberação no sistema de outros cátions nocivos às plantas.

Verificando a produção comercial dos tubérculos (Tabela 3), pode-se observar que há evidência de que a produção pode ser maior em tubérculos de plantas que receberam aplicações de microrganismos em relação aos tubérculos

de plantas que não receberam tratamento com microrganismo, exceto o BSTL. Assim como os resultados dos microrganismos, a produção comercial na faixa de ervilhaca obteve valor médio de produção (9.075,60 kg ha⁻¹), 28,9% maior em relação à faixa controle (6.786,40 kg ha⁻¹).

Os resultados de produção comercial, tanto em função da ação ervilhaca quanto dos microrganismos, são atribuídos à maior quantidade de tubérculos do tratamento controle, classificados como descarte (tubérculos não comerciais) pela ocorrência da sarna comum da batata, demonstrados pelos resultados de perdas de produção na Tabela 12.

Vale ressaltar que a razão de não ter havido diferença significativa entre tratamentos para a produção neste experimento se deve ao ataque severo da traça (*Tuta absoluta*), durante a fase final do desenvolvimento do experimento, que provocou sério desfolhamento e antecipou a colheita, finalizando o experimento antes do tempo previsto. Portanto, este evento pode ter influenciado as resposta de produção aqui apresentadas.

4.4.2 Segundo experimento

Com relação ao controle da sarna da batata, no segundo experimento, nota-se significativo desempenho do TL no número de tubérculos lesionados, frente à testemunha (Tabela 15), quando tubérculos tratados com aplicações de TL proporcionaram redução de 87% de tubérculos lesionados em confronto com a testemunha, enquanto que no TH essa redução só foi 14,95 %.

Tabela 15 – Número de tubérculos lesionados de batata em função de *Trichoderma*. Vitória da Conquista-BA, 2019.

Tratamentos	Nº de tubérculos lesionados
Testemunha	107,0067 b
<i>T. longibrachiatum</i>	13,9789 a
<i>T. harzianum</i>	91,3044 b
CV (%)	39,80

Médias seguidas de mesma letra não difere entre si na coluna pelo teste Tukey (p<0,05).

No entanto, para o tamanho da lesão (Tabela 16), o TL só diferiu da testemunha, sendo essa redução de 34,75%, sendo que o TH também não apresentou bom resultado contra a redução do tamanho da lesão da sarna comum.

Tabela 16 – Área da lesão em tubérculo de batata em função de *Trichoderma*. Vitória da Conquista-BA, 2019.

Tratamentos	Área lesionada (%)
Testemunha	12,26 b
<i>T. longibrachiatum</i>	4,09 a
<i>T. harzianum</i>	8,09 ab
CV (%)	53,57

Médias seguidas de mesma letra não difere entre si na coluna pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

Desempenho semelhante foi observado na severidade da doença (Tabela 17) com redução de 56,75% em relação à testemunha, enquanto que o TH obteve redução de 34,75%, assim como o número de tubérculo lesionado e tamanho da lesão que também não apresentaram redução significativa do grau de severidade da doença.

Tabela 17 – Índice de severidade de tubérculo de batata em função de *Trichoderma*. Vitória da Conquista-BA, 2019.

Tratamentos	Índice de severidade
Testemunha	80,57 b
<i>T. longibrachiatum</i>	34,85 a
<i>T. harzianum</i>	52,57 ab
CV (%)	48,37

Médias seguidas de mesma letra não difere entre si na coluna pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

Por fim, a redução das perdas de produção sofridas por sarna (Tabela 18) foi de 89,78% com relação à testemunha, para o TL, já para o TH, a redução apresentou apenas 15,96% da testemunha. Esses resultados são devido à alta quantidade de tubérculos lesionados por sarna comum, ocorrido no tratamento com TH, visto que obteve relativamente lesões e grau de severidade menores em consideração ao número de tubérculos lesionados e perdas.

Tabela 18 – Perdas de produção de batata em função de *Trichoderma*. Vitória da Conquista-BA, 2019

Tratamentos	Perdas (%)
Testemunha	56,89 b
<i>T. longibrachiatum</i>	5,81 a
<i>T. harzianum</i>	47,81 b
CV (%)	36,69

Médias seguidas de mesma letra não difere entre si na coluna pelo teste Tukey (p<0,05).

A produção total de batata, no segundo experimento, apresentada na Tabela 19, não mostra influência dos microrganismos sobre este parâmetro, concordando com os resultados do primeiro experimento. No entanto, a produção comercial (Tabela 19) mostra significativa contribuição dos microrganismos sobre este parâmetro, no qual a obtenção de tubérculos de batata com padrão comercial foi favorecida pelo TL, sendo que 85,79% foi aproveitada para comércio, enquanto que com TH aproveitou-se 48,27% para comércio e, na testemunha, somente 31,86% da produção total foi aproveitada para comércio. Os resultados de produção comercial desse experimento são atribuídos ao maior número de tubérculos do controle descartados pela ocorrência de sarna da batata, demonstrado na Tabela 18.

Tabela 19 – Produção de tubérculo de batata em função de *Trichoderma*. Vitória da Conquista-BA, 2019

Tratamentos	Produção total	Produção comercial
	-----ton ha ⁻¹ -----	
Testemunha	62.049,823	19.774,166 c
<i>T. longibrachiatum</i>	65.136,379	55.884,972 a
<i>T. harzianum</i>	61.017,325	29.456,349 b
CV (%)	8,48	21,74

Médias seguidas de mesma letra não difere entre si na coluna pelo teste Tukey (p<0,05).

Os resultados apresentados para o desempenho do *T. longibrachiatum* e *T. harzianum* podem ser explicados pela característica dos microrganismos, no qual o *T. longibrachiatum* é considerado um fungo cosmopolita, mas de

ocorrência principalmente em lugares de clima tropical semiárido, com crescimento colonial e esporulação ótima em temperatura entre 30 a 35°C (SAMUELS e outros, 2012).

Assim como *T. longibrachiatum*, o *T. harzianum* é um fungo também cosmopolita, mas diferentemente do *T. longibrachiatum* parece estar associado a locais de temperaturas mais amenas, visto que sua colônia cresce e esporula melhor em temperaturas inferiores a 30°C, sob incubação e meio de cultura, com crescimento diário de 33 mm diários na placa de Petri. Quando a temperatura é aumentada, a velocidade de crescimento é reduzido, chegando a 3 mm diários sob temperatura de 36°C (GAMS; MEYER, 1998).

Portanto, durante o desenvolvimento do experimento, a temperatura diurna nas estádios iniciais apresentava-se acima de 30°C, com alta radiação, umidade relativa abaixo dos 65% e baixa precipitação acumulada (Figura 8) .

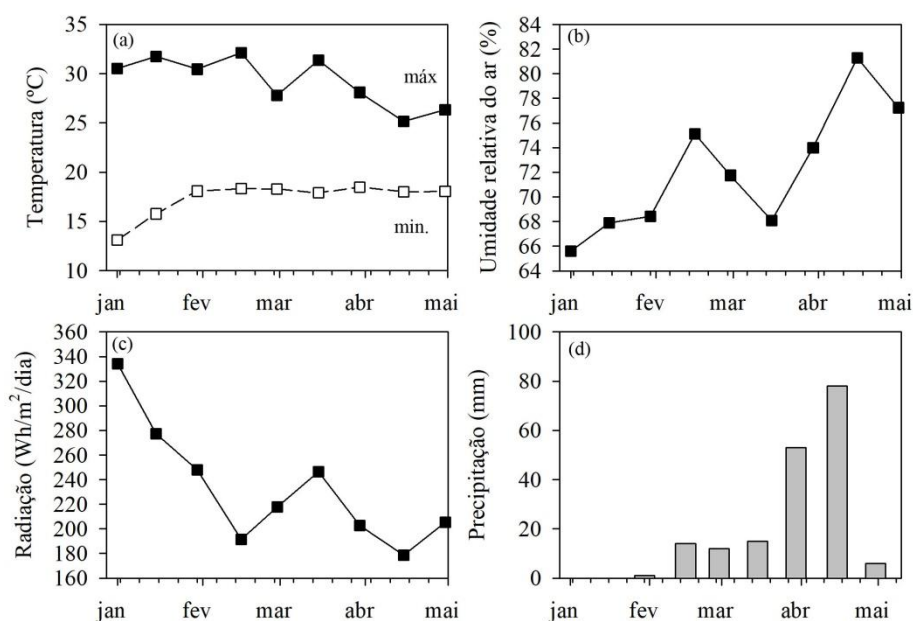


Figura 7 – Dados meteorológico de (A) Temperatura, (B) Umidade relativa, (C) Radiação e (D) Radiação da região de Mucugê-BA, no período de janeiro a abril de 2017. Vitória da Conquista-BA, 2019.

Na literatura ainda há poucos estudos de antagonismo de *Trichoderma longibrachiatum* relacionados a bactérias fitopatogênicas, contudo, em trabalho feito por Vizcaíno e outros (2005), ficou evidenciado o *T. longibrachiatum* como potencial agente antimicrobiano, ao observarem que estirpes da espécie fúngica foram capazes de inibir crescimento *in vitro* das enterobactérias *Escherichia coli*, *Pseudomonas vulgaris* e as gram-positivas *Enterococcus faecium*, *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus*

O *T. longibrachiatum* possui a capacidade de quebrar as paredes celulares de antagonistas pela produção e exsudação de metabolitos secundários e um desses metabolitos, a “ergokonina A”, é um terpenoide antimicrobiano inibidor da síntese de glucano, que compõem a parede celular de organismos

procariotos (VICENTE e outros, 2001), além de possuir rápido crescimento como estratégia de competição aos demais microrganismos, relatados por Benitez e outros (2004), e indução de resistências sistêmica de plantas (HARMAN, 2006).

O *T. harzianum* também pode ser considerado um bom agente de controle de procariotos, visto que possui estratégias de controle semelhantes relacionadas ao seu desempenho antimicrobiano. Em trabalho elaborado por Leelavathi, Vani e Reena (2014), ficou demonstrada a inibição do *T. harzianum* sobre *Staphylococcus aureus*, *Proteus* sp., *Echerechia coli* e *Klebsiella* sp. Neste trabalho, todavia, outros fatores pode ter influenciado na resposta do *T. harzianum* nesse experimento, como já mencionado.

Além do controle biológico, outras estratégias de controle da sarna comum da batata são consideradas durante o plantio, dentre elas o manejo de solo, no qual se admite que atributos químicos do solo, como: pH, teores de Ca, Mn e Al, estão envolvidos na severidade da sarna (DAVIS; McDOLLE; CALLIMAN, 1976; WETERER, 2002; LAZAROVITS e outros, 2007).

No entanto, são mostrados na Tabela 18 os resultados da análise química do solo do segundo experimento, no qual é observado que não há nenhuma diferença que explique as variações sobre a severidade e ocorrência da sarna comum da batata entre os parâmetros analisados, exceto os tratamentos aplicados, fortalecendo as averiguações aqui obtidas sobre a ação dos *Trichoderma*.

Tabela 18 – Análise química de solo das faixas de área do segundo experimento. Vitória da Conquista-BA, 2019

Cobertura	M.O	pH	K	P ¹	H+Al	Ca	Mg	SB	CTC	V
	dag dm ⁻³		----mg dm ⁻³ ---				-----cmol dm ⁻³ -----			%
T	2,27	5,5	142	152,5	5,6	2,5	0,8	3,62	9,26	39
TL	2,23	5,5	150	164,5	5,7	2,9	0,7	3,99	9,67	38
TH	2,35	5,4	142	149,7	6,2	2,6	0,8	3,78	9,95	41

¹Melich

Os resultados dos experimentos *in vitro*, *in vivo* e *in locu* mostraram que há forte relação antagonista das espécies fúngicas de *Trichoderma* sobre a *Streptomyces* sp. fitopatogênica, contudo, outros estudos nesse sentido podem confirmar e elucidar, sobretudo, as interações entre esses microrganismos e criar, assim, melhores estratégias biotecnológicas para controle do fitopatógeno.

5 CONCLUSÃO

Os antagonistas *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma harzianum* e *Bacillus subtilis* inibem o crescimento da colônia de *Streptomyces* sp. *in vitro*, sendo exercida a antibiose por metabólitos voláteis e metabólitos não voláteis no controle do fitopatógeno. As espécies de *Trichoderma* e o *Bacillus subtilis* + *Enterococcus faecium* também exercem o antagonismo *in vivo* em tubérculos de batata, reduzindo a severidade da doença e as perdas ocasionadas pela *Streptomyces* sp.

O *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma harzianum*, na presença de restos vegetais de ervilhaca, mostraram-se mais eficientes no controle da sarna comum de tubérculos de batata, proporcionada por *Streptomyces* sp., para as condições de cultivo da Chapada Diamantina – BA.

REFERÊNCIAS

AITTAMAA, M.; SOMERVUO, P.; LAAKSO, I.; AUVINEN, P. VALKONEN, J. P. T. Microarray-based comparison of genetic differences between strains of *Streptomyces turgidiscabies* with focus on the pathogenicity island. **Molecular Plant Pathology**, v. 11, p. 733-746, 2010.

AKINRINLOLA, R. J.; YUEN, G. Y.; DRIJBER, R. A.; ADESEMOYE, A. O. Evaluation of *Bacillus* strains for plant growth promotion and predictability of efficacy by in vitro physiological traits. **International Journal of Microbiology**, v. 114, p. 1-11, 2018.

ALVES, A. L.; NUNES, M. Uso de *Trichoderma* spp. no controle de antracnose na cultura do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*). **Revista Técnico-Científica**, CREA-PR, v. 4, p. 1-14, 2016.

ARAÚJO, A. S. **Biochar e *Trichoderma harzianum* no controle de *Macrophomina phaseolina***. 2018. 70 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Curso de Pós graduação em Agronomia, Universidade de Brasília, Brasília, 2018.

ASPRI, M.; O'CONNOR, P.M.; FIELD, D.; COTTER, P.D.; ROSS, P.; HILL, C.; PAPADEMÁS P. Application of bacteriocin-producing *Enterococcus faecium* isolated from donkey milk, in the bio-control of *Listeria monocytogenes* in fresh whey cheese. **International Dairy Journal**, v.33, p.1-9, 2017.

ASTORGA-QUIRÓS, K.; MENESES-MONTERO, K.; ZÚÑIGA-VEJA, C.; BRENES-MADRIZ, J.; RIVERA-MÉNDEZ, W. Evaluación del antagonismo de *Trichoderma* sp. y *Bacillus subtilis* contra tres patógenos del ajo. **Tecnología en Marcha**, v. 27, p. 82-91, 2013.

BABCOCK, M. J.; ECKWALL, E. C.; SCHOTTEL, J. L. Production and regulation of potato-scab-inducing phytotoxins by *Streptomyces scabies*. **Journal of General Microbiology**, v. 139, p. 1579-1586, 1993.

BAIS, H. P.; FALL, R.; VIVANCO, J. M. Biocontrol of *Bacillus subtilis* against infection of *Arabidopsis* roots by *Pseudomonas syringae* is facilitated by biofilm formation and surfactin production. **Plant physiology**, v. 134, p. 307-319, 2004.

- BAKER, K. F.; COOK, R. J. Biological control of plant pathogens. **Experimental Agriculture**. v. 11, p. 159, 1975.
- BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A. M.; LIMÓN, M. C.; CODÓN, A. C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology**, v.7, p.249-260, 2004.
- BETTIOL, W.; GHINI, R. Controle biológico In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (ed.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v.1. p.717-728.
- BRUEHL, G.W. **Soil borne Plant Pathogens**. New York. Macmillan Publishing Company. 1987. 368p.
- CAMPOS SILVA, J.R.; SOUZA, R.M.; ZACARONE, A.B.; SILVA, L.H.C.P.; CASTRO, A.M.S. Bactérias endofíticas no controle e inibição *in vitro* de *Pseudomonas syringae* pv. tomato, agente da pinta bacteriana do tomateiro. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, p.1062-1072, 2008.
- 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, 1995.
- CHAURASIA, B.; PANDEY, A.; PALNI, L. M. S.; TRIVEDI, P.; KUMAR, B.; COLVIN, N. Diffusible and volatile compounds produced by an antagonistic *Bacillus subtilis* strain cause structural deformations in pathogenic fungi *in vitro*. **Microbiological Research**, v. 160, p.75-81, 2005.
- CHEN, Y.; FANG, Y.; CHAI, Y.; LIU, H.; KOLTER, R.; LOSICK, R.; GUO, J. Biocontrol of tomato wilt disease by *Bacillus subtilis* isolates from natural environments depends on conserved genes mediating biofilm formation. **Environmental Microbiology**, v. 15, p. 848–864, 2014.
- COMPARONI, R. **Caracterização da diversidade genética de linhagens de *Streptomyces scabiei* e avaliação do potencial antagônico de microrganismos no controle da sarna da batata**. 2015. 85f. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) - Instituto Biológico de Campinas, Campinas, 2015.
- CONTRERAS-CORNEJO, H. A.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L.; CORTÉS-PENAGOS, C.; LÓPEZ-BUCIO, J. *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through

an auxin-dependent mechanism in arabidopsis. **Plant Physiology**, v. 149, p. 1579-1592, 2009.

CORRÊA, D. B. A. **Caracterização morfológica, patogênica e molecular de linhagens de *Streptomyces* associadas à sarna da batata de diferentes regiões produtoras do Brasil**. 2011, 169p. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

CORRÊA, D. B. A. **Caracterização de novas espécies de *Streptomyces* associadas à sarna da batata no Brasil**. 2015, 176 p. Tese (Doutorado em Genética e Biologia Molecular) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2015.

DAVIS, J. R.; McDOLE, R. E; CALLIMAN, R. H. Fertilizers effects on common scab of potato and the relations of calcium and phosphate-phosphorus. **Disease Control and Pest Management**, v. 66, p.1236-1241, 1976.

DEBODE, JANE.; TENDER, C.; CREMELIE, P.; LEE, A. S.; KYNDT, T.; MUYLLE, H.; SWAEF, T. D.; VANDECASTEELE, Bart. *Trichoderma*-Inoculated *Miscanthus* straw can replace peat in strawberry cultivation, with beneficial effects on disease control. **FrontiersPlant Science**, v. 9, p.1-15, 2018.

DIAS, J. A. C.; IAMUTI, M. T. Doenças da Batateira. In: KIMATI, H. et al. (org.). **Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. 2v. cap. 17. p. 118-142.

DOMINGUES, M. S.; BERMANN, C. O arco de desflorestamento na Amazônia: da pecuária à soja. **Ambiente & Sociedade**, v. 15, p. 1-22, 2012.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS(FAO). **Levantamento de dados de comércio da batata**. Disponível em:<<http://www.fao.org/faostat/en/#data/TP>>. Acesso em: 03 mar. 2019.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, p. 110-112, 2014.

FERNANDES, R. H.; VIEIRA, B. S.; FUGA, C. A. G.; LOPES, E. A. *Pochonia chlamydosporia* e *Bacillus subtilis* no controle de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* em mudas de tomateiro. **Bioscience Journal**, v. 30, p. 194-200, 2014.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo Manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3. ed. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2008. 421 p.

FISCHER, I. H.; MARTINS, M. C.; LOURENÇO, S. A.; KIMATI, H. Efeito de fertilizantes e fungicidas no controle de *Streptomyces scabies* em batata. **Summa Phytopathologica**, v.31, p.236-240, 2005.

FISCHER, I. H.; TEIXEIRA, A. P. M.; TOFFANO, L. GARCIA, E. O. MARTINS, M. C.; LOURENÇO, S. A.; KIMATI, H. Reação de cultivares de batata a *Streptomyces scabies*, agente causal da sarna comum profunda. **Summa Phytopathologica**, v. 35, n. 3, p. 219-222, 2009.

FONSÊCA NETO, J.; DANTAS, A. M. M.; SILVA, F. H. A.; CRUZ, B. L. S.; AMBRÓSIO, M. M. Q.; NASCIMENTO, S. R. C. Efeito de adubo verde e *Trichoderma harzianum* na sobrevivência de *Fusarium solani* e no desenvolvimento do meloeiro. **Revista Agro@ambiente**, v. 10, p. 44-49, 2016.

GAMS, W.; MEYE, W. What exactly is *Trichoderma harzianum*? **Mycologia**, v. 90, p. 904-915, 1998.

GARCIA, E. O. **Resistência de cultivares de batata (*Solanum tuberosum*) à sarna comum (*Streptomyces* spp.) e mecanismo de ação da fitotoxina taxtomina A em sorgo (*Sorghum bicolor*): aspectos bioquímicos e ultraestruturais**. 2008. 92f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) –Escola Superior de Agricultura Luis de Queiroz, Piracicaba, 2008.

GAVA, C. A. T.; MENEZES, M. E. L. Eficiência de isolados de *Trichoderma* spp no controle de patógenos de solo em meloeiro amarelo. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, p. 633-640, 2012.

GÖRGEN, C. A.; SILVEIRA NETO A. N.; CARNEIRO, L. C. RAGAGNIN, V.; LOBO JUNIOR, MURILLO. Controle do mofo-branco com palhada e *Trichoderma harzianum* 1306 em soja. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 44, p. 1583-1590, 2009.

GRANJA, N. P.; HIRANO, E.; SILVA, G. O. Metodologia para avaliação do índice de severidade de doença em amostras de tubérculos de batata. **Horticultura Brasileira**, v. 31, p. 20-21, 2013.

HAN, J. S.; CHENG, J. H.; YOON, T. M.; SONG, J.; RAJKARNIKAR, A.; KIM, W. G.; YOO, I. D.; YANG, Y. Y.; SUH, J. W. Biological control agent of common scab disease by antagonistic strain *Bacillus* sp. sunhua. **Journal of Applied Microbiology**, v. 99, p. 213–221, 2005.

HARMAN, G. E. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, v.96, p.190-194, 2006.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola – LSPA**. Disponível em: <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=5&ved=2ahUKEwjCOLjEksnhAhWhLLkGHRkbCMAQFjAEegQIAxAC&url=ftp%3A%2F%2Fftp.ibge.gov.br%2FProducao_Agricola%2FLevantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_%5Bmensal%5D%2FFasciculo%2F2017%2Flspa_201712.pdf&usg=AOvVaw3t7mQsrHsja4EbKzMesPR->> Acesso em: 11 abr. 2019.

JAMES, W. C. An illustrated series of assessment keys for plant diseases, their preparation and usage. **Canadian Plant Disease Survey**, v. 51, p. 39-65, 1971.

KRUGNER, T. L.; BACCHI, L. M.A. Fungos. In: BERGAMIM FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. (ed.). **Manual de Fitopatologia**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. p. 46-95.

LAZAROVITS, G.; HILL, J.; PATTERSON, G., CONN, K. L.; CRUMP, N. S. Edaphic soil levels of mineral nutrients, pH, organic matter, and cationic exchange capacity in the geocaulosphere associated with potato common scab. **Phytopathology**, v. 97, p.1071-1082, 2007.

LEELASUPHAKUL, W.; HEMMANEE, P.; CHUENCHITT, S. 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, p.113-121, 2008.

LERAT, S.; SIMAO-BEAUNOIR, A. M.; BEAULIEU, C. Genetic and physiological determinants of *Streptomyces scabies* pathogenicity. **Molecular Plant Pathology**, v. 10, p. 579–585, 2009.

LEELAVATHI, M. S.; VANI, L.; REENA, PASCAL. Antimicrobial activity of *Trichoderma harzianum* against bacteria and fungi. **International Journal Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 3, p.96-103, 2014.

LOPES, C. A. Controle integrado de doenças bacterianas da batata. In: ZAMBOLIM, L. (ed.). **Produção integrada da batata**. Viçosa, MG: Departamento de Fitopatologia, 2011. p. 28 -34.

MONTEIRO, T. S. A. **Ação combinada de *Pochonia chlamydosporia* e outros microrganismos no controle do nematoide de galhas e no desenvolvimento vegetal**. 2017. 100f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) –Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2017.

MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, 2009. p. 7-14.

NICK, C.; BORÉM, A. **Batata do plantio a colheita**. Viçosa: Ed. UFV, 2017. 221p.

NIETO-JACOBO, M. F.; STEYAERT, J. M.; SALAZAR-BADILLO, F. B.; VINGUYEN, D.; ROSTÁS, M.; BRAITHWAITE, M.; DE SOUZA, J. T.; JIMENEZ-BREMONT, J. F.; OHKURA, M.; STEWART, A.; MENDOZA-MENDOZA, A. Environmental growth conditions of *Trichoderma* spp. affects indole acetic acid derivatives, volatile organic compounds, and plant growth promotion. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p.1-18, 2017.

NUNES, H. T.; MONTEIRO, A. C.; POMELA, A. W. V. Uso de agentes microbianos e químico para o controle de *Meloidogyne incognita* em soja. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 32, p. 403-409, 2010.

OLIVEIRA, G. R. F.; SILVA, M. S.; PROENÇA, S. L.; BOSSOLANI, J. W.; CAMARGO, J. A.; FRANCO, F. S.; SÁ, M. E. Influência do *Bacillus subtilis* no controle biológico de nematoides e aspectos produtivos do feijoeiro. **Brazilian Journal of Biosystems Engineering**, v. 11, p. 47-58, 2017.

OLIVEIRA, J. B.; MUNIZ, P. H. P. C.; PEIXOTO, G. H. S.; OLIVEIRA, T. A. S.; DUARTE, E. A. A.; RODRIGUES, F.; CARVALHO, D. D. C. Promotion of seedling growth and production of wheat by using *Trichoderma* spp. **Journal of Agricultural Science**, v. 10, p. 267-276, 2018.

PEIXINHO, G. S.; SANTOS, C. M. G.; RIBEIRO, V. G.; AMORIM, E. P. R.; BISPO, J. S.; CARVALHO, V. N. Avaliação da eficiência de extratos de plantas nativas da caatinga sobre o controle da podridão seca (*Lasiodiplodiatheobromae*) em cachos da videira cv. Itália. **Summa Phytopathologica**, v.43, p.155-157, 2017.

PEREIRA, A. S.; DANIELS, J. **O cultivo da batata na região sul do Brasil**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. 567p.

POWELSON, M. L.; JOHNSON, K. B.; ROWE, R. C. Management of diseases caused by soilborne pathogens. In: Rowe, R. C. (Ed.). **Potato health management**, St. Paul, MN/EUA: American Phytopathological Society, 1993. p. 149-158.

- PUNJA, Z.K.; UTKHEDE, R.S. Using fungi and yeasts to manage vegetable crop diseases. **Trends in Biotechnology**, v.21, p.400-407, 2003.
- RADHAKRISHNAN, R.; HASHEM, A.; ABD_ALLAH, E. F. Bacillus: a biological tool for crop improvement through bio-molecular changes in adverse environments. **Frontiers Physiology**, v. 8, p. 1-14, 2017.
- RODRIGUES NETO, J.; DÉSTEFANO, S. A. L.; SHIMOYANA, N. **A sarna da batata causada por *Streptomyces* spp.** Itapetininga, SP: Associação Brasileira da Batata, 2008. 32 p. (Publicação Técnica – ABBA).
- ORTEGA-MORALES, B. O.; ORTEGA-MORALES, F. N; LARA-REYNA, J.; DE LA ROSA-GARCÍA, S. C.; MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, A.; MONTERO-M, J. Antagonism of *Bacillus* spp. isolated from marine biofilms against terrestrial phytopathogenic fungi. **Marine Biotechnology**, v. 11, p. 375-383, 2009.
- RYAN, A. D.; KINKEL, L. L.; SCHOTTEL, J. L. Effect of pathogen isolate, potato cultivar, and antagonist strain on potato scab severity and biological control. **Biocontrol Science and Technology**, v.14, p.301-311, 2010.
- SAITO, L. R.; SALES, L. L. S. R.; MARTINCKOSKI, L.; ROYER, R.; RAMOS, M. S.; REFFATTI, T. Aspectos dos efeitos do fungo *Trichoderma* spp. no biocontrole de patógenos de culturas agrícolas. **Pesquisa Aplicada &Agrotecnologia**, v.2, p.203-208, 2009.
- SAMUELS, G. J.; ISMAIEL, A.; MULAW, T. B.; SZAKACS, G.; DRUZHININA, I. S.; KUBICEK, CHRISTIAN P.; JAKLITSCH, W. M. The *Longibrachiatum* Clade of *Trichoderma*: a revision with new species. **Fungal Diversity**, v. 55, p.77-108, 2012.
- SANTOS, D. R. **Isolamento e seleção de bactérias antagonistas a fitopatógenos e detecção de genes associados a produção de compostos.** 2014, 58 p. Dissertação (Mestrado em Agricultura e Biodiversidade) –Universidade Federal de Sergipe. São Cristovão, 2014.
- SHAN-SHAN, X.; HUI-JUN., W.; HAO-YU, Z.; LI-MING, W.; QING-QING, Z.; XUE-WEN, G. Plant growth promotion by spermidine-producing *Bacillus subtilis* OKB105. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 27, p. 655–663, 2014.

SHIRLING, E. B.; GOTTLIEB, D. Methods for characterization of *Streptomyces* species. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 16, p. 313-340, 1966.

SILVA, F. P. M.; GAVASSONI, W. L.; BACCHI, L. M. A.; GARCEZ, F. R. Germinação carpogênica de *Sclerotinia sclerotiorum* sob diferentes resíduos e extratos de plantas cultivadas. **Summa Phytopathologica**, v. 37, p. 131-136, 2011.

SOUZA, J. R.; REBOUÇAS, T. N. H.; LUZ, J. M. Q.; AMARAL, C. L. F.; FIGUEIREDO, R. M.; SANTANA, C. M. P. Potencialidade de fungicidas biológicos no controle de requeima do tomateiro. **Horticultura Brasileira**, v. 32, p. 115-119, 2014.

STEYAERT, J. M.; RIDGWAY, H. J.; ELAD, Y.; STEWART, A. Genetic basis of mycoparasitism: a mechanism of biological control by species of *Trichoderma*. **New Zeal Journal Crop Horticultural Science**, v.31, p.281-91, 2003.

STRAGIER, P.; LOSICK, R. Molecular genetics of sporulation in *Bacillus subtilis*. **Annual Reviews of Genetics**, v.30, p.297-341, 1996.

TARIQ, M.; YASMIN, S.; HAFEEZ, F. Y. Biological control of potato black scurf by rhizosphere associated bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 41, p.439-451, 2010.

TAVARES, G. M. **Podridão do pé do mamoeiro**: infestação em solos de cultivo, controle alternativo com indutores de resistência e *Trichoderma* e avaliação dos mecanismos de defesas envolvidos. 2009, 113 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2009.

VARGAS, L. K.; SCHOLLES, D. Biomassa microbiana e produção de C-CO₂ e N mineral de um podzólico vermelho-escuro submetido a diferentes sistemas de manejo. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v. 24, p. 35-42, 2000.

VENTUROSO, L. R.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L.; CONUS, L. A.; PONTIM; B.C.A.; SOUZA, F.R. Inibição do crescimento *in vitro* de fitopatógenos sob diferentes concentrações de extratos de plantas medicinais. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.78, p.89-95, 2011.

VICENTE, M. F; CABELLO, A.; PLATAS, G.; BASILIO, A.; DÍEZ, M. T.; DREIKORN, S.; GIACOBBE, R. A.; ONISHI, J.C.; MEINZ, M.; KURTZ, M. B.; ROSENBAACH, M.; THOMPSON, J.; ABRUZZO, G.; FLATTERY, A.;

KONG, L.; TSIPOURAS, A.; WILSON, K. E.; PELÁEZ, F. Antimicrobial activity of ergokonin A from *Trichoderma longibrachiatum*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 91, p.806–813, 2001

VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L.; MARRA, R.; WOO, S. L.; LORITO, M. *Trichoderma*–plant–pathogen interactions. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 40 p. 1-10, 2008.

VIOLA, R.; BENIN, G.; CASSOL, L. C.; PINNOW, C.; FLORES, M. F.; BORNHOFEN, E. Adubação verde e nitrogenada na cultura do trigo em plantio direto. **Bragantia**, v. 72, p.90-100, 2013.

VIZCAÍNO, J. A.; SANZ L.; BASILIO,, A.; VICENTE, F.; GUTIERREZ, S.; HERMOSA, M. R., MONTE, E. Screening of antimicrobial activities in *Trichoderma* isolates representing three *Trichoderma* sections. **Mycological Research**, v. 109, p.1397-1406, 2005.

WAKSMAN, S. A.; HENRICI, A. T. The nomenclature and classification of the actinomycetes. **Journal Bacteriology**, v. 46, p. 237-241, 1943.

WATERER, D. Impact of high soil pH on potato yields and grade losses to common scab. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 82, p.583-586, 2002.

YAO, A.; BOCHOW, H.; KARIMOV, S.; BOTUROV, U.; SANGINBOY, S.; SHARIPOV, A. Effect of FZB 24® *Bacillus subtilis* as a biofertilizer on cotton yields in field tests. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v.39, p.323-328, 2006.

YENDYO, S.; RAMESH, G. C.; PANDEY, B. R. Evaluation of *Trichoderma* spp., *Pseudomonas fluorescense* and *Bacillus subtilis* for biological control of *Ralstonia* wilt of tomatoes. **F1000 Research**, v. 6, p. 2-13, 2017.

ZHANG, S.; GAN, Y.; XU, B. Application of plant-growth-promoting fungi *Trichoderma longibrachiatum* T6 enhances tolerance of wheat to salt stress through improvement of antioxidative defense system and gene expression. **Frontiers Plant Science**, v. 7, p.1-11, 2016.

APÉNDICE

Tabela 1A – Quadrados médios dos testes de pareamento *in vitro*

FV	GL	Pareamento direto	Voláteis	Não voláteis
Tratamentos	5	1945,751967**	237,491697**	513,665524**
Erro	18	42,296394	50,398128	46,568565
CV (%)	-	12,66	23,98	22,71

*Significativo pelo teste F ($p < 0,05$); ** Significativo pelo teste F ($p < 0,01$); ^{ns} Não significativo pelo teste F ($p < 0,05$).

Tabela 2A – Quadrados médios do teste de antagonismo *in vivo*

FV	GL	Nº tuber lesão	Área da lesão	Severidade	Perdas
Tratamentos	6	18,523810 *	96,393505 ^{ns}	429,968254*	765,852741 *
Erro	14	6,333333	90,546690	144,952381	173,044738
CV (%)	-	51,12	53,56	55,77	44,69

*Significativo pelo teste F ($p < 0,05$); ** Significativo pelo teste F ($p < 0,01$); ^{ns} Não significativo pelo teste F ($p < 0,05$).

Tabela 3A – Quadrados médios de produção do primeiro experimento *in locu*

FV	GL	Produção total	Produção comercial
Blocos	2	-	-
Fator A	1	12453245,171 ^{ns}	39304800,951 ^{ns}
Resíduo A	2	5010089,8757	3171629,9707
CV A (%)	-	14,272855	22,453314
Fator B	4	11903574,856 ^{ns}	9788800,4616 ^{ns}
Resíduo B	8	4248433,6120	3694186,5874
CV B (%)	-	13,143242	24,232522
Interação AxB	4	15625060,073 ^{ns}	7409823,7296 ^{ns}
Resíduo AxB	8	5497234,6040	4777300,5822
CV AxB (%)	-	14,950655	27,556908

*Significativo pelo teste F ($p < 0,05$); ** Significativo pelo teste F ($p < 0,01$); ^{ns} Não significativo pelo teste F ($p < 0,05$).

Tabela 4A – Quadrados médios de produção do segundo experimento *in locu*

FV	GL	Produção total	Produção comercial
Tratamentos	2	45932476,527 ^{ns}	3493678485,5 ⁸
Blocos	17	14161566,295	81060029,255
Resíduo	34	28347261,914	58038472,735
CV (%)	-	8,4868994	21,742653

*Significativo pelo teste F ($p < 0,05$); ** Significativo pelo teste F ($p < 0,01$); ^{ns} Não significativo pelo teste F ($p < 0,05$).

Tabela 5A – Quadrados médios de severidade e perdas por sarna comum do primeiro experimento *in locu*

FV	GL	Nº tuber lesão	Área de lesão	Severidade	Perdas
Blocos	2	-	-	-	-
Tratamentos	1	3846,3098700*	341,38133333 ^{ns}	7616,1333333*	2742,3589456*
Resíduo A	2	66,465640000	20,457173333	257,43333333	67,206754786
CV A (%)	-	12,861295	54,589966	18,729256	16,539019
Fator B	4	390,55871333**	13,375253333 ^{ns}	574,75000000 ^{ns}	314,1603514**
Resíduo B	8	10,294040833	25,380253333	176,72500000	43,767711846
CV B (%)	-	5,0614977	60,804818	15,518049	13,346894
Interação AxB	4	15625060,073**	10,749333333 ^{ns}	145,88333333 ^{ns}	143,28833776 ^{ns}
Resíduo AxB	8	284,77948667	8,6245733333	98,558333333	72,726911707
CV AxB (%)	-	9,9227594	35,445314	11,588702	17,204849

*Significativo pelo teste F ($p < 0,05$); ** Significativo pelo teste F ($p < 0,01$); ^{ns} Não significativo pelo teste F ($p < 0,05$).

Tabela 6A – Quadrados médios de severidade e perdas por sarna comum do segundo experimento *in locu*

FV	GL	Nº tuber lesão	Área de lesão	Severidade	Perdas
Tratamentos	2	22319,953144**	117,05689268*	3718,8571429*	7427,1149433*
Blocos	17	1183,9441417 ^{ns}	21,411984615 ^{ns}	479,11111111 ^{ns}	108,27574963 ^{ns}
Resíduo	34	793,22324861	19,075198420	733,96825397	182,72439519
CV (%)	-	39,800583	53,574695	48,378301	36,691285

*Significativo pelo teste F ($p < 0,05$); ** Significativo pelo teste F ($p < 0,01$); ^{ns} Não significativo pelo teste F ($p < 0,05$).