

POTENCIAL DE *Pseudomonas* spp. FLUORESCENTES PARA BIOCONTROLE DE *Alternaria ricini* EM MAMONEIRA

POTENTIAL OF FLUORESCENT *Pseudomonas* spp. FOR BIOLOGICAL CONTROL OF *Alternaria ricini* ON CASTORBEAN

Francisco de A.G. da Silva¹, Cecília do N. Peixoto¹, Sayonara M.P. de Assis², Rosa de L.R. Mariano^{1*}, Isáiras P. Padovan¹

¹Universidade Federal Rural de Pernambuco/Departamento de Agronomia- Fitossanidade, 52171-900 Recife- PE, ²Estação Experimental de Vitória de Santo Antão (IPA), C. postal - 0003, 556000-000 Vitória de Santo Antão - PE,

ABSTRACT

The potential of fluorescent *Pseudomonas* spp. to control *Alternaria* leaf spot on castorbean, caused by *Alternaria ricini*, was studied under greenhouse conditions. Two periods for antagonist applications were tested: 48h before and simultaneously to the pathogen inoculation. Among the antagonists tested JA4 and BJ22 were the most effective showing disease severity reduction of 20.9% and 17.8% respectively, when applied simultaneously. The effect of *Pseudomonas* spp. on the micelial growth and sporulation was also studied throughout three different methods (funel, streak and celophane). Inhibition of micelial growth and sporulation was observed. There was no correlation between *in vitro* and *in vivo* data. Antibiosis was showed as a mode of action for *Pseudomonas* spp. in relation to *Alternaria ricini*. Ultrastructural studies confirmed the inhibition of spore germination by the bacteria.

Key words: biological control; *Ricinus communis*; *Alternaria ricini*; controle biológico.

INTRODUÇÃO

A mancha de Alternária da mamoneira, causada por *Alternaria ricini* (Yoshii) Hansford, provoca sérias perdas na produção da mamona (*Ricinus communis* L.) (STONE & CULP, 1959). Os sintomas nas folhas se traduzem em manchas marrons com 10 a 20 mm de diâmetro, de formato irregular, podendo coalescer e ocasionar desfolha prematura da planta. A inflorescência e as cápsulas podem ser infectadas, resultando em morte e queda dos botões florais ou desenvolvimento anormal das sementes, que apresentam tamanho reduzido, maturação precoce e baixo teor de óleo (YOSHII, 1929; SINGH, 1955; PAWAR & PLATEL, 1957).

* Autor para correspondência

Esse patógeno, pode também infectar *Gerbera jamesonii* Bohes, *Solanum melongena* L., *Euphorbia geniculata* Orteg., *E. hirta* L., *E. pulcherrima* Willd., *Acalypha indica* L., *Gossypium* sp., *Bridelia hamiltoniana* Wall e *Jatropha pandurifolia* Andr. (PAWAR & PLATEL, 1957).

O controle biológico de doenças de plantas tem como objetivo manter o equilíbrio do agroecossistema através de um programa integrado de produção, sem perdas significativas da produtividade das culturas, reduzindo os custos, riscos e impactos ao meio ambiente (ROBBS, 1986). A utilização de microrganismos não residentes no filoplano com reconhecida capacidade antagônica é técnica comum em controle biológico de doenças do filoplano. Uma das vantagens é abreviar o período de seleção de antagonistas nas fases iniciais do trabalho (BETTIOL, 1991a). Dentre as bactérias utilizadas nesse processo, as mais importantes pertencem ao grupo *Pseudomonas* fluorescentes, as quais são também responsáveis por aumentos na germinação e promoção de crescimento (PGPR), quando utilizadas na bacterização de sementes (KLOEPPER *et al.*, 1980; SCHIPPERS, 1988).

Peixoto (PEIXOTO, 1992) utilizando sementes inoculadas com *A. ricini* e tratadas com *Trichoderma* spp., verificou que *T. viride* Pers. ex Fr. foi o mais eficiente, com 70% de controle, em condições de laboratório. Em casa-de-vegetação, a mesma autora observou que *T. viride* promoveu maior germinação e desenvolvimento de plântulas, agindo como fungo promotor de crescimento.

Este trabalho teve por objetivo testar o potencial de algumas rizobactérias do grupo *Pseudomonas* fluorescentes no controle de *A. ricini*, bem como estudar o mecanismo de ação das mesmas contra o patógeno.

MATERIAL E MÉTODOS

Microrganismos

Os isolados de *Pseudomonas fluorescens* (Trevisan) Migula (P2, SDR2, BJ22, JA1, JA2 e JA4) e *P. marginalis* (Brown) Stevens (C21) foram obtidos a partir de solos e rizosfera de tomateiro coletados em diferentes municípios de Carpina, Bom Jardim, João Alfredo, Petrolina e Recife do Estado de Pernambuco, enquanto o isolado de *A. ricini* foi obtido de sementes de mamoneira "Sipeal 28", procedentes de Araripina (PE). Os isolados bacterianos foram

preservados sob óleo mineral ou em água de torneira esterilizada. O isolado fúngico foi preservado pelo método de repicagens sucessivas.

Antagonismo em Condições de Casa-de-vegetação

Plantas da cultivar Sipeal 28, com 34 dias de idade foram tratadas, com auxílio de pulverizador DeVilbiss, com suspensão das bactérias antagonistas (10^9 ufc/ml), 48 h antes e simultaneamente a inoculação do patógeno. As bactérias foram cultivadas em meio B de King (KMB) (KING *et al.*, 1954) por 36 a 48 h e suspensas em água destilada esterilizada (ADE). O patógeno foi cultivado por 7 dias em meio V3 (cenoura - 50,0 g; tomate - 50,0 g; vagem - 50,0 g; manose - 10,0 g; ágar - 17,0 g; água destilada - 1000 ml) e os esporos suspensos em ADE. A concentração da suspensão do patógeno foi ajustada para aproximadamente 10^3 conídios/ml em câmara de Neubauer. As testemunhas foram tratadas com ADE e inoculadas com o patógeno.

A avaliação foi realizada após sete dias utilizando-se uma escala de notas, variando de 1 a 5, onde: 1 = ausência de sintomas; 2 = pequeno número de lesões sem necrose; 3 = lesões sem hipersensibilidade e com até 30% da área foliar afetada; 4 = infecção severa e alguma coalescência, com 31-60% da área foliar afetada; 5 = infecção muito severa, lesões abundantes e coalescidas, mais de 60% da área foliar afetada.

A redução da severidade da doença (RSD%) foi calculada, através da fórmula de EDGINTON *et al.* (1971), adaptada: $RSD\% = [(NTr - NT) \times 100]/NT$ onde: NTr = nota do tratamento e NT = nota da testemunha.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 8 x 2 (7 bactérias + testemunha x 2 épocas de inoculação) com três repetições, representadas por vasos contendo três plantas cada um. Os dados foram submetidos à análise de variância e a comparação de médias feita pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Mecanismo de Ação de *Pseudomonas* spp. sobre *A. ricini*

Foram empregados os métodos do funil, riscas e papel celofane (MARIANO, 1993). Nos dois primeiros métodos, discos (7 mm) contendo crescimento de *A. ricini* foram colocados em placas contendo meio V3, 72 horas antes das bactérias. Estas foram colocadas em risca central, com alça de platina, ou como um círculo de 70 mm de diâmetro obtido com a ajuda de funil de vidro esterilizado. Neste caso, o funil havia sido pressionado anteriormente em placa contendo cultura de bactéria com 36 a 48 h.

No método do papel celofane, as bactérias foram colocadas sobre uma camada do mesmo, sendo o conjunto (papel + crescimento bacteriano) removido após 72 horas e um disco com crescimento ativo do fitopatógeno colocado no centro da placa. Em todos os tratamentos testemunhas, os antagonistas foram substituídos por ADE.

As placas foram mantidas em condições de laboratório (25°C e 55% de UR) em regime de alternância luminosa (12 h claro/12 h escuro), para avaliação do crescimento micelial e, em seguida foram colocadas em condições de escuro contínuo para promover maior indução da esporulação.

As leituras foram realizadas diariamente em intervalos de 24 h medindo-se o crescimento micelial, com auxílio de régua milimetrada, até que nas testemunhas o fungo ultrapassasse o local do crescimento bacteriano (riscas e funil) ou atingisse o diâmetro completo da placa (celofane). No caso da esporulação foi realizada uma única leitura, determinando-se a quantidade de conídios por placa com auxílio de câmara de Neubauer. A suspensão de esporos foi obtida através de raspagem da superfície do meio de cultura com auxílio de escova de cerdas macias, adicionando-se 20 ml de ADE, contendo o espalhante adesivo Tween 80 (0,05%), com posterior filtração em camada dupla de gase. Para cada repetição, obteve-se a média do número de esporos encontrados nos dois campos de leitura na câmara de Neubauer.

Os dados de crescimento micelial e esporulação foram transformados para porcentagem de inibição de crescimento micelial (ICM%) e porcentagem de inibição de esporulação (IE%), através das seguintes fórmulas: $ICM\% = [(CMT - CMT_r) \times 100]/CMT$ onde: CMT = crescimento micelial na testemunha e CMT_r = crescimento micelial no tratamento; $IE\% = [(ET - ET_r) \times 100]/ET$ onde: ET = esporulação na testemunha e ET_r = esporulação no tratamento.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 8 x 3 (7 bactérias + testemunha x 3 métodos) com três repetições. Os dados de ICM% e IE% foram submetidos à análise de variância e a comparação de médias foi feita pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Análise Ultraestrutural de *A. ricini* e suas Interações com *P. fluorescens* no Filoplano de Mamona

Folhas da cultivar Sipeal 28 foram coletadas de plantas com 52 dias, desenvolvidas em condições de casa-de-vegetação, lavadas com água corrente e sabão, e cortadas em discos de 12

mm de diâmetro. Os discos foram dispostos sobre lâminas de vidro, no interior de placas de Petri, contendo papel de filtro sobre espuma de nylon umedecida. O isolado P2 que apresentou maior eficiência "in vitro", foi aplicado (10^9 ufc/ml) dois dias antes e simultaneamente à inoculação com o patógeno (10^3 conídios/ml). Ambos, antagonista e patógeno foram aplicados depositando-se 20 µl da suspensão sobre o disco foliar. Testemunhas similares foram preparadas apenas com o patógeno. As amostras foram coletadas 24, 48 e 72 horas após a inoculação, retirando-se a parte central do disco e cortando-a em fragmentos de 4 a 5 mm². Estes foram fixados com glutaraldeído a 2% e tetróxido de ósmio a 1%, desidratados em série de etanol, dessecados pelo processo do ponto crítico, montados em porta-espécimes, metalizados com ouro e observados ao microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM T200.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teste de antagonismo em casa-de-vegetação mostrou que a aplicação do antagonista simultaneamente à aplicação do fitopatógeno foi o método mais eficiente de controle para a maioria dos isolados (Figura 1). Isto reforça o pensamento de que tanto a competição como a produção de antibióticos foram exercidas sem a prévia multiplicação do antagonista e colonização do nicho de infecção. A maior eficiência dos isolados bacterianos no controle da mancha de *Alternária* quando aplicados simultaneamente com a inoculação de *A. ricini* assemelha-se ao resultado obtido por Fravel & Spurr (FRAVEL & SPURR, 1977), ao utilizarem *Bacillus cereus* subsp. *mycoides* para o controle de *A. alternata* (Fr.:Fr) Keissi em fumo. Os isolados bacterianos proporcionaram redução da severidade da doença variando de 20,9% a 1,7%. O isolado JA4 mostrou-se mais eficiente com 20,9% de RSD, seguindo-se o isolado BJ22 com 17,8% (Figura 1). Campello (CAMPELLO, 1992) constatou que P2 e C21 induziram maior inibição de *Cylindrocladium scoparium* Morgan em *Eucalyptus* spp., em condições de casa-de-vegetação. ASSIS *et al.* (1995) utilizando os mesmos isolados contra *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Pammel) Dowson em condições de campo, verificaram que SDR2 apresentou melhor controle do patógeno com 48,1% de RSD. Estes fatos sugerem que existem interações diferenciais entre isolados de *Pseudomonas* spp. fluorescentes e patógenos em hospedeiros diversos. Os isolados SDR2, JA1 e C21 foram pouco eficientes no controle da mancha de *Alternária* em mamoneira propiciando apenas 9,1%, 9,1% e 1,2% de RSD, respectivamente

(Figura 1). O nível de controle obtido com o método biológico, isoladamente, pode estar abaixo do necessário para evitar perdas na produção, pois diferentemente do químico, não apresenta efeito imediato e espetacular, porém a integração dos métodos e um maior conhecimento da cultura pode melhorar a eficiência de sua utilização (BETTIOLA, 1991). Além disso, o baixo índice de controle em condições de casa-de-vegetação obtido no presente trabalho pode ser explicado pela influência das condições ambientais tais como, temperatura, umidade e luminosidade. *P. fluorescens* e *P. marginalis* foram utilizados com sucesso por outros autores para o controle biológico de patógenos tais como: *Gauemannomyces graminis* (Sacc.) Arx & Oliver var. *tritici* (WELLER & COOK, 1983), *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker (LUZ, 1994), *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wills (MICHEREFF *et al.*, 1994), *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* (Padwick) Matuo & Sato (VIGHYASEKARAN & MUTHAMILAN, 1995), *X. campestris* pv. *campestris* (ASSIS *et al.*, 1995) e *G. graminis* var. *tritici* (PENG *et al.*, 1996), existindo inclusive produto comercial a base de *P. fluorescens* (HOWELL & STIPANOVIC, 1979).

No estudo dos mecanismos de ação de *P. fluorescens* e *P. marginalis* contra *A. ricini* foi evidenciada a antibiose com produção de metabólitos difundíveis em ágar, inibindo primariamente a esporulação e também o crescimento micelial do patógeno. Este fato também foi constatado por CAMPELLO (1992), MICHEREFF *et al.* (1994) e STEIN (1988).

Com relação a inibição do crescimento micelial de *A. ricini*, houve destaque para o método do funil que isoladamente diferiu dos outros, tendo ainda maior praticidade. Tanto esse método quanto o de riscas permitiram a detecção de diferenças significativas no antagonismo das rizobactérias a *A. ricini*. Resultados similares foram obtidos por REIS *et al.* (1991). Estes autores comparando o pareamento de disco de ágar contendo estruturas de *Curvularia eragrostidis* (Henn.) Meyer versus bactérias e leveduras epifíticas plaqueadas pelos métodos de riscas, crescimento, funil e disco de papel de filtro, constataram um melhor resultado para o primeiro método. STEIN (1988) utilizou com sucesso o método do funil para observar o antagonismo *in vitro* de *Pseudomonas* spp. fluorescentes contra *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder & Hans. LUZ (1991) verificou a eficiência deste método para estudar o controle de *B. sorokiniana* com *B. subtilis*, *P. fluorescens* e leveduras *in vitro*. O método do papel celofane é utilizado para detecção de metabólitos não voláteis e tem a vantagem de poder ser empregado para todo o tipo de interação envolvendo bactérias, leveduras e fungos (MARIANO, 1993). No entanto, no presente trabalho, esse método não evidenciou diferenças entre os

isolados sugerindo que embora em pequena quantidade, quase todos produziram metabólitos não voláteis. A formação de zonas de inibição entre as colônias, principalmente nos pareamentos com BJ22 e SDR2 (Figura 2A), é indicativa da produção de metabólitos extracelulares, não-voláteis, difundíveis e com ação antimicrobiana, pelas *Pseudomonas* fluorescentes no meio V3, evidenciando a antibiose como mecanismo de ação destes organismos, embora a atividade antagonista observada *in vitro* nem sempre corresponda à redução da doença *in vivo* (BETTIOL, 1991b; ANDREWS, 1992). SILVEIRA *et al.* (1991), detectaram a atividade de metabólitos extracelulares de bactérias epifíticas do filoplano de inhame em relação a *C. eragrostidis*, agente da queima do inhame. Também MICHEREFF *et al.* (1994) observou este fato na relação entre *Pseudomonas* spp. fluorescentes e *C. graminicola* em sorgo. Os isolados bacterianos testados, P2 e C21 foram os que mais se destacaram, atingindo valores de, respectivamente, 46,6 e 42,3% de inibição do crescimento micelial do fitopatógeno pelo método do funil, bem como, 23,0 e 11,8% pelo método de riscas. Não foi detectada diferença significativa entre os isolados pelo método do celofane (Figura 2A). Este resultado assemelha-se ao de STEIN (1988), que utilizando os mesmos isolados também observou P2 e C21 como os melhores inibidores de crescimento micelial de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder & Hans.. CAMPELLO (1992) estudando o antagonismo destes isolados contra *C. scoparium* observou que C21 induziu maior inibição do crescimento micelial.

Analisando-se a inibição da esporulação de *A. ricini*, o método mais eficiente foi novamente o do funil, o qual diferiu significativamente dos outros dois, embora nesses tenham evidenciado maiores diferenças entre os isolados bacterianos, observando-se uma grande discrepância de dados entre os três métodos, para a maioria dos isolados (Figura 2B). No método do funil não houve diferença significativa entre os isolados, embora tenham-se destacado P2 e C21 com valores de 86,8 e 83,2%. CAMPBELL (1989), relata que os efeitos observáveis de metabólitos produzidos por antagonistas em cultura pareada, geralmente propiciam uma redução ou paralização na esporulação do fitopatógeno. Alguns isolados tais como JA1 e JA4 no método de riscas e SDR2 e JA4 no método de celofane apresentaram médias de esporulação maiores com relação aos demais tratamentos, incluindo a testemunha. Isto pode ser explicado, considerando-se LILLY & BARNETT (1951), os quais relatam que, frequentemente, um fungo produz estruturas reprodutivas sob condições nutricionais bastante diferentes daquelas que são ótimas para o seu desenvolvimento vegetativo.

Com relação ao estudo ultraestrutural, observou-se que *A. ricini* germinou rapidamente apresentando em média dois a cinco tubos germinativos por conídio (Figura 3A), seguindo-se a formação de apressórios e penetração. A presença de *P. fluorescens* na superfície foliar antes ou simultaneamente à inoculação com o patógeno, caracterizou-se pela sua alta capacidade de colonização, visualizada a partir de 24h, tendo-se observado células bacterianas em toda a topografia foliar e ainda sobre micélio e esporos do fitopatógeno. *Alternaria ricini* apresentou reduzido número de tubos germinativos (Figura 3B) e crescimento micelial reduzido, tendo-se observado, algumas vezes, ausência de apressórios e penetração. Sabe-se que os fitopatógenos que apresentam intensa fase saprofítica na superfície foliar estão mais sujeitos aos mecanismos de antibiose e principalmente competição, exercidos pelos antagonistas. Diferentemente, os patógenos que penetram rapidamente no tecido foliar, mais do que a ação da competição são inibidos pela antibiose. A dinâmica do equilíbrio biológico prevalecte nos ecossistemas naturais depende da relação entre os habitantes microbianos (HENIS & CHET, 1975) e o conhecimento dos mecanismos de ação dos organismos colabora na escolha da época, forma e quantidade adequadas para aplicação dos antagonistas (BLAKEMAN & FOKKEMA, 1982).

AGRADECIMENTOS

Trabalho realizado com suporte financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico Tecnológico - CNPq e Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia - FACEPE.

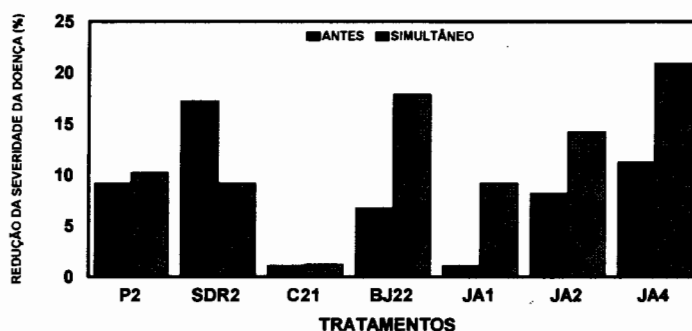


Figura 1. Efeito de *Pseudomonas fluorescens* (P2, SDR2, BJ22, JA1, JA2 e JA4) e *P. marginalis* (C21), aplicadas em diferentes períodos (48 h antes e simultaneamente) para o controle de *Alternaria ricini*, em plantas de mamona "Sipeal 28" com 34 dias, em condições de casa-de-vegetação.

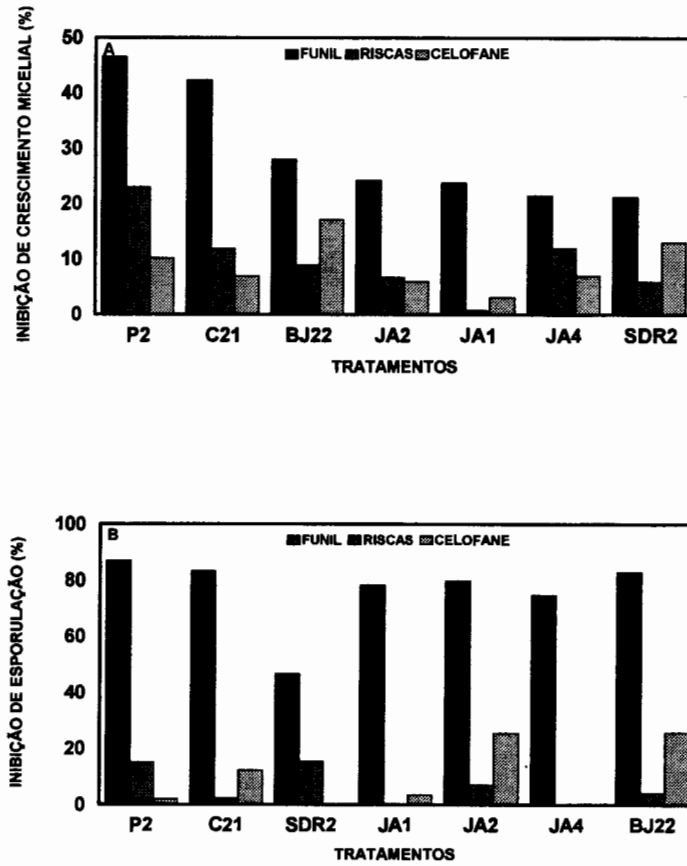


Figura 2. Porcentagem de inibição de crescimento micelial (A) e esporulação (B) de *Alternaria ricini* quando pareada com rizobactérias *Pseudomonas fluorescens* (P2, SDR2, BJ22, JA1, JA2 e JA4) e *P. marginalis* (C21) pelos métodos do funil, riscas e celofane.

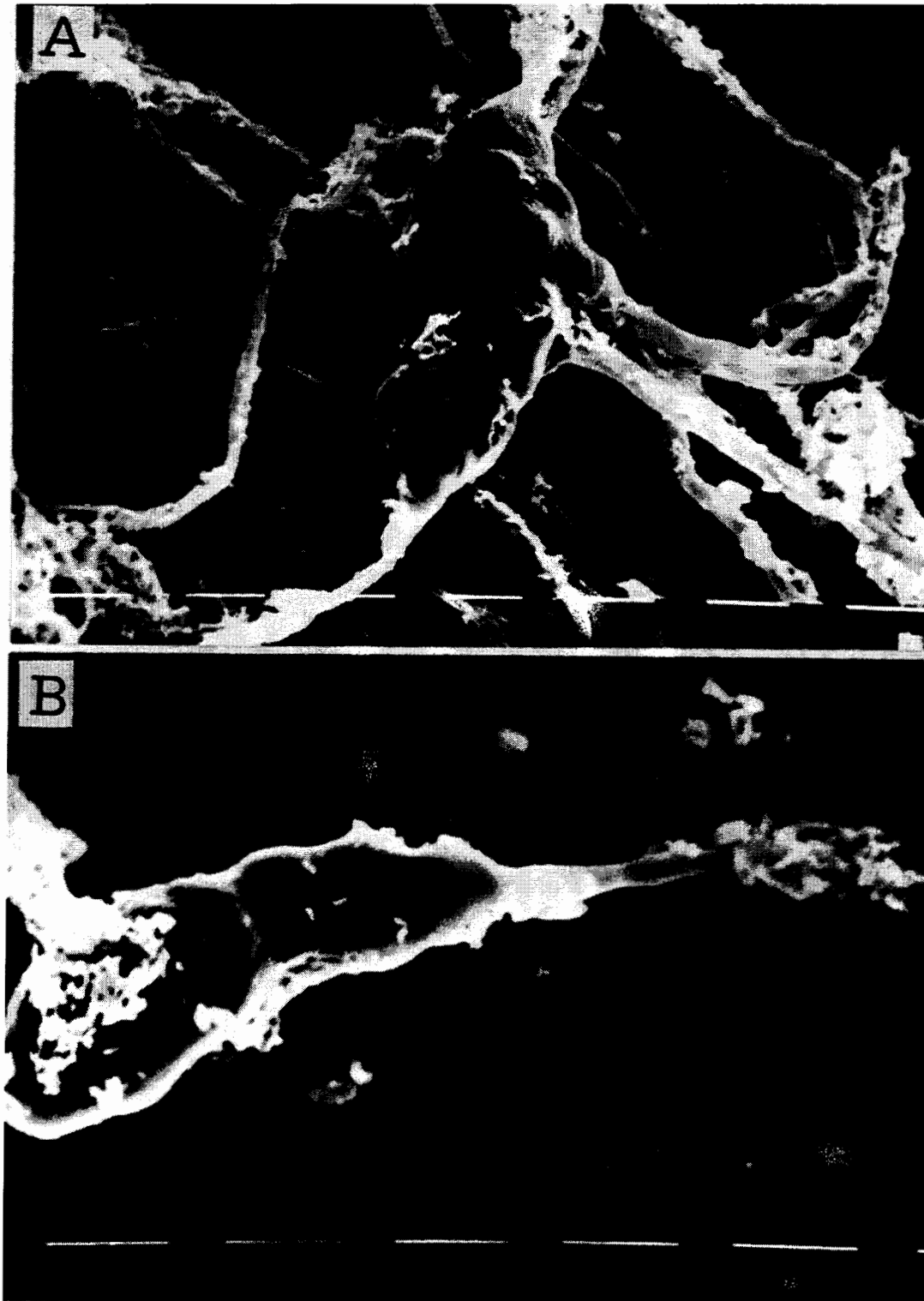


Figura 3. Ultraestrutura de *Alternaria ricini* e suas interações com *Pseudomonas fluorescens* (P2): conídios apresentando vários tubos germinativos (A), tratamento com P2 mostrando conídio com apenas um tubo germinativo (B).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDREWS, J.H. The screening of microorganisms antagonistic to phytopathogens. *Pesq. Agrop. Bras.*, v.26, p.165-174, 1992.
- ASSIS, S.M.P.; MARIANO, R.L.R.; REIS, A.; SILVEIRA, E.B. & MICHEREFF, S.J. Ação de rizobactérias no crescimento de rabanete e no controle biológico da podridão negra e antracnose. *Arq. Biol. Tecnol.*, v.38, n.3, p.843-850, 1995.
- BETTIOL, W. Controle biológico de doenças do filoplano. In: BETTIOL, W. (Ed.) **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1991a, p.35-56.
- BETTIOL, W. Seleção de microorganismos antagonísticos a fitopatógenos. In: BETTIOL, W. (Ed.) **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1991b, p.223-236.
- BLAKEMAN, J.P. & FOKKEMA, N.J. Potential for biological control of plant diseases on the phylloplane. *Annu. Rev. Phytopathol.*, v.2, p.167-192, 1982.
- CAMPBELL, R. **Biological control of microbial plant pathogens**. Cambridge: Cambridge University Press, 1989. 218p.
- CAMPELLO, F.B.B. **Controle biológico de *Cylindrocladium scoparium* Morgan, agente causal do tombamento de mudas de *Eucalyptus* spp., com bactérias antagonistas**. Recife, 1992, 84p. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) - Universidade Federal Rural de Pernambuco.
- EDGINGTON, L.V.; KHEW, K.L. & BARRON, G.L. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. *Phytopathology*, v.61, n.1, p.42-44, 1971.
- FRAVEL, D.R. & SPURR, C.R. Biocontrol of tobacco brown spot disease by *Bacillus subtilis* subsp. *mycooides* in a controlled environment. *Phytopathology*, v.67, p.930-932, 1977.
- HENIS, Y. & CHET, I. Microbiological control of plant pathogens. *Adv. Appl. Microbiol.*, v.19, p.85-111, 1975.
- HOWELL, C.R. & STIPANOVIC, R.D. Control of *Rhizoctonia solani* on cotton seedlings with *Pseudomonas fluorescens* and with an antibiotic produced by the bacterium. *Phytopathology*, v.69, p.480-482, 1979.
- KING, E.C.; WARD, M.K. & RANEM, D.E. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *J. Lab. Clin. Med.*, v.44, p.301-307, 1954.
- KLOEPPER, J.M.; SCHROTH, M.N. & MILLER, T.D. Effects of rhizosphere colonization by plant growth-promoting rhizobacteria on potato plant development and yield. *Phytopathology*, v.70, n.10, p.1078-1082, 1980.
- LILLY, V.G. & BARNETT, H.L. Growth. In: LILLY, V.G. & BARNETT, H.L. (Eds.). **Physiology of the fungi**. New York: McGraw Hill, 1951. p.24-44.
- LUZ, W.C. Controle biológico das doenças na espermosfera. In: BETTIOL, W. (Ed.) **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1991, p.25-31.
- LUZ, W.C. Microbiolização das sementes para o controle da podridão comum das raízes e dos patógenos e seu efeito no rendimento de trigo. *Fitopatol. Bras.*, v.19, p.144-148, 1994.
- MARIANO, R.L.R. Métodos de seleção in vitro para o controle microbiológico de patógenos de plantas. In: LUZ, W.C. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Passo Fundo, RAPP, 1993. p.369-409.
- MICHEREFF, S.J.; SILVEIRA, N.S.S. & MARIANO, R.L.R. Antagonismo de bactérias sobre *Colletotrichum graminicola* e potencial de biocontrole da antracnose do sorgo. *Fitopatol. Brasileira*, v.19, n.4, p.541-545, 1994.
- PAWAR, V.H. & PLATEL, M.K. Alternaria leaf spot of *Ricinus communis* L. *Indian Phytopathol.*, v.10, p.110-114, 1957.
- PEIXOTO, C.N. **Avaliação da microflora associada a sementes de mamona (*Ricinus communis* L.) e efeito de *Trichoderma* spp. e substâncias tóxicas sobre *Alternaria ricini* (Yoshii) Hansford**. Recife, 1992, 123p. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) - Universidade Federal Rural de Pernambuco.
- PENG, Y.; ZHANG, Z.; HUANG, D.; CHEN, C. & ZHANG, J. (1996). Biological control of wheat take-all with naturally occurring and TN5 mutant strains of *Pseudomonas fluorescens*. In: WENHUA, T.;

- COOK, R.J. & ROVIRA, A. **Advances in Biological Control of Plant Diseases**. Beijing: China Agricultural University Press, 1996. p.15-20.
- REIS, A.; MICHEREFF, S.J. SILVEIRA, N.S.S. & MARIANO, R.L.R. (1991). Métodos de seleção *in vitro* de microrganismos antagônicos a *Curvularia eragrostidis*. REUNIÃO DE CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS DE PLANTAS, 4., 1991, Campinas. **Anais...** Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1991. p.10.
- ROBBS, C.F. Potencialidade de bactérias no biocontrole de doenças de plantas. In: REUNIÃO SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS DE PLANTAS, 1., 1986, Campinas. **Anais...** Campinas:Fundação Cargill, 1986. p.17-23.
- SCHIPPERS, B. Biological control of pathogens with rhizobacteria. **Phill. Trans. Roy. Soc. Lon.**, v.318, p.283-293, 1988.
- SILVEIRA, N.S.S.; MICHEREFF, S.J.; REIS, A. & MARIANO, R.L.R. (1991). Controle biológico de *Curvularia eragrostidis* com bactérias e leveduras epifíticas isoladas de plantas de inhame.I: Teste *in vitro*. REUNIÃO DE CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS DE PLANTAS, 4., 1991, Campinas. **Anais...** Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1991. p.12.
- SINGH, R.S. (1955). Alternaria blight of castor plants. **J. Ind. Bot. Soc.**, v.34, p.130-137, 1955.
- STEIN, R.L.B. **Efeito de *Pseudomonas* spp. fluorescentes no controle *in vitro* de patógenos do solo e no desenvolvimento do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.)**. Recife, 1988, 125p. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) - Universidade Federal Rural de Pernambuco.
- STONE, W.J. & CULP, T.W. Effects of diseases on castorbeans in Mississippi. **Plant Dis. Rep.**, v.43, n.7, p.827-829, 1959.
- VIDHYASEKARAN, P. & MUTHAMILAN, M. Development of formulations of *Pseudomonas fluorescens* for control of chickpea wilt. **Plant Dis.**, v.79, p.782-786, 1995.
- WELLER, D.M. & COOK, R.J. Suppression of take-all of wheat by seed treatments with fluorescent pseudomonads. **Phytopathology**, v.73, p.463-469, 1983.
- YOSHII, H. A leaf spot or blight disease of *Ricinus communis* L. caused by *Macrosporium ricini*. **Bull. Sci. Fak. Terk. Kju.**, v.3, p. 327-332, 1929.

Received: 08 August 1997;
Revised: 02 September 1997;
Accepted: 02 June 1997.