

AVALIAÇÃO DA AMPLITUDE DE AÇÃO ANTAGONÍSTICA DE MICRORGANISMOS EPIFITAS DO TRIGO SOBRE O CRESCIMENTO RADIAL DE *Drechslera tritici-repentis*

LINHARES, Andréa, I.¹; MATSUMURA, Aida T.S.¹ & LUZ, Vilmar C.²

¹UFRGS, Caixa Postal 776, CEP 90001-970 Porto Alegre, RS

²EMBRAPA-Centro Nacional de Pesquisa de Trigo (CNPT), Caixa Postal, 569, CEP 99001-970 Passo Fundo, RS
(Recebido para publicação em 20/07/95)

RESUMO

Avaliou-se "in vitro" o comportamento de 100 microrganismos (bactérias e leveduras), isolados de plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.), oriundas de diferentes regiões do Brasil, contra diferentes isolados de *Drechslera tritici-repentis*, agente causal da mancha bronzeada. Detectou-se uma variabilidade na ação dos microagentes frente aos isolados do patógeno. Baseado nesta variabilidade, formou-se, de acordo com o efeito no crescimento radial de *D. tritici-repentis*, 48 grupos de isolados microbianos. O melhor dos grupos, representando 12% da população testada, apresentou um controle de 80 a 100% sobre todos os isolados do agente fitopatogênico. Estes microrganismos são identificados pelos seguintes códigos: 9/88.2Lev3, 18/89.3B, 43/89.9.4B, 14/90.25.3Lev, 7/91.14.2Lev, 7/91.15.3Lev, 31/91.5.1B, 50/91.7.2B, 51/91.12.3C, 53/91.5.1C, 8/93.4Lev e 14/93.4Lev. Entre os microrganismos testados 42% demonstraram um comportamento uniforme frente a todos os isolados de *D. tritici-repentis*. No entanto, mais da metade da população microbiana, 58%, não mantiveram uma uniformidade.

Palavras-chave: trigo, controle microbiológico, antagonismo, microrganismos epífitas, *Drechslera tritici-repentis*.

ABSTRACT

The behavior of 100 microorganisms (bacteria and yeasts), isolated of wheat plants (*Triticum aestivum* L.) collected from different areas in Brazil, was evaluated "in vitro" against different isolates of *Drechslera tritici-repentis*, the causal agent of tan spot. The interaction between microorganisms and isolates of *D. tritici-repentis* was variable. Based on such variability, 48 groups were formed between the microbial isolates, in accordance with the effect of these isolates on the radial growth of *D. tritici-repentis*. The best group, representing 12% of the population tested, showed 80-100% control over all isolates of the phytopathogenic agent. The microorganisms are identified for the next codes: 9/88.2Lev3, 18/89.3B, 43/89.9.4B, 14/90.25.3Lev,

7/91.14.2Lev, 7/91.15.3Lev, 31/91.5.1B, 50/91.7.2B, 51/91.12.3C, 53/91.5.1C, 8/93.4Lev and 14/93.4Lev. Between the tested microorganisms 42% showed a uniform behaviour against all isolates of *D. tritici-repentis*. But, more of one-half of the microbial populations, 58 %, didn't show a uniformity.

Key-words: wheat, microbiology control, antagonism, *Drechslera tritici-repentis*

INTRODUÇÃO

O agente fitopatogênico indutor da doença do trigo (*Triticum aestivum* L.) conhecida por mancha bronzeada ou mancha amarela, *Drechslera tritici-repentis* (Died.) Shoem. [sinônimos: *Helminthosporium tritici-repentis* Died.; *D. tritici-vulgaris* (Nisikado) Ito.], teleomorfa *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drech. [sinônimo: *P. trichostoma* (Fr.) Fckl.], vem se tornando potencialmente destrutivo no Rio Grande do Sul, principalmente como consequência da difusão de técnicas de cultivo mínimo que preconizam a manutenção da resteva.

Patógeno de ocorrência mundial (LUZ, 1979), além da cultura do trigo ataca outras gramíneas (HOSFORD Jr., 1982; KRUPINSKY, 1982; 1992), sendo que entre elas estão o centeio (*Secale cereale*) e o triticale (*X. Triticosecale*). A cevada (*Hordeum vulgare*) é afetada economicamente em casos raros (SUMMERELL & BURGESS, 1988) e raramente o patógeno ocorre em aveia (*Avena sativa*).

A mancha bronzeada atingiu predominância entre as doenças do trigo na região do Cone Sul durante os últimos quatro anos (KOHLEI et al., 1992). No Brasil é encontrada nos estados do Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul (LUZ, 1982c) e São Paulo (MEHTA & GAUDÊNCIO, 1991). Recentemente, foi constatada sua presença em sementes de trigo do Mato Grosso do Sul (LINHARES & LUZ, 1994). Perdas de 36% no rendimento da cultura do trigo foram atribuídas à mancha bronzeada em avaliações no Paraná (MEHTA & GAUDÊNCIO, 1991).

As medidas de controle recomendadas para a

doença compreendem: rotação de culturas, pousio, incorporação dos restos culturais, utilização de cultivares resistentes e tratamento com fungicidas. Porém, fatores econômicos, sociais e limitações associadas a estas medidas impõem certas restrições ao sucesso do controle de *D. tritici-repentis*. Cultivares resistentes são ameaçadas pela influência da temperatura (LUZ & BERGSTROM, 1986), o genótipo, o estágio de crescimento e o isolado patogênico (HOSFORD Jr. et al., 1990), por exemplo LUZ (1988a) ressalta que alguns isolados podem provocar altos níveis de severidade em genótipos resistentes. E, apesar dos germoplasmas brasileiros serem considerados como dos mais resistentes (REES & PLATZ, 1989) os genes de resistência ainda não conferem resistência completa (LUZ & BERGSTROM, 1986). Medidas comprometidas com a diminuição do inóculo primário, proveniente dos restos culturais, são ameaçadas pela amplitude de gramíneas que servem como hospedeiros secundários. Além disso, REES et al. (1982) observaram que mesmo uma quantidade pequena de inóculo, reduzida por rotação ou manejo de resíduos, pode promover incidência severa da doença. As restrições quanto ao uso de fungicidas estão relacionadas ao custo, a possibilidade de aquisição de resistência pelo patógeno e as consequências negativas para o ecossistema.

Além da quantidade, a busca por qualidade aliadas à redução de custos influenciam um novo padrão tecnológico na agricultura favorecendo a integração do controle microbiológico de doenças no sistema. O desenvolvimento de técnicas moleculares aliadas às tecnologias de biocontrole contribuirão grandemente para avanços rápidos e elucidacões importantes nesta área (BAKER & COOK, 1983).

No Brasil, êxito com agentes no controle microbiológico foi alcançado com a premunização de plantas cítricas para o controle do vírus da tristeza (MÜLLER & COSTA, 1991), a utilização de *Trichoderma viride* para o controle de *Phytophthora cactorum* na macieira (VALDEBENITO-SANHUEZA, 1991) e o controle de *Catacauma torrendiella* e *Coccostroma palmicola* em coqueiro por *Acremonium alternatum* e *A. persicicum* (SUDO, 1989).

Na cultura do trigo são vários os patógenos que vem sendo controlados por agentes microbianos e/ou seus produtos (FOKKEMA & VAN DER MEULLEN, 1976; FOKKEMA et al., 1979; FRADKIN & PATRICK, 1981; BILLES & HILL, 1983; LUZ, 1985; ALVES et al., 1990; LUZ, 1988a,b,c, 1990a,b, 1991a,b,c; SANTOS et al., 1991; PERONDI, 1992; LUZ, 1993a). O controle microbiológico específico de *D. tritici-repentis* vem sendo registrado em trabalhos voltados para a diminuição da formação de pseudotécios (GOUGH &

GHAZANFARI, 1982; PFENDER, 1988; PFENDER et al., 1989; PFENDER et al., 1991b; ZHANG & PFENDER, 1992), a microbiolização de sementes (LUZ, 1989; LUZ, 1991e; LUZ, 1992a), a diminuição do número de lesões nas folhas (NORMAN & BÖCKUS, 1986; LUZ & BERGSTROM, 1987; LI & SUTTON, 1990) e testes "in vitro" para avaliação do crescimento micelial (GOUGH & GHAZANFARI, 1982; LUZ 1988c; PFENDER et al., 1991a).

Uma questão que surge com a adoção de medidas de controle, é sobre a eficiência das mesmas contra diferentes isolados ou raças dos patógenos. Com relação à *D. tritici-repentis* já foi constatado que os isolados podem diferir em virulência com relação às cultivares de trigo (LUZ & HOSFORD Jr., 1980; LAMARI & BERNIER, 1989). Para o controle microbiológico de *D. tritici-repentis* nenhum estudo foi realizado utilizando mais de um isolado do patógeno.

Este trabalho tem por finalidade avaliar o comportamento de microrganismos epifitas do trigo frente a diferentes isolados de *D. tritici-repentis* "in vitro" visando o biocontrole.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção dos isolados fitopatogênicos

Dos 10 isolados (Tabela 1) de *D. tritici-repentis* utilizados para a realização dos testes "in vitro", 3 (2 de Passo Fundo, RS e 1 de Uberlândia, MG) foram cedidos pelo Laboratório de Fitopatologia do Centro Nacional de Pesquisa de Trigo (CNPT-EMBRAPA). Para a obtenção dos 7 isolados restantes, utilizaram-se amostras de sementes do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) e do Serviço de Multiplicação de Sementes do CNPT. As sementes foram desinfestadas por submersão em solução de hipoclorito de sódio (Q-bona comercial) (volume = 1 parte de água e 1 parte do produto comercial) por 2 minutos. Em placa de Petri contendo meio BDA (batata-dextrose-ágar) com antibiótico, depositaram-se 10 sementes equidistantes entre si (LUZ, 1980). Este procedimento foi realizado com 5 repetições, totalizando 50 sementes/amostra. Foram avaliadas 85 amostras de semente. As placas foram mantidas em câmara de crescimento sob luz fluorescente branca, a uma distância de 25 cm, a temperatura de 22°C e fotoperíodo de 12 horas até o aparecimento de colônias fúngicas.

As colônias que se desenvolveram foram observadas 4 a 7 dias após o plaqueamento. Aquelas que apresentaram características relacionadas à colônia de *D. tritici-repentis* foram transferidas, isoladamente, para placas de Petry com meio ¼ BDA com antibiótico e incubadas por 7 dias em câmara de crescimento.

TABELA 1 - Caracterização de dez isolados de *Drechslera tritici-repentis* utilizados em testes "in vitro"

Isolado	Local	Ano	Genótipos	Fonte de isolamento
A	Passo Fundo (RS)	92	---	Folha
B	Passo Fundo (RS)	92	---	Palha
C	Uberlândia (MG)	92	---	Folha
D	Dourados (MS)	92	GD 88158	Semente
E	Londrina (PR)	--	IAPAR 18-Marumbi	Semente
F	Cruz Alta (RS)	92	RS 8	Semente
G	Aratiba (RS)	88	Debulhador	Semente
H	Chapecó (SC)	88	Ardito Branco	Semente
I	Capinzal (SC)	88	Fungareto	Semente
J	Mondai (SC)	88	Furbo	Semente

Obtenção dos microrganismos epífitas

Entre os 100 microrganismos testados (bactérias e leveduras), 60 pertencem à coleção do Laboratório de Fitopatologia do CNPT, sob responsabilidade do Dr. Wilmar Cório da Luz. Os demais 40 foram isolados de sementes de trigo de diferentes locais a partir de amostras cedidas pelo BAG e pelo Serviço de Multiplicação de Sementes do CNPT. A metodologia de isolamento utilizada foi a descrita por LUZ (1990b). A partir de suspensões produzidas em tubos de ensaio com as sementes em água destilada e esterilizada, preparou-se 3 diluições de cada amostra, 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} . Das diluições 10^{-2} e 10^{-3} retiraram-se alíquotas de 0,1 ml que foram plaqueadas em $\frac{1}{4}$ BDA e após a incubação obteve-se colônias individuais de bactérias e leveduras. As culturas, repicadas em placas distintas, desenvolveram-se por 24 a 48 horas em câmara de crescimento. Para a descontaminação das colônias utilizou-se o método de estria em placa. Cada colônia foi repicada para tubos de ensaio com $\frac{1}{4}$ BDA inclinado e, após 24 a 48 horas em câmara de crescimento, foram armazenadas em refrigerador a 4 °C.

Teste de antagonismo "in vitro"

O método de antibiose adotado para verificar a ação dos microrganismos contra os isolados de *D. tritici-repentis* seguiu a metodologia indicada por LUZ (1990b). Suspensões produzidas de cada agente microbiano foram vertidas em placas de Petri com meio $\frac{1}{4}$ BDA e mantidas por 24 horas em câmara de crescimento. Com auxílio de funis de vidro de 5,5 cm de diâmetro, cada isolado foi transferido para o centro de placas de Petri com meio $\frac{1}{4}$ BDA, desenvolvendo-se por 24 horas em câmara de crescimento. No centro dos círculos formados com o crescimento dos microrganismos foram colocados discos de 0,7 cm de diâmetro $\frac{1}{4}$ BDA com micélio de *D. tritici-repentis* provenientes das culturas anteriormente armazenadas. O tratamento somente com o disco do patógeno em meio de cultura foi designado como testemunha. Após decorridos, no mínimo, 7 dias de incubação dos tratamentos em câmara de crescimento, realizou-se a avaliação.

O crescimento radial do patógeno foi avaliado

através da medição unidirecional com uma régua graduada em milímetros. Foram avaliados 100 experimentos, cada um com 11 tratamentos. A percentagem de controle de cada microagente foi calculada e correspondeu ao crescimento micelial do patógeno sob influência do microrganismo em relação à testemunha (LUZ, 1990b). Optou-se por considerar a percentagem de inibição do crescimento radial do patógeno para classificar os agentes microbianos devido à variação no desenvolvimento das respectivas testemunhas entre os isolados de *D. tritici-repentis*. Designou-se eficientes (E) os microrganismos que inibiram de 80 a 100 % o crescimento radial do patógeno. Aqueles que controlaram entre 51 a 79% foram considerados moderadamente eficientes (M). Aos que inibiram menos de 50%, atribui-se a categoria ineficientes (I).

Delineamento experimental

Os tratamentos foram dispostos num desenho inteiramente casualizado compreendendo 4 repetições. Os dados foram transformados em raiz quadrada de $x + 0,5$ e submetidos à análise de variância. As diferenças entre as médias foram determinadas pelo teste de Tuckey a 5 %.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A possibilidade de manipulação de populações de microrganismos epífitas pode ser direcionada para a exploração das funções relacionadas ao biocontrole de patógenos por parte das mesmas (LAST & DE IGHTON, 1965; LAST & WARREN, 1972; FOKKEMA, 1978; DHINGRA & SINCLAIR, 1985). A comunidade microbiana associada à planta de trigo compreende, principalmente, os seguintes gêneros bacterianos: *Bacillus*, *Clavibacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, *Streptomyces* e *Xanthomonas*. As leveduras são representadas, principalmente, pelos gêneros: *Aureobasidium*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula* e *Sporobolomyces* (LUZ, 1982a; LUZ, 1991a). A partir da população epífita colonizadora da planta de trigo foi possível detectar microrganismos que demonstrassem alguma influência, ou mesmo nenhuma, sobre o crescimento radial dos

diferentes isolados de *D. tritici-repentis*.

Considerando a similaridade de ação entre os microrganismos testados sobre o patógeno, reuniu-se os isolados microbianos em 48 grupos (Tabela 2). No grupo nº 48, concentraram-se os agentes que obtiveram o melhor controle (80 a 100% de inibição) sobre os 10 isolados de *D. tritici-repentis*, abrangendo um total de 12 % dos isolados microbianos epifitas. No grupo nº 43 apenas 2% dos microagentes se mostraram moderadamente eficientes (51 a 79% de inibição) para todos os isolados do patógeno. O grupo nº01 foi

composto por 28% dos microrganismos considerados de ação ineficiente (menos de 50% de inibição) para todos os isolados do patógeno. Observando este comportamento, observou-se que 42% dos microrganismos testados demonstraram um desempenho uniforme frente a todos os isolados de *D. tritici-repentis*. Ao passo que 58% da população não apresentou uma uniformidade de ação sobre os 10 isolados do fitopatógeno. Estes resultados indicam a necessidade de se levar em consideração a eficiência dos antagonistas de biocontrole conforme o isolado, ou a raça, de um patógeno.

TABELA 2 - Disposição em grupos conforme a ação antagonística dos microagentes frente aos dez isolados de *Drechslera tritici-repentis*

Gp	Microagentes	Isolados do patógeno*									
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1	12/90.7.2B										
	14/90.25.1L										
	7/91.6.1C										
	10/91.6.1A										
	11/91.5.2A										
	11/91.17.2B										
	11/91.18.1A										
	54/91.6.1A										
	2/93.4AA										
	3/93.4B										
	4/93.4A										
	5/93.4Sr										
	6/93.4C										
	7/93.4Sr										
	10/93.4Sr										
	11/93.4Sr										
	12/93.4Sr										
	15/93.1.4Sr										
	16/93.2.4Sr										
	17/93.3.4Sr										
	20/93.4a										
	25/93.2AA										
	27/93.2AA										
	29/93.1C										
	33/93.4AA										
	34/93.1C										
	36/93.4AA										
	38/93.2.4Sr										
2	1/93.4B									M	
	32/93.2A									M	
3	31/93.4AA								M	M	
	35/93.1B								M		
4	7/91.17.4A						M				
5	4/88.4AA					M					
6	43/91.6.1B				M						
	26/93.1AA				M						
	37/93.1.4Sr				M						
	40/93.2AA				M						
7	7/90.10.2Sr			M							
	14/90.5.1B			M							
	24/93.2AA			M							
8	58/89.6.3A		M								
9	62/88.3Lev	M									
	48/90.14.1A	M									
10	18/93.4A						M	M			
11	46/90.5.2Sr				M			M			
	7/91.16.2A				M			M			
	28/93.1B				M			M			
12	7/88.1Lev1				M	M					
13	41/91.6.4B			M							M
14	7/90.5.2B		M						M		

Continuação (Tabela 2)

Gp	Microagentes	Isolados do patógeno*									
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
15	44/91.5.1Lev		M	M							
16	39/93.2Sr	M									M
17	7/91.7.2A				M	M		M			
18	8/90.5.2B		M		M				M		
19	21/93.2Sr	M						M	M		
20	30/93.1B	M			M				M		
21	7/91.14.1A							M	M	M	M
22	9/91.12.2A	M		M		M	M				
23	13/90.7.1Sr	M					M	M			M
	9/93.4AA	M					M	M			M
24	7/91.8.1B	M		E				M		M	M
25	7/91.20.4A			M			M	M		M	M
26	7/91.28.4A			M		M		M	M		M
27	22/93.2Sr	M				M		M	M		M
28	9/88.1B	M			M		M	M			M
29	9/91.13.2A	M		M	M	M	M				
	48/91.7.1C	M		M	M	M	M				
	53/91.7.1Sr	M		M	M	M	M				
30	46/90.5.2Sr	M		M			M		M	M	
31	32/91.5.2A	M	M						M	M	M
32	23/93.4Sr	M	E		M		M	M			M
33	40/91.6.1B	M		E			M		M	M	
34	9/91.16.2Sr	M		M	M	M	M			M	
35	9/91.14.1B	M		M	M		M	M	M	M	
36	51/90.5.1B	M	M		M	M		M		M	M
37	10/91.5.1B	M		M	M	M	M	M		M	M
38	49/91.6.3B	M		M	M	M	M	M	M		M
39	4/89.2B	M	M	M		M	M	M		M	M
40	9/91.19.2B	M	M	M	M	M		M	M		M
41	48/90.10.1B	M	M	M	M	M	M	M			M
42	9/91.11.1B	M	M	M	M	M	M	M	M		M
43	9/91.8.2B	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
	19/93.4B	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
44	13/93.4R	E	E	E	E	M	M	E	M	E	E
45	9/88.1Lev3	E	E	M	E	E	E	E	E	M	E
46	74/88.2Lev	E	E	M	E	E	E	E	E	E	E
47	50/91.7.3Lev	E	E	E	E	E	E	E	E	M	E
48	9/88.2Lev3	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
	18/89.3B	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
	43/89.9.4B	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
	14/90.25.3Lev	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
	7/91.14.2Lev	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
	7/91.15.3Lev	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
	31/91.5.1B	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
	50/91.7.2B	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
	51/91.12.3C	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
	53/91.5.1C	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
	14/93.4Lev	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E

E = Eficiente (80 a 100 % de inibição sobre o crescimento radial do patógeno).

M = Moderadamente eficiente (51 a 79 %).

I = Ineficiente (menos de 50 %).

* As letras de A a J correspondem aos locais de origem dos isolados do patógeno contidos na Tabela 1.

HOMECHIN (1986) utilizando 4 isolados diferentes de *Trichoderma harzianum* em teste de inibição micelial contra 9 isolados diferentes de *Bipolaris sorokiniana*, obteve antagonismo por parte de todos os isolados de *T. harzianum*. PRESTES *et al.* (1992) controlaram 17 isolados de *Stagonospora nodorum* com 4 microagentes antagonistas. A primeira vista, parece não haver a necessidade de se considerar a variabilidade entre antagonistas e patógeno, porém o número de microorganismos de biocontrole utilizados nestes trabalhos foi muito pequeno.

KOMMEDAHL & WINDELS (1978) destacaram a importância de um antagonista ser efetivo contra vários patógenos, bem como para diferentes isolados ou raças. Estes autores trabalhando com o controle biológico de *Fusarium* spp. com microagentes obtiveram sucesso na inibição de algumas raças do fungo, mas não com outras. SANTOS (1993) confirma essa justificativa. Avaliando o comportamento de 10 isolados diferentes de *B. sorokiniana* sob a influência de 100 microorganismos, também detectou variabilidade de ação por parte dos microagentes conforme o isolado fitopatogênico.

Uma das funções relacionadas a população dos microorganismos não fitopatogênicos da filosfera, rizosfera e espermosfera está relacionada com a interferência no desenvolvimento de fitopatógenos (LUZ, 1991a). Os modos de ação mais comuns para exercer tal função são através da antibiose, competição, indução de resistência no hospedeiro, hipovirulência, predação, produção de sideróforos e do parasitismo (BLAKEMAN & BRODIE, 1976; BAKER, 1980; BLAKEMAN, 1982; BETTIOL, 1991).

Nos ensaios "in vitro", quando se obtém uma inibição no desenvolvimento de patógenos, comumente atribui-se como consequência da produção de antibióticos por parte dos antagonistas (LAST & WARREN, 1972; FOKKEMA, 1973). As zonas de inibição provocadas pelos agentes microbianos constatadas neste trabalho estão relacionadas a um composto difundível, provavelmente um antibiótico, visto que não houve interação física entre os organismos. Alguns autores sugerem que estas zonas de inibição possam ser consequência da carência de nutrientes ou de ácidos produzidos pelos microagentes, além dos produtos antibióticos (SLEESMAN & LEBEN, 1976). Quanto à carência de nutrientes, resultado da competição estabelecida pelo microorganismo, ser um dos fatores de inibição, a justificativa é a mesma segundo MUSERE & IKOTUN (1983), não seria esta a causa porque a inibição é estabelecida num período curto de tempo quando os nutrientes ainda estão disponíveis no meio. Não descarta-se, porém a possibilidade dos microorganismos antagonistas possuírem outro tipo de mecanismo de ação.

Através da antibiose vem se obtendo os sucessos

mais importantes do biocontrole (DUBOS & BULIT, 1981). Esta afirmação encontra sustentação, principalmente, no caso dos bioprotetores comercializados, cujo principal mecanismo é a ação antagonística (LUZ, 1993b).

A utilização do teste "in vitro" para a seleção de isolados microbianos é uma etapa que não deveria ser desconsiderada. É possível, através deste ensaio, avaliar centenas de microorganismos com a vantagem de permitir o acesso ao conhecimento do mecanismo de ação se este for relacionado à antibiose, parasitismo e competição (MARIANO, 1993). O ensaio "in vitro" abrevia tempo, espaço e custos (ANDREWS, 1992; MARIANO, 1993). Porém, em muitos casos o desempenho de antagonistas em condições controladas não corresponde ao desempenho a campo (ANDREWS, 1992). Isto pode estar relacionado ao fato de que dificilmente é usado mais que um isolado do patógeno nos testes "in vitro" e em casa de vegetação. A campo o potencial microbiano é submetido, além das condições variadas, a diferentes isolados dos patógenos. O sucesso de um bioagente resulta de um seqüência de eventos que descortinarão diferentes atributos do microorganismo (ANDREWS, 1992). Este autor propõe etapas para uma seleção de antagonistas, onde não descarta as informações obtidas pelos testes "in vitro".

Verificando o desempenho de alguns microorganismos utilizados neste trabalho e testados em outros trabalhos de biocontrole de doenças do trigo, observou-se que alguns apresentaram comportamento equivalente e outros não. Por exemplo, no caso do isolado 9/88.2.Lev3, que foi eficiente para todos os isolados de *D. tritici-repentis* nestes testes, inibiu um isolado de *S. nodorum* "in vitro" (LUZ & LINHARES, 1990). Os isolados 14/90.25.3Lev e 7/91.14.2Lev também foram eficientes para 10 diferentes isolados de *B. sorokiniana* (SANTOS, 1993). Porém, a bactéria de código, 4/88.4AA, que apresentou bons resultados contra *B. sorokiniana* (LUZ, 1990b), *D. tritici-repentis* e mais três patógenos de trigo (LUZ, 1989), neste trabalho foi ineficiente para nove dos isolados do patógeno e moderadamente eficiente para um. A utilização de *Sporobolomyces* sp. em testes de controle biológico vêm confirmando um bom potencial deste organismo como antagonista (LUZ, 1985; LUZ, 1991a). Já foi constatada sua eficiência para alguns patógenos do trigo como: *Pyricularia oryzae* (LUZ, 1990a), *D. tritici-repentis* (LUZ, 1992a), *B. sorokiniana* e *S. nodorum* (FOKKEMA, 1973; LUZ, 1982a; LUZ 1985).

No trabalho conduzido por SANTOS (1993) o isolado de *Sporobolomyces* usado, de código 46/90.10.3Sr, foi eficiente contra os 10 isolados de *B. sorokiniana*. No entanto, entre os 20 isolados desta levedura que fizeram parte deste trabalho, nenhum foi eficiente ou moderadamente eficiente para todos os isolados do patógeno. Esta constatação pode ser devido ao fato que o efeito de leveduras sobre patógenos

parece ser, principalmente, pela competição de nutrientes (LUZ, 1985).

São poucos os trabalhos que abrangem, nos testes de seleção, mais de um isolado do patógeno. Os dados obtidos a partir deste trabalho e os obtidos por SANTOS (1993), enfatizam a necessidade de se levar em consideração a variabilidade dentro da população de um fitopatógeno.

Reconhece-se que é necessário e inevitável recorrer aos ensaios "in vitro", tanto em casa de vegetação como a campo, em trabalhos futuros para determinar a performance dos microagentes potenciais.

CONCLUSÕES

Há variabilidade dentro de espécies microbianas epifitas para o controle microbiológico de diferentes isolados patogênicos de *D. tritici-repentis*.

Na seleção de antagonistas é importante testar os microagentes contra vários isolados ou raças do patógeno.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, M.L.B.; TANAKA, M.A.S.; MENTEN, J.O.M.; NUNES, M.E.T. Inibição do crescimento micelial de *Pyricularia oryzae* de trigo e arroz por *Bacillus* sp. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.15, n.1, p.28-31. 1990.
- ANDREWS, J.H. Biological control in the phyllosphere. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.30, p.603-635. 1992.
- BAKER, K.F.; COOK, R.J. **The nature and practice of biological control of plant pathogens**. St. Paul, The American Phytopathological Society, 1983, 535p.
- BAKER, K.F. In: ELWOOD, D.C.; LATHAN, M.J.; HEDGER, J.N.; LYNCH, J.M.; SLATER, J.H. (Eds.). **Contemporary microbial ecology**. New York, Academic Press. p.327-347. 1980.
- BETTIOL, W. Controle biológico de doenças do filoplano. In: BETTIOL, W. (Org.). **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna, EMBRAPA/CNPDA. p.7-24. 1991.
- BILES, C.L.; HILL, J.P. The effect of *Trichoderma hamatum* on the sporulation capacity of *Cochliobolus sativus* lesions excised from winter wheat seedling leaves. **Phytopathology**, St. Paul, v.73, n.5, p.820. 1983.
- BLAKEMAN, J.P. Phylloplane interactions. In: MOUNT, M.S.; LACY, G.H. (Eds.). **Phytopathogenic prokariotes**. New York, Academic Press, v.1, p.307-333. 1982.
- BLAKEMAN, J.P.; BRODIE, I.D.S. Inhibition of pathogens by epiphytic bacteria. In: DICKINSON, C.H.; PEECE, T.F. (Eds.). **Microbiology of aerial plant surfaces**. New York, Academic Press, p.529-557. 1976.
- DHINGRA, O.D.; SINCLAIR, J.B. Biological control. In: DHINGRA, O.D.; SINCLAIR, J.B. (Eds.). **Basic plant pathology methods**. Boca Raton, CRC Press. p.245-258. 1985.
- DUBOS, B.; BULIT, J. Filamentous fungi as biocontrol agents on aerial plant surfaces. In: BLAKEMAN, J.P. (Ed.). **Microbial ecology of the phylloplane**. London, Academic Press. p.353-367. 1981.
- FOKKEMA, N.J. The role of saprophytic fungi in antagonism against *Drechslera sorokiniana* (*Helminthosporium sativum*) on agar plates and on rye leaves with pollen. **Physiological Plant Pathology**, London, v.3, n.3, p.195-205. 1973.
- FOKKEMA, N.J. Fungal antagonisms in the phyllosphere. **Annals of Applied Biology**, Cambridge, v.89, n.1, p.115-119. 1978.
- FOKKEMA, N.J.; HOUTER, J.G. den; KOSTERMAN, Y.J.C.; NELIS, A.L. Manipulation of yeasts on fieldgrown wheat leaves and their antagonistic effect on *Cochliobolus sativus* and *Septoria nodorum*. **Transactions of the British Mycological Society**, London, v.72, n.1, p.19-29. 1979.
- FOKKEMA, N.J.; Van der MEULEN, F. Antagonism of yeast like phyllosphere fungi against *Septoria nodorum* on wheat leaves. **Netherlands Journal of Plant Pathology**, Wageningen, v.82, p.13-16. 1976.
- GOUGH, F.J.; GHAZANFARI, J. Biological antagonists of *Pyrenophora tritici-repentis*. In: HOSFORD Jr., R.M. (Ed.). **Tan spot of wheat and related diseases workshop**. Fargo, North Dakota State University. p.36-39. 1982.
- HOMECHIN, M. "In vitro" inibição de crescimento micelial de diferentes isolados de *Helminthosporium sativum* P.K. e Berk por *Trichoderma harzianum*, Rifai. In: REUNIÃO SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS DE PLANTAS, 1., Piracicaba. **Anais...** Londrina, Centro Nacional de Pesquisa de Soja. p.72. 1986.
- HOSFORD Jr., R.M. Tan spot. In: HOSFORD Jr., R.M. (Ed.). **Tan spot of wheat and related diseases workshop**. Fargo, North Dakota State University. p.1-24. 1982.
- HOSFORD Jr., R.M.; JORDAHL, J.G.; HAMMOND, J.J. Effect of wheat genotype, leaf position, growth stage, fungal isolate, and wet period on tan spot lesions. **Plant Disease**, St. Paul, v.74, n.5, p.385-390. 1990.
- KOHLI, M.M.; MEHTA, Y.R.; ACKERMSNN, N.D. de. Spread of tan spot in the Southern Cone Region of South America. In: FRANCL, L.J.; KRUPINSKY, J.M.; McMULLEN, M.P. (Eds.). **Advances in tan spot research: proceedings of the second international tan spot workshop**. Fargo, North Dakota State University. p.86-90. 1992.
- KOMMEDAHL, T.; WINDELS, C.E. Evaluation of biological seed treatment for controlling root disease of pea. **Phytopathology**, St. Paul, v.68, p.1087-

1095. 1978.
- KRUPINSKY, J.M. Hosts of *Pyrenophora trichostoma*. In: HOSFORD Jr., R.M. (Ed.). **Tan spot of wheat and related diseases workshop**. Fargo, North Dakota State University. p.25-27. 1982.
- KRUPINSKY, J.M. Grass hosts of *Pyrenophora tritici-repentis*. *Plant Disease*, St. Paul, v.76, n.1, p.92-95. 1992.
- LAMARI, L.; BERNIER, C.C. Evaluation of wheat lines and cultivars to tan spot [*Pyrenophora tritici-repentis*] based on lesions type. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Guelph, v.11, n.1, p.49-56. 1989.
- LAST, F.T.; DE IGHTON, F.C. The non-parasitic micoflora on surfaces of living leaves. **Transactions of the British Mycological Society**, London, v.48, n.1, p.83-99. 1965.
- LAST, F.T.; WARREN, R.C. Non-parasitic microbes colonizing green leaves: their form and functions. **Endeavour**, Oxford, v.31, n.114, p.143-150. 1972.
- LI, B.; SUTTON, J.C. Biological control of tan spot caused by *Pyrenophora tritici-repentis* in wheat. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Guelph, v.12, n.3, p.336. 1990.
- LINHARES, A.I.; LUZ, W.C. da. **Deteção de *Drechslera tritici-repentis* em sementes no Mato Grosso do Sul**. (no prelo). 1994.
- LUZ, W.C. da. Variation in virulence to wheat and barley in the *Pyrenophora trichostoma* population of the Northern Great Plains of North America. Fargo, Dept. Plant Pathology. North Dakota State University. 20p. M.S. Thesis. 1979.
- LUZ, W.C. da. Ocorrência de *Pyrenophora teres* (Died.) Drech. em sementes de cevada (*Hordeum vulgare* L.) no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.5, n.3, p.273-276. 1980.
- LUZ, W.C. da. Controle biológico das "manchas foliares" do trigo através de microrganismos da filosfera. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.7, n.3, p.530. 1982a.
- LUZ, W.C. da. Efeito dos microrganismos do filoaplano sobre as manchas fúngicas foliares do trigo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.10, n.1, p.79-84. 1985.
- LUZ, W.C. da. Ação da temperatura na multiplicação de agentes antagônicos potenciais para o controle das doenças de trigo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.13, n.2, p.146. Resumos. 1988a.
- LUZ, W.C. da. Biocontrole da ferrugem da folha do trigo com microrganismos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.13, n.2, p.111. Resumos. 1988b.
- LUZ, W.C. da. Biocontrol of fungal pathogens of wheat with bacteria and yeasts. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF PLANT PATHOLOGY, 5., 1988, Kyoto. **Abstracts of papers**. Kyoto, Association for the Japan World Exposition. p.348. 1988c.
- LUZ, W.C. da. Perspectivas da bacterização das sementes para o controle biológico das doenças do trigo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.14, n.2, p.115. 1989.
- LUZ, W.C. da. Controle microbiano de *Pyricularia oryzae* em sementes de trigo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.5, n.2, p.134. 1990a.
- LUZ, W.C. da. Microbiological control of *Bipolaris sorokiniana* in vitro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.15, n.3, p.246-247. 1990b.
- LUZ, W.C. da. Controle biológico das doenças foliares do trigo. In: BETTIOL, W. (Org.). **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna, EMBRAPA-CNPDA. p.383-388. 1991a.
- LUZ, W.C. da. Controle biológico das doenças na espermosfera. In: BETTIOL, W. (Org.). **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna, EMBRAPA-CNPDA. p.25-31. 1991b.
- LUZ, W.C. da. Controle microbiológico de *Puccinia graminis* f.sp. *tritici*. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE TRIGO, 16., 1991, Dourados. **Resumos...** Dourados, EMBRAPA-UEPAE. p.92. 1991c.
- LUZ, W.C. da. Microbiolização das sementes, uma comparação com o tratamento químico no controle dos principais patógenos das sementes de trigo. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE TRIGO, 16., 1991, Dourados. **Resumos...** Dourados, EMBRAPA-UEPAE. p.109. 1991e.
- LUZ, W.C. da. Seed microbiolization of wheat to control *Drechslera tritici-repentis*. In: FRANCL, L.J.; KRUPINSKY, J.M.; McMULLEN, M.P. (Eds.). **Advances in tan spot research: proceedings of the second international tan spot workshop**. Fargo, North Dakota State University. p.65-67. 1992a.
- LUZ, W.C. da. Controle microbiológico do mal-do-pé do trigo pelo tratamento de sementes. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.18, n.1, p.36-39. 1993a.
- LUZ, W.C. da. Microbiolização de sementes para o controle de doenças das plantas. In: LUZ, W.C. da; FERNANDES, J.M.C.; PRESTES, A.M.; PICININI, E.C. (Eds.). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Passo Fundo, Revisão Anual de Patologia de Plantas. v.1, p.33-77. 1993b.
- LUZ, W.C. da; BERGSTROM, G.C. Effect of temperature on tan spot development in spring wheat cultivars differing in resistance. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Guelph, v.8, n.4, p.451-454. 1986.
- LUZ, W.C. da; BERGSTROM, G.C. Interactions between *Cochliobolus sativus* and *Pyrenophora tritici-repentis* on wheat leaves. **Phytopathology**, St. Paul, v.77, n.9, p.1355-1360. 1987.
- LUZ, W.C. da; LINHARES, A.I. Antagonismo de microrganismos contra *Stagonospora nodorum*. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 2., 1990, Brasília. **Anais...** Brasília, EMBRAPA/CENARGEN. p.137. 1990.
- MARIANO, R.L.R. Métodos de seleção "in vitro" para o controle microbiológico de patógenos de plantas. In: LUZ, W.C. da; FERNANDES, J.M.C.; PRESTES, A.M.; PICININI, E.C. (Eds.). **Revisão Anual de**

- Patologia de Plantas.** Passo Fundo, Revisão Anual de Patologia de Plantas. v.1, p.369-409. 1993.
- MEHTA, Y.R.; GAUDÊNCIO, C.A. The effects of tillage practices and crop rotation on the epidemiology of some major wheat diseases. In: SANDERS, D.F. (Ed.). **Wheat for the nontraditional, warm areas.** México, D.F., CIMMYT. p.266-283. 1991.
- MÜLLER, G.W.; COSTA, A.S. Premunização de plantas cítricas. In: BETTIOL, W. (Org.). **Controle biológico de doenças de plantas.** Jaguariúna, EMBRAPA/CNPDA. p.285-293. 1991.
- NORMAN, B.L.; BOCKUS, W.W. Biological control of tan spot of wheat with foliar applied bacteria cultures. **Phytopathology**, St. Paul, v.76, n.10, p.517. 1986.
- PERONDI, N.L. **Controle microbiológico da giberela do trigo.** Porto Alegre, UFRGS. 144p. Diss. Mest. em Microbiologia Agrícola e do Ambiente. 1992.
- MUSERE, E.; IKOTUN, T. "In vitro" inhibition of growth of *Xanthomonas campestris* pathovar *manihotis* by antagonists. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.8, n.3, p.467-472. 1983.
- PERONDI, N.L. **Controle microbiológico da giberela do trigo.** Porto Alegre, UFRGS. 144p. Diss. Mest. em Microbiologia Agrícola e do Ambiente. 1992.
- PFENDER, W.F. Suppression of ascocarp formation in *Pyrenophora tritici-repentis* by *Limonomyces roseipellis*, a Basidiomycete from reduced-tillage wheat straw. **Phytopathology**, St. Paul, v.78, n.9, p.1254-1258. 1988.
- PFENDER, W.F.; KING, L.G.; RABE, J.R. Use of dual-stain fluorescence microscopy to observe antagonism of *Pyrenophora tritici-repentis* by *Limonomyces roseipellis* in wheat straw. **Phytopathology**, St. Paul, v.81, n.1, p.109-112. 1991a.
- PFENDER, W.F.; KRAUS, J.; LOPER, J. Role of pyrrolnitrin in antagonism of *Pyrenophora tritici-repentis* by *Pseudomonas fluorescens* strain PF-5. **Phytopathology**, St. Paul, v.81, n.10, p.1346. 1991b.
- PFENDER, W.F.; ZHANG, W.; NUS, A. Field performance and greenhouse assay of fungi for biocontrol of residue-borne *Pyrenophora tritici-repentis*. **Phytopathology**, St. Paul, v.79, n.10, p.1152. Abstracts. 1989.
- PRESTES, A.M.; OLIVEIRA, A.M.R.; LUZ, W.C. da; IGNACZAK, J.C. Controle microbiológico de diferentes isolados de *Stagonospora nodorum* "in vitro". **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.17, n.2, p.203. 1992.
- REES, R.G.; PLATZ, G.J. Effectiveness of incomplete resistance to *Pyrenophora tritici-repentis* in wheat. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v.40, n.1, p.43-48. 1989.
- REES, R.G.; PLATZ, G.J.; MAYER, R.J. Yield losses in wheat from yellow spot: comparison of estimates derived from single tillers and plots. **Australian Journal of Agricultura Research**, Victoria, v.33, n.6, p.899-908. 1982.
- REUNIÃO DA COMISSÃO SUL-BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO, 26., 1994, Chapecó. **Recomendações da comissão sul-brasileira de pesquisa de trigo.** Chapecó, Comissão Sul-Brasileira de Pesquisa de Trigo. 54p.
- SANTOS, I. dos. **Ação antagônica de bactérias e leveduras epifitas a diferentes isolados de *Bipolaris sorokiniana* em trigo.** Porto Alegre, UFRGS. 1993, 70p. (Dissertação de Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente).
- SANTOS, I. dos; MATSUMURA, A.T.S.; LUZ, W.C. da. Biocontrole in vitro de *Bipolaris sorokiniana*. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE PLANTAS, 4., 1991, Campinas. **Anais...** Campinas, EMBRAPA/CNPDA. p.12. 1991.
- SLEESMAN, J.P.; LEBEN, C. Microbial antagonists of *Bipolaris maydis*. **Phytopathology**, St. Paul, v.66, n.2, p.1214. 1976.
- SUDO, S. Biocontrole de *Catacauma torrendiella* e *Coccostroma palmicola*, agentes causadores da lixapreta do coqueiro. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS DE PLANTAS, 3., 1989, Piracicaba. **Anais...**Piracicaba, USP/EMBRAPA. p.57-59. 1989.
- SUMMERELL, B.A. & BURGESS, L.W. Saprophytic colonization of wheat and barley by *Pyrenophora tritici-repentis* in the field. **Trasactions of the British Mycological Society**, London, v.91, n.4, p.551-556. 1988.
- VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M. Possibilidades do controle biológico de *Phytophthora* em macieira. In: BETTIOL, W. (Org.). **Controle biológico de doenças de plantas.** Jaguariúna, EMBRAPA/CNPDA. p.303-305. 1991.
- ZHANG, W.; PFENDER, W.F. Ecological study of *Pyrenophora tritici-repentis*: substrate moisture and microbial antagonism during saptophytic growth and ascocarp production. In: FRANCL, L.J.; KRUPINSKY, J.M.; McMULLEN, M.P. (Ed.). **Advances in tan spot research: proceedings of the second international tan spot workshop.** Fargo, North Dakota State University. p.100-105. 1992.