

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**EFEITO DA SOLARIZAÇÃO DO SOLO SOBRE A POPULAÇÃO DE
Pseudomonas spp. FLUORESCENTE ANTAGONISTA A *Rhizoctonia*
solani KÜHN GA 4 HGI**

CÉSAR JÚNIOR BUENO

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômica da UNESP – Campus de Botucatu, para obtenção do Título de Mestre em Agronomia, Área de Concentração em Proteção de Plantas.

BOTUCATU – SP

Janeiro – 2001

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**EFEITO DA SOLARIZAÇÃO DO SOLO SOBRE A POPULAÇÃO DE
Pseudomonas spp. FLUORESCENTE ANTAGONISTA A *Rhizoctonia*
solani KÜHN GA 4 HGI**

CÉSAR JÚNIOR BUENO

Orientador: **Prof. Dr. Nilton Luiz de Souza**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômica da UNESP –Campus de Botucatu, para obtenção do Título de Mestre em Agronomia, Área de Concentração em Proteção de Plantas.

BOTUCATU – SP

Janeiro – 2001

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E
TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO
SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - FCA
UNESP - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

B928e Bueno, César Júnior
Efeito da solarização do solo sobre a população de
Pseudomonas spp. fluorescente antagonista a
Rhizoctonia solani Kühn GA 4 HGI / César Júnior Bueno.
-- Botucatu, 2001
ix, 71 f. : il. color. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Pau-
lista, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu,
2001
Orientador: Nilton Luiz de Souza
Bibliografia: f. 55-66

1. Solarização do solo - *Pseudomonas* fluorescente
2. Supressividade do solo I. Título

Palavras-chave: Solarização do solo; *Pseudomonas* fluorescente;
Supressividade do solo; *Rhizoctonia solani*

Aos meus pais **José Miguel Bueno** e
Irene Paliari Bueno pela educação,
amor e incentivo que me são dedicados

OFEREÇO

Aos meus irmãos e irmãs,
principalmente à minha irmã
Maria Angélica Bueno e à minha
namorada **Jamilla Teixeira Pinto**

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. **Nilton Luiz de Souza** pela orientação na realização deste trabalho, pelos ensinamentos e amizade.

Às Prof^{as}. Dr^{as}. **Marli Teixeira de A. Minhoni** e **Eiko Eurya Kuramae-Izioka** que participaram na elaboração escrita do projeto e na cessão de equipamentos para a condução do trabalho.

Aos Prof(s). Dr(s). **Yodiro Masuda** e **Edson Luiz Furtado**, membros da comissão examinadora da dissertação, pelas sugestões e críticas prestadas ao trabalho.

À **FAPESP** pela concessão da bolsa de estudo e pelo auxílio financeiro, através da Reserva Técnica, para a realização da pesquisa.

Aos **Professores** e **Funcionários** do Departamento de Defesa Fitossanitária pelos ensinamentos, apoio e colaboração.

Aos **colegas** pós-graduandos do curso de Proteção de Plantas.

Aos/As amigos(as) **Janaína, Roseli, Natália, Maurício, Christiane, Adriana** e **Rogério** pela companhia, diversão, ajuda e incentivo.

À família de minha namorada e, na pessoa do meu futuro sogro, **Geraldo Eugênio Coelho Pinto** pelo auxílio nas correções gramaticais da dissertação.

À **Faculdade de Ciências Agrônomicas-UNESP-Botucatu/SP**, pela oportunidade concedida para a realização da minha pós-graduação.

Aos **funcionários** da Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrônomicas pelo auxílio na revisão bibliográfica.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram na realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE QUADROS.....	VI
LISTA DE FIGURAS.....	VII
APÊNDICE.....	IX
1 RESUMO.....	1
2 SUMMARY.....	3
3 INTRODUÇÃO.....	5
4 REVISÃO DE LITERATURA.....	7
4.1 Rhizoctonia solani.....	7
4.2 Solarização do solo	9
4.3 Solarização e locais de sua aplicação	10
4.4 Solarização e supressividade de solos	12
4.5 Solarização x <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescentes x supressividade de solos	14
5 MATERIAL E MÉTODOS.....	18
5.1 Obtenção dos isolados do patógeno e das sementes	18
5.2 Experimentos realizados	19
5.2.1 Primeira etapa - solarização	21
5.2.1.1 Isolamento e quantificação de <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescentes.....	24

5.2.1.2 População de <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescentes no campo e túnel plástico....	
.....	25
5.2.2 Segunda etapa - Casa-de-vegetação	26
5.2.2.1 Teste de patogenicidade	27
5.2.2.2 População de <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescente e incidência e severidade de <i>Rhizoctonia solani</i>	29
5.3 Testes com <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescentes.....	30
5.3.1 População epífita em sementes de feijão.....	30
5.3.2 População endógenas em sementes de feijão.....	31
5.3.3 Antagonismo a <i>Rhizoctonia solani</i>	32
5.3.4 Identificação do gênero das bactérias fluorescentes isoladas.....	33
5.4 Análise dos resultados	33
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
6.1 Temperaturas registradas	34
6.2 Avaliação da primeira etapa nos dois períodos (solarização).....	37
6.3 Avaliação da segunda etapa nos dois períodos (casa-de-vegetação).....	41
6.4 Testes com <i>Pseudomonas</i> fluorescentes	49
6.4.1 População epífita em sementes de feijão	49
6.4.2 População endógenas em sementes de feijão	50
6.4.3 Antagonismo a <i>Rhizoctonia solani</i>	50
6.4.4 Identificação do gênero das bactérias fluorescentes isoladas.....	52
7 CONCLUSÕES.....	54
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55

LISTA DE QUADROS

Quadro	Página
1 Análise química dos solos coletados nas áreas experimentais.....	20
2 Análise física dos solos coletados nas áreas experimentais.....	20
3 População de <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescentes durante o primeiro experimento de solarização do solo no túnel plástico e no campo.....	38
4 População de <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescentes, durante o segundo experimento de solarização do solo no túnel plástico e no campo.....	39
5 Germinação, determinação do índice médio de severidade do isolado de <i>Rhizoctonia solani</i> SJ 02 de soja e as populações de <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescentes em condições de casa-de-vegetação.....	41
6 Germinação, determinação do índice médio de severidade do isolado de <i>Rhizoctonia solani</i> SJ 02 de soja e as populações de <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescentes em casa-de-vegetação.....	43
7 Resultados dos testes de morfologia celular, bioquímicos e fisiológicos dos isolados das bactérias fluorescentes e não fluorescentes.....	52

LISTA DE FIGURAS

Figuras	Página
1 Áreas solarizada (S) e testemunha (T) no túnel plástico.....	22
2 Áreas solarizada (S) e testemunha (T) no campo.....	22
3 Esquema da área útil para amostragem de solo.....	23
4 Colônias de <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescentes no meio de cultura King'B modificado, fotografadas no aparelho FOTODYNE.....	25
5 Temperaturas máximas registradas nas parcelas solarizadas e não solarizadas do túnel plástico e a precipitação no primeiro experimento.....	35
6 Temperaturas máximas registradas nas parcelas solarizadas e não solarizadas do campo e a precipitação no primeiro experimento.....	35
7 Temperaturas máximas registradas nas parcelas solarizadas e não solarizadas do túnel plástico e a precipitação no segundo experimento.....	36
8 Temperaturas máximas registradas nas parcelas solarizadas e não solarizadas do campo e a precipitação no segundo experimento.....	36
9 População de <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescentes durante o primeiro experimento no túnel plástico e no campo.....	39
10 População de <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescentes durante o segundo experimento no túnel plástico e no campo.....	40
11 População média de <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescentes do primeiro experimento, em vasos, com solo infestado com <i>R. solani</i> e o índice médio de severidade.....	42

12 População média de <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescentes do primeiro experimento, em vasos, com solo não infestado com <i>R. solani</i> e o índice médio de severidade.....	42
13 População média de <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescentes do segundo experimento, em vasos, com solo infestado com <i>R. solani</i> e o índice médio de severidade.....	44
14 População média de <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescentes do segundo experimento, em vasos, com solo não infestado com <i>R. solani</i> e o índice médio de severidade.....	44
15 Isolado A de <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescente nos meios KB e BDA.....	51
16 Isolado B de <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescente nos meios KB e BDA.....	51
17 Isolado C de <i>Pseudomonas</i> spp. não fluorescente nos meios KB e BDA.....	51
18 Isolado D de <i>Pseudomonas</i> spp. não fluorescente nos meios KB e BDA.....	51

APÊNDICE

Quadro	Página
8 Temperaturas de solo e do ar (°C) diárias registradas, a 10 cm de profundidade e a 1 metro da superfície do solo, respectivamente, durante a primeira solarização realizada no período de 19/11/99 a 24/12/99.....	68
9 Temperaturas de solo e do ar (°C) diárias registradas, a 10 cm de profundidade e a 1 metro da superfície do solo, respectivamente, durante a segunda solarização realizada no período de 17/02/00 a 23/03/00.....	70

1 RESUMO

O trabalho foi realizado nas instalações do Departamento de Produção Vegetal/Defesa Fitossanitária da Faculdade de Ciências Agronômicas-UNESP (22°51'S e 48°26'W)- Botucatu/SP e consistiu da instalação de dois experimentos idênticos em épocas distintas com duas etapas cada. A primeira destas objetivou verificar o efeito da solarização sobre a comunidade nativa de *Pseudomonas* spp. fluorescentes no campo e em túnel plástico. Nesta fase, monitorou-se a população das bactérias aos 0, 7, 14, 21, 28 e 35 dias durante a solarização. Na segunda etapa, verificou-se a indução de supressividade do solo, no controle da doença, em feijoeiro na cultivar 'IAC Carioca', causada por *Rhizoctonia solani* GA 4 HGI, agente causal do 'damping-off' do feijoeiro, através do emprego do solo previamente solarizado ou não, transportado para vasos, sob condições de casa-de-vegetação. Monitorou-se a população das bactérias em meio B de King e o índice de severidade de *R. solani* aos 7, 14 e

21 dias após a semeadura através de escala de notas. Para a inoculação o fungo foi cultivado em substrato areno-orgânico e incorporado ao solo na proporção de 0,5% p/v.

A detecção endofítica ou epífita de *Pseudomonas* spp. fluorescentes em sementes de feijão, o teste de antagonismo a *Rhizoctonia solani* e a caracterização genérica através de testes morfológicos e bioquímicos, foram feitos em condições de laboratório.

O tempo de solarização foi de 35 dias nos períodos de 19/11/99 a 24/12/99 e de 17/02/00 a 23/03/00. Observou-se maiores temperaturas em túnel plástico nos dois períodos. As maiores médias máximas no campo e túnel plástico foram maiores no primeiro período do que no segundo.

A solarização e ausência de cobertura vegetal diminuíram a população das bactérias a níveis indetectáveis no campo e túnel. A solarização, no campo e túnel, não induziu supressividade do solo para *R. solani*. Não se observou bactérias endofíticas e epífitas nas sementes de feijão. Verificou-se antagonismo 'in vitro', nos meios BDA e B de King, pelas duas bactérias fluorescentes, isoladas no transcorrer dos experimentos, frente a *R. solani* AG 4 HGI. As bactérias utilizadas no teste de antagonismo foram caracterizadas como pertencentes ao gênero *Pseudomonas* tipo fluorescentes.

SOLARIZATION EFFECT ON THE POPULATION OF THE ANTAGONIST *Pseudomonas* spp. FLUORESCENT AGAINST *Rhizoctonia solani* kühn GA 4 HGI. Botucatu, 2000. 71p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Proteção de Plantas) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: CÉSAR JÚNIOR BUENO
Adviser: NILTON LUIZ DE SOUZA

2 SUMMARY

The study was carried out at the Department of Plant Production - UNESP– Botucatu/SP, Brazil (22°51'S and 48°26'W). The study consisted of two identical experiments installed in different periods with two stages each. The objective of the first experiment was to verify the effect of solarization on the native community of fluorescent *Pseudomonas* spp. under field and plastic tunnel conditions. The bacterium population was monitored at 0, 7, 14, 21, 28 and 35 days of solarization. In the second experiment, it was verified a possible induction of soil suppressiveness to control disease, caused by *Rhizoctonia solani* GA 4 HGI on bean 'IAC Carioca', through solarized or not solarized soil transferred to vases, under greenhouse conditions. The bacterium population was monitored in King's B medium and the severity rate of *R. solani* was determined at the 7, 14 and 21 days after sowing using a scale of notes. *R. solani* was cultivated for inoculation in sand-organic substratum and incorporated at the soil in the 0.5 w/v proportion.

The detection of the endophytic or epiphytic forms of the fluorescent *Pseudomonas* spp. in bean seeds, the antagonism test against *Rhizoctonia solani* and the

generic characterization by the morphological and biochemistry tests were made under laboratory conditions.

The extension of the solarization was 35 days, from 11/19/00 to 12/24/00 and from 02/17/00 to 03/23/00. The greatest temperatures were observed in plastic tunnel in both periods. The greatest maximum media temperatures were bigger in the first period than in the second one.

The soil solarization and the absence of vegetable mulching decreased the bacteria population at undetected levels in the field and tunnel. The soil solarization in the field and tunnel did not induce soil suppressiveness to *R. solani*. It was not observed endophytic and epiphytic forms of the fluorescent bacteria *Pseudomonas* spp. on the bean seeds. It was verified 'in vitro' antagonism in the King's B and PDA medium against the *R. solani* GA 4 HGI by the two fluorescent bacterium isolated during the experiments. The bacterium used in the antagonism test were characterized as belonging at the fluorescent forms of the *Pseudomonas* genus.

Key words: Soil solarization, fluorescents *Pseudomonas*, *Rhizoctonia solani*, soil suppressiveness.

3 INTRODUÇÃO

A técnica de cultivo protegido tem aumentado significativamente no Brasil e, principalmente no estado de São Paulo. Entretanto um dos fatores limitantes a este desenvolvimento é o aumento de doenças causadas por fungos de solo em certas culturas, ocasionando, principalmente, danos radiculares e vasculares nas plantas. Um fitopatógeno de solo com destaque em relação à sua agressividade é o fungo *Rhizoctonia solani* Kühn. Trata-se de organismo necrotrófico, habitante de solo, que ataca grande número de espécies vegetais em todo o mundo, causando, comumente, “damping-off” em plântulas e podridão de raiz e colo. O patógeno torna-se ainda mais problemático em cultivo protegido devido as condições altamente favoráveis que encontra. Como alternativa ao controle químico, a solarização tem

sido bastante estudada, tratando-se de uma das poucas técnicas utilizadas no controle de diversos patógenos do solo.

Algumas bactérias do gênero *Pseudomonas*, do tipo fluorescentes, são sensíveis à solarização, mas recompõem suas populações em solo solarizado, devido a liberação de exsudados oriundos de sementes e raízes de plantas plantadas, aos níveis de torná-lo supressivo à fitopatógenos. Em função do potencial destas bactérias, o trabalho teve como objetivo:

- verificar a sensibilidade de *Pseudomonas* fluorescentes à solarização em condições de campo aberto e túnel plástico; - constatar a provável supressão de *Rhizoctonia solani* por *Pseudomonas* fluorescentes; - verificar a provável presença endofítica e epifítica de *Pseudomonas* fluorescentes em sementes de feijão IAC Carioca, o biocontrole 'in vitro' à *Rhizoctonia solani* e a caracterização genérica da bactéria.

Justificou-se o presente trabalho pelo aumento no sistema de cultivo protegido e pela tendência mundial de redução no uso de defensivos químicos, procurando alternativas mais baratas, eficientes, com efeito prolongado, e menos prejudiciais ao homem e ao ambiente.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 *Rhizoctonia solani*

Os patógenos de solo são os de maior importância devido ao uso de sistemas de irrigação tipo pivô, plantios adensados, monocultura, cultivo protegido entre outros. O impacto da ocorrência, principalmente das doenças fúngicas, está no fato de limitarem a produção nestes sistemas e na ausência de soluções para o seu controle a curto prazo (Café Filho & Lobo Júnior, 2000). Dentre esses patógenos de solo, destaca-se o fungo *Rhizoctonia solani*.

Rhizoctonia solani Kühn é um fungo necrotrófico, habitante de solo, que ataca grande número de espécies vegetais em todo o mundo, causando, comumente, "damping-off" em plântulas e podridões de raiz e colo.

A morfologia de *R. solani* é caracterizada pela ramificação do micélio que ocorre próxima ao septo distal em hifas jovens; pela presença de septos do tipo doliporo; pelas ramificações de hifas que são concêntricas em sua extremidade basal, por células multinucleadas (quando jovens); por hifas com 6-10 µm de comprimento; pela ausência de conídios e pela fase teleomórfica corresponder a *Thanatephorus cucumeris* (Sneh et al., 1991).

A espécie *Rhizoctonia solani* Kühn pertence ao Reino Fungi, Phylum Basidiomycota, Classe Basidiomycetes, Ordem Ceratobasidiales, Família Ceratobasidiaceae (Hawksworth et al., 1995).

No Brasil este patógeno pode causar perdas consideráveis à várias plantas cultivadas comercialmente, como pimentão (*Capsicum annuum* L.), seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.), soja (*Glycine max* (L.) Merr.), amendoimzeiro (*Arachis hypogaea* L.) e feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) (Fenille, 1997).

Particularmente para a cultura do feijão, *R. solani* é um importante patógeno, causador de "damping-off" e podridões de colo e raiz.

A partir de conceitos recentemente utilizados, *R. solani* pode ser agrupada em 11 GA e 16 GIE, sendo considerada desta forma, uma espécie complexa (Fenille, 1997).

GA (grupo de anastomose) representa um grupo de isolados intimamente relacionados capazes de auto-reconhecimento através da fusão de hifas (anastomose). GIE (grupo intraespecífico) representa um subgrupo de isolados dentro de um GA cuja fusão de hifas é mais freqüente entre isolados do mesmo subgrupo ou, ainda possuem outras características particulares incluindo diferenças quanto à especificidade de gama de hospedeiros, utilização de nutrientes e diferenças genéticas baseadas em marcadores

moleculares. A maioria dos GIE são geneticamente e, também , com frequência morfológicamente distintas uns dos outros (Ceresini & Souza, 1997).

Para a cultura do feijoeiro, segundo Fenille (1997), vários GA são referidos como patogênicos, dentre os quais GA-4, mais especificamente o GA-4 HGI (“damping-off” e podridão de colo), GA-2-2 IIIB, GA-2-1, GA-1 IA e GA-1 IB.

4.2 Solarização do solo

O uso da energia solar na tentativa de controlar agentes bióticos no solo data de tempos remotos. Dentre os vários termos empregados para descrever a técnica estão o aquecimento solar do solo, cobertura plástica, cobertura com polietileno transparente, pasteurização solar, desinfestação solar e o termo solarização do solo é o mais aceito atualmente (Katan et al., 1987).

A solarização é um método seguro, barato e atóxico para o ambiente e para o homem (Katan & DeVay, 1991; Café Filho & Lobo Júnior, 2000). A solarização do solo consiste na elevação da temperatura do solo a partir do "aprisionamento" da radiação solar com a aplicação de filme de polietileno transparente sobre o solo úmido (Katan et al., 1976; Standifer et al., 1984; Ghini et al., 1992).

4.3 Solarização e locais de sua aplicação

A solarização do solo tem sido bastante utilizada em condições de campo, em pré-plantio, para o controle de fitopatógenos e outros agentes bióticos em épocas e regiões de alta radiação solar, resultando no aumento de produtividade (Souza, 1994). Embora a solarização seja muito usada no campo, a sua aplicação, em casa-de-vegetação, também é viável e com resultados divulgados muito promissores. Há vários estudos comparando o uso da técnica de solarização em casa-de-vegetação e no campo.

Kodama & Fukui (1982), testaram a solarização do solo em casa-de-vegetação no controle da murcha de *Fusarium* em morangueiro obtendo bons resultados. Também foi observado um aumento significativo no crescimento das plantas e na produção de frutos. Neste experimento, os autores obtiveram uma baixa recuperação do fungo nove meses após o tratamento, em solos solarizados na casa-de-vegetação. Garibaldi & Tamietti (1981, 1984), utilizaram a solarização do solo em casa-de-vegetação de vidro e de plástico, e no campo aberto, usando plástico de PVC e polietileno para controlar *Pyrenochaeta lycopersici* e *Verticillium dahliae* em tomateiro. Nas casas-de-vegetação o controle dos fungos foi eficiente, sendo que na cobertura de vidro os resultados foram mais consistentes, em duas colheitas sucessivas. No campo, o aumento na temperatura do solo com a solarização não foi suficiente para diminuir, de forma efetiva, a população dos patógenos no solo. Katan et al. (1986), relataram que nas épocas marginais, maio e setembro, em Israel, obteve-se na casa-de-vegetação de vidro um aumento de temperatura de 5 e 2°C maior do que os dados obtidos no campo, a 10 e 30 cm de profundidade, respectivamente. Estas diferenças de temperatura foram

suficientes para controlar parcialmente os patógenos *V. dahliae* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* na casa-de-vegetação, enquanto que no campo não se observou nenhum controle. Na Bélgica, Welvaert & Poppe (1986) concluíram que a solarização em casa-de-vegetação de vidro é viável devido ao acúmulo de energia no seu interior. Este acúmulo de energia, possibilitou redução significativa de *Rhizoctonia solani* no solo solarizado da casa-de-vegetação e manteve, seis meses após a retirada do plástico, baixo potencial de inóculo.

De acordo com os trabalhos acima citados, observa-se que a solarização em casa-de-vegetação é mais eficiente do que no campo porque a cobertura plástica da casa-de-vegetação reduz a entrada da radiação solar mas, as altas temperaturas em seu interior são "aprisionadas", quando totalmente fechadas, o que reduz as perdas por fluxo de calor contribuindo para uma maior temperatura no solo (Mahrer, 1991). Kodama & Fukui (1982) relataram que a temperatura do solo a 20 cm de profundidade, no interior do túnel plástico, pode atingir até 40°C em apenas três dias de solarização, durante o verão, e esse aumento varia de acordo com a temperatura em campo aberto. Dentro da casa-de-vegetação a temperatura no solo solarizado é cerca de 16°C maior que em solo não coberto no campo, e 8 a 10°C mais alta que em condições de solarização fora da estufa (Daffari et al., 1994). Segundo Horiuchi (1991), temperaturas de 40 a 45°C são obtidas facilmente em solo solarizado em túnel plástico e mantidas por várias horas a 20 cm de profundidade, o que é letal para a maioria dos patógenos de solo.

4.4 Solarização e supressividade de solos

Solos supressivos são aqueles nos quais o desenvolvimento da doença é suprimido ainda que patógenos sejam introduzidos na presença de hospedeiros suscetíveis (Huber & Schneider, 1982; Hornby, 1983).

Rovira (1982) descreveu que a supressividade não ocorre em todos os tipos de solo.

Pozzer & Cardoso (1990) relataram a ocorrência, no Centro Oeste Brasileiro, de supressividade natural de um latossolo vermelho escuro (LVE) à *R. solani*. Neste solo, notou-se uma redução em torno de 50% na incidência de *R. solani* em plântulas de feijoeiro, em comparação com amostras de um solo orgânico distrófico (SOD) e de uma terra roxa estruturada (TRE). A adição de alíquotas de LVE ao SOD proporcionou uma transferência da supressividade notadamente por uma crescente redução da doença no SOD. Scher & Baker (1980) constataram também a transferência de supressividade de um solo supressivo para um conducente. Pozzer & Cardoso (1990) constataram em seu trabalho a quebra da atividade biológica no LVE, através do tratamento térmico do solo (60°C por 50 minutos) que reduziu sua supressividade. A maioria dos solos supressivos são pesados e argilosos (Alabouvette et al., 1985), a exemplo da constatação da supressividade natural do latossolo vermelho escuro. Esta observação pode estar relacionada com o tamanho da população de antagonistas determinada pela grande umidade armazenada nestes solos (Pozzer & Cardoso, 1990).

A supressividade de solo, no entanto, pode ser induzida por inúmeros fatores tais como: monocultura, rotação de culturas, uso de agentes com habilidade antagônica ou manipulação do ambiente do solo para aumentar a atividade dos agentes antagônicos. Este procedimento pode envolver o pH, uso de fertilizantes e micronutrientes, incorporação de matéria orgânica e mais recentemente empregando-se a solarização do solo (Henis et al., 1979; Chet & Baker, 1980; Liu & Baker, 1980; Scher & Baker, 1980; Baker & Chet, 1982; Kao & Ko, 1983).

Os solos solarizados tornam-se supressivos para certos patógenos devido a baixa reinfestação. Nestes solos, o ambiente é hostil e menos receptivo aos patógenos devido ao aumento no processo biológico (Greenberger et al., 1987; Katan, 1996). Hardy & Sivasithamparam (1985) relataram que a solarização cria um vácuo biológico parcial no solo propiciando, posteriormente, o desenvolvimento de microrganismos menos específicos e mais competitivos, explicando a baixa reinfestação dos patógenos em solos supressivos devido à solarização.

O acúmulo da fungistase, parasitismo ou da lise por antagonistas estimuladas por altas temperaturas, a morte de patógenos enfraquecidos causada por organismos termo tolerantes, a antibiose e a competição são fatores que levam principalmente à redução da densidade e do potencial de inóculo, assim como à diminuição da habilidade dos patógenos competirem saprofiticamente, condicionando a supressividade em solos solarizados. (Greenberger *et al.*, 1986; Greenberger *et al.*, 1987; Cardoso & Freitas, 1992; Souza, 1994).

Há várias constatações de que a solarização torna o solo supressivo para certos patógenos, tais como: *Verticillium dahliae*, *Rhizoctonia solani* e dentre outros

(Huber e Schneider, 1982; Hardy & Sivasithamparam, 1985; Greenberger et al., 1987; Café Filho & Lobo Júnior, 2000; Bueno et al. 2000). Para *R. solani* especificamente, Katan (1996) relatou a redução na incidência deste patógeno sobre feijão em solos solarizados por duas ou três colheitas sucessivas. A supressividade ocorreu nos solos solarizados devido a troca dos microrganismos em favor dos benéficos diminuindo, assim, a recolonização de *R. solani*.

Rovira (1982) relatou a lise de hifas de *Phytophthora cinnamoni* por bactérias em solos considerados supressivos mas, afirma que esse ataque é menor em solos condutivos. O estudo da lise de hifas de patógenos por bactérias ainda não foi totalmente explorado, mas este mecanismo segundo o autor, é o mais importante na supressão de solos.

4.5 Solarização x *Pseudomonas* spp. fluorescentes x supressividade de solos

As bactérias do gênero *Pseudomonas* estão entre os antagonistas mais afetados pela solarização do solo (Souza, 1994; Keinath, 1995) e que têm sido relatadas como componentes ativos de solos supressivos a doenças (Gamliel et al., 1987; Gamliel & Katan, 1991; Siqueira, 1993). As bactérias *Pseudomonas* fluorescentes apesar de serem altamente sensíveis à solarização têm a sua população recomposta rapidamente em solos solarizados devido a liberação de exsudados de sementes em germinação e de raízes de plantas (Gamliel et al., 1987; Gamliel & Katan, 1991; Gamliel & Katan, 1992a; Gamliel & Katan, 1992b).

Cardoso & Freitas (1992) relataram que os fungos *Penicillium*, *Rhizopus*, *Rhizoctonia*, dentre outros, também são estimulados por exsudados radiculares.

A atividade microbiana, patogênica ou não, é muito maior na rizosfera do que no restante do solo. A razão média entre a população de bactérias (UFC) na rizosfera :

solo é de 15:1, mas também pode chegar a 60:1 (Café Filho & Lobo Júnior, 2000). Já, Brandão (1992), relata que as populações bacterianas são maiores na superfície do solo, uma vez que nessa faixa encontram-se maiores teores de matéria orgânica.

O microhabitat das bactérias, segundo Siqueira (1993), localiza-se nos horizontes superficiais do solo, especialmente junto a agregados de argila-matéria orgânica, aderida a argila ou quartzo e na rizosfera. As maiores representantes são *Bacillus*, *Xanthomonas*, *Pseudomonas* dentre outras. A densidade populacional das bactérias no solo comumente relatada na literatura está entre 10^6 e 10^9 ufc/g de solo.

Algumas bactérias do gênero *Pseudomonas* são produtoras de antibióticos e se comportam de maneira altamente agressiva no ambiente biótico, aparecendo como componentes na sustentação da supressividade em solos solarizados (Souza, 1994). Essa sustentação na supressividade de solos por *Pseudomonas* ocorre porque elas prevalecem em relação às demais bactérias no solo, devido a sua maior taxa de multiplicação e capacidade de produzir substâncias inibidoras (Cardoso & Freitas, 1992).

As rizobactérias, dentre elas as *Pseudomonas*, têm um alto potencial para reduzir o nível de inóculo de *R. solani*, suprimir sua atividade saprofítica e patogênica e, resultar no seu biocontrole (Homma, 1996). A estratégia de supressão de *R. solani* por *Pseudomonas* está na produção de antibióticos e sideróforos. Os antibióticos que mais estão envolvidos no controle de *R. solani* são pyrrolnitrina, pseudane, phenazina e phloroglucinol (Homma, 1996). Siderofóros produzidos por *Pseudomonas* fluorescentes têm recebido muita atenção porque estão relacionados ao biocontrole de patógenos de solo e à supressividade de solos (Siqueira, 1993; Homma, 1996).

Pseudomonas spp. fluorescentes são caracterizadas por produzirem pigmentos amarelo esverdeados, como pioverdinas ou pseudobactinas, cuja função é semelhante a dos sideróforos. Além disso, estas bactérias ajudam no crescimento de plantas em solos solarizados ou supressivos por serem agentes biocontroladores (Cox, 1980; Kloepper et al., 1980; Teinze et al., 1981; Weller, 1988; Gamliel & Katan, 1991; Nakata et al., 2000). O estímulo no crescimento de plantas propiciado pelas bactérias está na produção de fitohormônios incluindo auxinas e citocininas, auxília na fixação do nitrogênio da atmosfera, solubilização de fósforo, oxidação do enxofre, aumento da permeabilidade das raízes, o que estimula a absorção de nutrientes e produção de sideróforos, que seqüestram e solubilizam o íon férrico, tornando-o indisponível aos patógenos (Cardoso & Freitas, 1992; Siqueira, 1993; Mariano & Kloepper, 2000).

Sideróforos são compostos de baixo peso molecular, produzidos em baixa disponibilidade de ferro, forma quelatos de íon férrico com uma alta atividade específica e serve como transporte de Fe^{3+} dentro da célula microbiana (Homma, 1996).

Colin & Maraite (1987) relataram a influência do íon ferro na habilidade antagônica, produção de sideróforos e atividade biológica em dois isolados de *Pseudomonas* fluorescentes frente a *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. A adição do íon ferro diminuiu a inibição pelos isolados à *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* devido a baixa produção de sideróforos e antagonismos "in vitro".

Não existe relação entre a habilidade das bactérias inibirem os patógenos 'in vitro' e suprimir as doenças causadas pelos patógenos 'in vivo'. Um dos motivos está na perda da competência ecológica das bactérias, mudanças na morfologia das

células e da colônia, perdas das estruturas da superfície da célula ou na redução da produção de antibióticos e sideróforos (Weller, 1988).

Cardoso & Echandi (1990) relataram que muitos microrganismos têm sido relatados como potenciais para o controle biológico de *R. solani* em condições experimentais, mas nenhum deles têm sido eficiente no controle em condições de campo.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Obtenção dos isolados do patógeno e das sementes

Foi utilizado o isolado *Rhizoctonia solani* AG-4 HGI, de soja, proveniente da micoteca do Departamento de Produção Vegetal/Defesa Fitossanitária da FCA-UNESP-Campus de Botucatu/SP e pertencente ao mesmo grupo de anastomose que infecta o feijoeiro, conforme citado por Ceresini & Souza (1997).

O isolado encontra-se preservado em tubos de cultura contendo BDA (batata dextrose ágar) mais óleo mineral Nujol estéril e armazenado a temperatura ambiente.

O fungo foi transferido para placas contendo BDA+50µg/mL de oxitetraciclina e incubado a 26°C sob ausência de luz para posterior preparação de inóculo e a realização do teste de patogenicidade.

Foram utilizadas sementes de feijão da cultivar 'IAC Carioca', suscetível ao fungo *R. solani* AG-4 HGI (Sugino & Maringoni,1995), obtidas junto a Secretária de Agricultura e Abastecimento do estado de São Paulo, no Departamento de Sementes, Mudas e Matrizes, Campo de Avaré/SP.

O teste de germinação foi realizado com papel germitest, com 50 sementes e três repetições. Após 3 dias de incubação em BOD a 28°C, observou-se a emissão ou não de radículas e procedeu-se as avaliações. O critério utilizado para avaliar o ensaio foi: as sementes que emitiram radículas, desde pequenas a grandes, foram consideradas sementes germinadas e as que não emitiram radícula, consideradas sementes não germinadas.

A média de germinação de 95% demonstrou que as sementes de feijoeiro da cultivar 'IAC Carioca' encontravam-se adequadas para serem utilizadas no teste de patogenicidade.

5.2 Experimentos realizados

Dois experimentos, idênticos, foram realizados. O primeiro no período de novembro e dezembro de 1999 a fevereiro de 2000 e o segundo no período de fevereiro a abril de 2000. Cada um deles constou de duas etapas a saber:

Etapa 1. Verificar o efeito da solarização sobre a comunidade x população de *Pseudomonas* spp. fluorescentes, em condições de túnel plástico e de campo;

Etapa 2. Estudar o efeito das bactérias *Pseudomonas* spp. fluorescentes presentes em solo solarizado ou não, durante a etapa 1, na supressão de doença em feijoeiro causada por *Rhizoctonia solani* GA 4 HGI, em um ensaio em vasos, sob condições de casa-de-vegetação.

O túnel contendo solo classificado como Latossolo Vermelho-Escuro fase arenosa foi coberto, inclusive as laterais, com o filme de polietileno transparente de 150 µm de espessura e com tratamento anti UV (ultra violeta).

Coletou-se amostras de solo, do túnel e do campo, para análises químicas e físicas (Quadros 1 e 2). No túnel plástico e no campo, as amostras de solo foram coletadas com auxílio do amostrador de camadas, a 20 cm de profundidade, em cinco pontos aleatórios, perfazendo uma amostra composta de cada local. As análises físicas e químicas foram feitas no Departamento de Recursos Naturais da FCA-UNESP, Botucatu/SP.

Quadro 1. Análise química dos solos coletados nas áreas experimentais.

Local de coleta	pH	M.O	P resina	mmol _c /dm ³						V
				CaCl ₂	g/dm ³	mg/dm ³	H+Al	K	Ca	
Túnel	4,6	7	1	18	0,1	5	1	6	25	26
Campo	4,6	14	3	25	0,4	9	2	12	37	32

Quadro 2. Análise física dos solos dos solos coletados nas áreas experimentais.

Local de coleta	Areia total	Argila	Silte	Arg. Nat.	Textura do solo
Túnel	70	23	7	-	Média ¹
Campo	81	19	0	-	Média

¹ Textura média: 0,5-0,25 mm.

5.2.1 Primeira etapa - solarização

As áreas dos tratamentos, nos dois períodos, foram preparadas com capina manual, destorroadas e niveladas. Em seguida, procederam-se irrigações para elevar a umidade dos solos, com auxílio de aspersores, conforme preconiza a técnica de solarização.

Foi utilizado o filme de polietileno transparente aditivado contra raios ultravioleta, com 75 μ m de espessura, nas áreas solarizadas (campo e túnel) nas duas épocas. Para a instalação dos plásticos, abriram-se sulcos ao redor das áreas onde foram fixadas as bordas dos mesmos com o próprio solo removido dos sulcos

As áreas dos tratamentos, solarizadas e testemunhas, nos dois períodos tiveram dimensões de 3,5 x 9,0 m, perfazendo-se 31,5 m² cada, tendo sido contíguas tanto no campo (Figura 1) como no túnel plástico (Figura 2).

O período de solarização de solo nos dois períodos foi de 35 dias.

No centro de cada uma das quatro áreas, no decorrer dos dois experimentos de solarização, demarcou-se uma área útil, utilizada para realizar amostragens de solo para o monitoramento de *Pseudomonas* spp. fluorescentes (Figura 3).



Figura 1: Áreas solarizada (S) e testemunha (T) no túnel plástico.



Figura 2: Áreas solarizada (S) e testemunha (T) no campo.

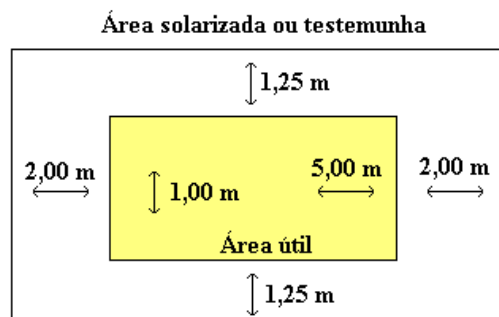


Figura 3: Esquema da área útil para amostragem de solo.

Os quatro tratamentos nos dois experimentos de solarização foram:

- Solo solarizado em túnel plástico;
- Solo testemunha em túnel plástico;
- Solo solarizado em campo;
- Solo testemunha em campo.

Durante cada período de solarização, registrou-se a temperatura do solo a 10 cm de profundidade e a do ar a 1 metro da superfície do solo, com auxílio de sensores conectados a um Datalogger DL 2E. O aparelho foi configurado para realizar leituras de hora em hora sendo os sensores instalados tanto nas áreas solarizadas como nas não solarizadas, no túnel e no campo.

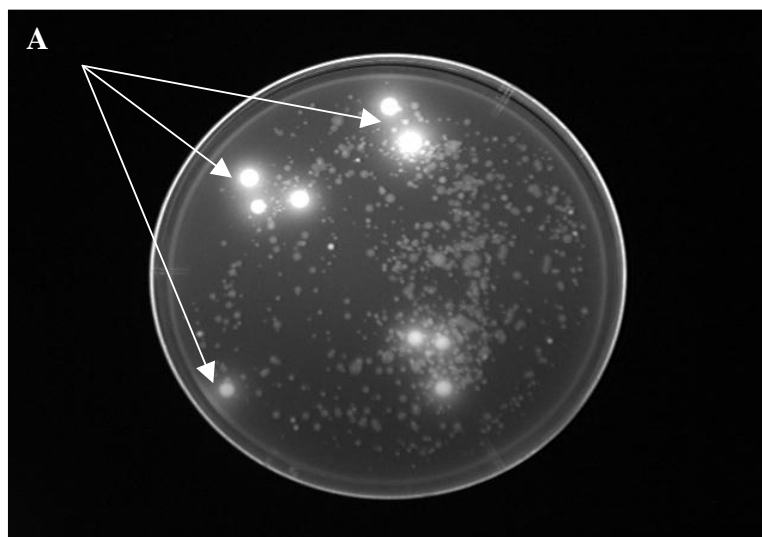
Tanto para a temperatura do solo como do ar, utilizou-se em cada tratamento, nas duas épocas de solarização, dois sensores para se obter posteriormente uma média dos dados coletados. Os dados pontuais das temperaturas encontram-se no apêndice (Quadros 8 e 9).

5.2.1.1 Isolamento e quantificação de *Pseudomonas* spp. fluorescentes

O processo de isolamento e contagem das populações de bactérias *Pseudomonas* spp. fluorescentes consiste na diluição seriada de amostras de solo, em solução salina, seguida da transferência de alíquotas em meio de cultura específico.

Para testar a adequação da metodologia proposta, primeiramente coletou-se amostras de solo, a 10 cm de profundidade, com auxílio de um amostrador de camadas, em 5 pontos aleatórios, no campo experimental do Departamento de Produção Vegetal / Defesa Fitossanitária-FCA-UNESP-Botucatu/SP, compondo uma amostra composta. Desta amostra composta, 10 g foram suspensas em 90 mL de solução salina esterilizada (0,85% NaCl). Após agitação por 40 minutos em um agitador de Erlenmeyers, uma alíquota de 1 mL da suspensão concentrada foi diluída em 9 mL de solução salina, em tubos de ensaio, obtendo-se posteriormente uma série progressiva de diluições na base 1:10. Cada tubo de diluição foi agitado em um Vortex por um minuto e posteriormente, com auxílio de uma micropipeta automática calibrada transferiu-se alíquotas de 100 μ L para as placas com o meio de cultura seletivo King's B (KB) modificado por Sands e Rovira (1970). Após incubação por 24 horas a 28°C no escuro, observou-se crescimento individualizado das colônias, proporcionalmente às diluições, o que viabilizou a contagem pelo método direto das colônias

de *Pseudomonas* spp. fluorescentes. As colônias foram avaliadas no aparelho FOTODYNE com sistema ultravioleta o que proporcionou ótima visualização e permitiu a contagem de



Pseudomonas spp. fluorescentes pelo método direto (Figura 4).

Figura 4: A- Colônias de *Pseudomonas* spp. fluorescentes no meio de cultura King'B modificado, fotografadas no aparelho FOTODYNE.

5.2.1.2 População de *Pseudomonas* spp. fluorescentes no campo e túnel plástico

A população de bactérias do gênero *Pseudomonas* spp. do tipo fluorescentes, do campo e do túnel plástico na primeira etapa dos dois experimento, foi monitorada durante os tempos de solarização (aos 0, 7, 14, 21, 28 e 35 dias). Portanto, as amostras de solo foram coletadas na área útil de cada área dos quatro tratamentos, com auxílio de amostrador de camadas, sendo cinco amostras aleatórias de solo retiradas de 125 mL cada, de 0 a 10 cm de profundidade, totalizando uma amostra composta de 625 mL.

Cada amostra foi submetida a determinação de umidade e quantificação de bactérias *Pseudomonas* spp. fluorescentes, conforme metodologia descrita no item 5.2.1.1. A determinação de umidade das amostras foi feita no aparelho GEHAKA com balança eletrônica BG 1000, dotado com sistema de secagem por raios infra-vermelho.

O acesso para a retirada das amostras de solo, nas áreas solarizadas do túnel e do campo, foi feito através de pequenos cortes no plástico, para introduzir o amostrador de camadas e, assim que as amostras foram retiradas, o filme foi vedado com adesivo plástico nos locais de corte, para preservar o calor acumulado.

5.2.2 Segunda etapa – casa-de-vegetação

Após o término da primeira etapa 1 (nos dois experimentos), instalou-se a etapa 2. Para tanto, coletou-se, no túnel plástico e no campo, solo solarizado e não solarizado a uma profundidade de 0 a 10 cm na área útil de 5 m² demarcada, o suficiente para encher 30 vasos/tratamento. Em uma betoneira homogeneizou-se, em separado, cada um dos solos coletados.

O delineamento da etapa 2, nas duas épocas de instalação, foi em blocos ao acaso, com os seguintes 8 tratamentos e 5 repetições por época de avaliação da população de *Pseudomonas* fluorescentes:

- Solo solarizado do túnel plástico com infestação de *R. solani*;
- Solo solarizado do túnel plástico sem infestação;
- Solo não solarizado do túnel plástico com infestação de *R. solani*;
- Solo não solarizado do túnel plástico sem infestação;
- Solo solarizado do campo com infestação de *R. solani*;

- Solo solarizado do campo sem infestação;
- Solo não solarizado do campo com infestação de *R. solani*;
- Solo não solarizado do campo sem infestação.

5.2.2.1 Teste de patogenicidade

- Preparação de inóculo do patógeno

O isolado *R. solani* GA 4 HGI de soja foi cultivado em substrato areno-orgânico, constituído por 3 partes de esterco curtido peneirado, 1 parte de areia lavada e 2% de farelo de aveia (p/v), umedecido com água destilada na proporção de 30 mL de água para cada 100 mL de substrato seco ao ar. Foram colocados cerca de 200 mL desse substrato por frasco de vidro transparente (soro fisiológico de 350 mL), tampado com rolha de borracha furada ao centro, na qual se introduziu um tubo de alumínio vazado, vedando-se com tampão de algodão.

Procedeu-se a autoclavagem do substrato por duas vezes, durante uma hora a 121°C, com um período de 24 horas entre as autoclavagens.

Para a superfície do substrato, após descanso de 24 horas, foram transferidos 3 discos de micélio de 5 mm de diâmetro obtidos da periferia de colônia crescida em BDA+oxitetraciclina a 26°C/72 horas, sob ausência de luz. Os frascos foram mantidos em incubadora a 26°C por 14 dias, até a infestação total do substrato. Alguns frascos permaneceram sem o fungo, servindo assim como testemunha da esterilização. Após 4 dias da

repicagem e a cada 3 dias, procedeu-se agitação dos frascos para promover a ocupação uniforme do substrato.

- Inoculação

O inóculo de *Rhizoctonia solani* foi incorporado numa mistura de substrato areno-orgânico contido nos frascos, com 500 mL de solo da superfície do vaso, na proporção de 0,5% (peso/volume). Incorporou-se também, o substrato sem o fungo na mesma proporção para o tratamento testemunha.

Após homogeneização em sacos plásticos, em separado, os solos com e sem o fungo foram retornados para os 1000 mL de solo restantes nos vasos. Em seguida, foram semeadas 10 sementes de feijão em cada vaso, sendo estes mantidos em casa-de-vegetação com temperatura ajustada para $25\pm 2^{\circ}\text{C}$. As sementes não foram submetidas a qualquer tipo de tratamento. Sempre que necessário os vasos foram molhados, de modo a manter a umidade próxima a capacidade de campo.

- Avaliação

A avaliação da severidade da doença foi realizada aos 15 dias após a semeadura. Determinou-se, também, a percentagem de plantas germinadas.

O índice de severidade foi determinado utilizando-se a escala de notas variável de 0 a 7, modificada de Davey & Papavizas (1959) e Chung et al. (1988), que apresenta os seguintes níveis de doença:

- 0 - sem infecção;
- 1- descoloração típica do caule, cotiledónes e raízes;
- 2- lesões pequenas;
- 3- lesões largas;
- 4- lesões extensas (50% do caule);
- 5- plantas completamente aneladas;
- 6- “damping-off” de pós-emergência;
- 7- “damping-off” de pré-emergência.

A porcentagem de plantas emergidas do tratamento testemunha foi semelhante ao teste de germinação confirmando o vigor e a sanidade das sementes. Este tratamento onde se incorporou o substrato areno-orgânico sem o fungo serviu para comparação da porcentagem de “damping-off” de pré-emergência nos tratamentos infestados com o fungo (Fenille & Souza,1999).

5.2.2.2 População de *Pseudomonas* spp. fluorescentes e incidência e severidade de *Rhizoctonia solani*.

Utilizou-se vasos plástico com 18 cm de diâmetro na parte superior e formato cônico, e capacidade para 1500 mL.

O preparo de inóculo de *Rhizoctonia solani*, a inoculação e a semeadura de feijão no solo dos vasos seguiu a mesma metodologia no teste de patogenicidade (5.2.2.1).

A avaliação da quantidade de doença e o monitoramento da população das bactérias *Pseudomonas* spp. fluorescentes no solo não rizosférico dos vasos, foram realizados aos 7, 14 e 21 dias após a semeadura.

A avaliação da severidade da doença, em cada tratamento, foi feita aos 7, 14, 21 dias após a semeadura por meio da retirada das plantas germinadas de cada vaso, seguida da lavagem do sistema radicular e, posteriormente, determinando-se o índice de doença (5.2.2.1).

O monitoramento da população das bactérias foi realizado concomitantemente à avaliação de doença através da coleta separada do solo sem raízes /tratamento, em separado, composto por cinco vasos. Cada amostra de solo foi homogeneizada em bandeja, retirando-se posteriormente uma amostra composta. De cada amostra foi determinada a umidade e quantificada a população das bactérias, conforme metodologia descrita no item 5.2.1.2. Com relação à umidade das amostras, estas também foram determinadas no aparelho GEHAKA com sistema de secagem por infra-vermelho e balança eletrônica BG 1000.

5.3 Testes com *Pseudomonas* spp. fluorescentes

5.3.1. Populações epífitas em sementes de feijão

Este teste seguiu a mesma metodologia utilizada por Alvarez *et al* (1995), que consistiu em agitar dois Erlenmeyers de 500 mL com 100 mL de solução salina esterilizada (0,85% NaCl) contendo amostras de 50 e 100 sementes de feijão da cultivar 'IAC

Carioca'. Agitaram-se os frascos a 70 rpm por 40 minutos em um agitador de Erlenmeyers "Ética" em condição de temperatura ambiente. Após agitação, uma alíquota de 1 mL da suspensão concentrada de cada frasco foi diluída em 9 mL de solução salina em tubo de ensaio, obtendo-se posteriormente uma série progressiva de diluições na base 1:10. De cada diluição, retirou-se uma alíquota de 0,1 mL que foi transferida para placas contendo o meio de cultura seletivo King's B (KB). Foram feitas quatro placas para cada frasco de diluição das duas amostras das sementes de feijão.

Outro teste realizado foi o plaqueamento direto das sementes de feijão sobre o mesmo meio KB. Colocou-se cinco sementes distribuídas de forma equidistantes sobre o meio de cinco placas. As placas dos dois testes foram mantidas no escuro a 28°C/48hs.

5.3.2. Populações endógenas em sementes de feijão

Este teste seguiu, em parte, a metodologia adotada por Alvarez *et al* (1995), que consiste em triturar 50 sementes da cultivar 'IAC Carioca' em um cadinho estéril, contendo água destilada estéril na proporção de 1:1 (p/v). Triturou-se as sementes com o pistilo do cadinho até extravasar o seu conteúdo para a água destilada estéril. Após trituração, com auxílio de uma escalpelo em aro, estriou-se o conteúdo concentrado das sementes, sem diluição, para a superfície do meio KB de cinco placas. As placas foram mantidas no escuro a 28°C/48 hs.

5.3.3. Antagonismo a *Rhizoctonia solani*

Realizou-se teste 'in vitro' de quatro isolados de *Pseudomonas* spp. obtidos ao longo dos experimentos, sendo que dos quatro isolados, dois eram fluorescentes (Isolado A e B) e dois não (Isolado C e D). Estes isolados foram testado frente ao isolado SJ 02 de *R. solani*. Para tanto seguiu-se a metodologia adotada por Gamliel & Katan (1991).

Os testes foram realizados em dois meios, KB e BDA (Batata Dextrose Ágar).

Primeiramente, repicou-se o isolado de *R. solani* em BDA sem antibiótico e incubou-o a 28°C na ausência da luz até crescimento total nas placas.

Os quatro isolados de *Pseudomonas* spp. foram repicados, em separado, para o meio basal KB e BDA sem adição de antibióticos e incubados a 28°C/48hs. Após 48 horas de incubação, repicou-se novamente os isolados, em separado, para os meios mas, procurando colocar cada isolado para cada meio na forma de três pontos equidistantes entre si formando um triângulo. No centro de cada triângulo, de cada isolado para cada meio, transferiu-se um disco de micélio do isolado de *R. solani* e posteriormente manteve-se as placas, no escuro, por 24 horas a 28°C . Após este período, procurou-se observar halos de inibição no crescimento do fungo por parte dos isolados das bactérias devido a produção de antibiótico.

5.3.4. Identificação do gênero das bactérias fluorescentes isoladas

Primeiramente, repicou-se os quatro isolados da bactéria utilizados no teste de antagonismo 'in vitro' para o meio NA (Nutriente Ágar) sem adição de açúcares sendo incubados a 28°C/48hs.

Os testes empregados para a identificação dos isolados foram os seguintes (Maringoni, 1995 e Ferreira & Salgado, 1995):

- . Reação de Gram;
- . Solubilidade em hidróxido de potássio (KOH a 3%);
- . Oxidação e fermentação da glicose;
- . Asparagina;
- . Fluorescência ou não em meio KB;
- . Acumulo ou não de inclusões de poli- β -hidroxibutirato.

5.4 Análise dos resultados

Todos os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância e médias comparadas, através do teste de Tukey.

As análises foram feitas utilizando o sistema de análise estatística (SANEST), do Instituto Agronômico de Campinas.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Temperaturas registradas

Os dados de temperaturas referentes ao primeiro experimento de solarização do solo realizado no período de 19/11/99 a 24/12/99 constam nas Figuras 5 e 6 e os dados referentes ao segundo experimento realizado no período de 17/02/00 a 23/03/00 constam nas Figuras 7 e 8.

Pelos dados do Quadro 8 e 9 do apêndice, pode-se constatar que as temperaturas médias das máximas nas áreas solarizadas e não solarizadas do túnel plástico (42,1°C) foi maior do que nas mesmas áreas do campo (36,7°C).

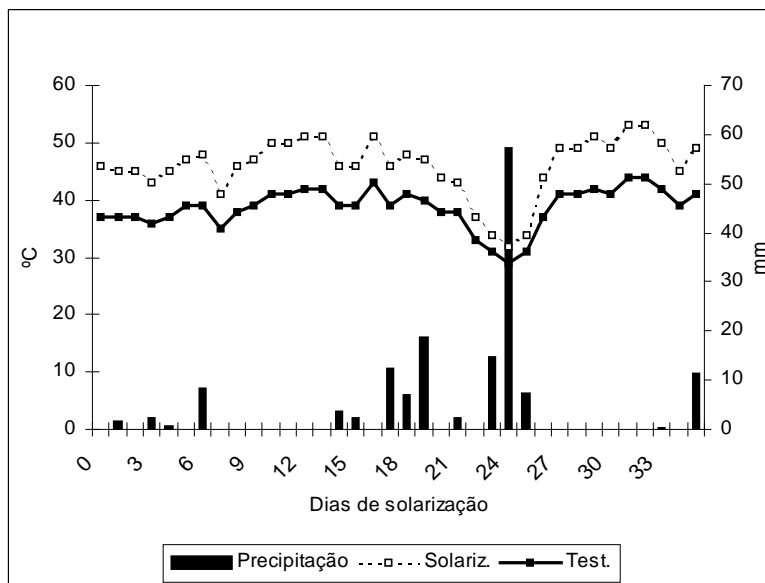


Figura 5. Temperaturas médias das máximas registradas nas áreas solarizadas e não solarizadas do túnel plástico e a precipitação no primeiro experimento

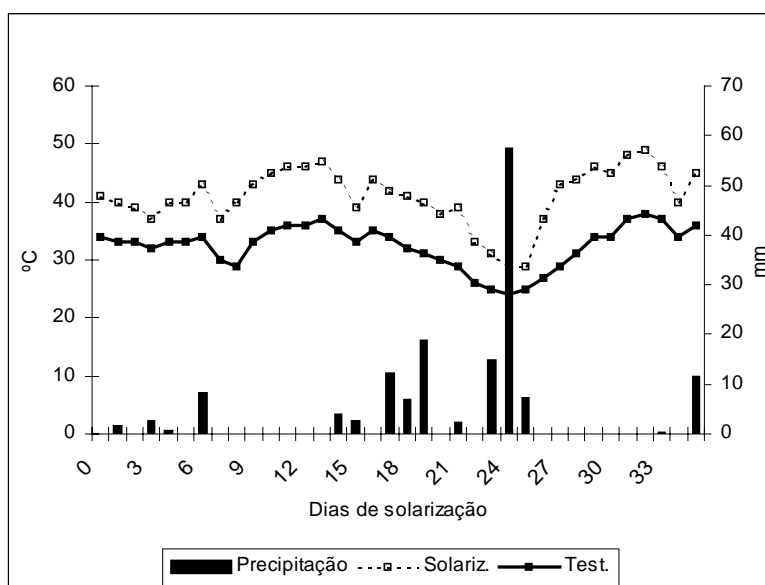


Figura 6. Temperaturas médias das máximas registradas nas áreas solarizadas e não solarizadas do campo e a precipitação no primeiro experimento.

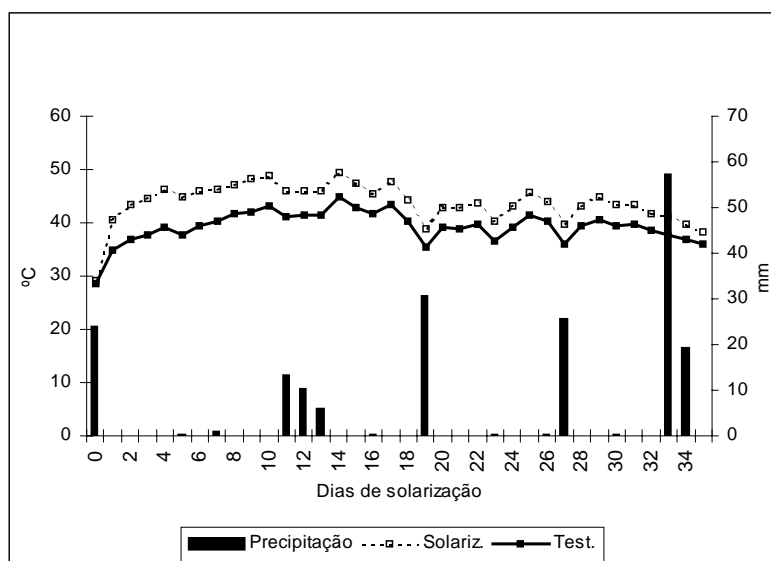


Figura 7. Temperaturas médias das máximas registradas nas áreas solarizadas e não solarizadas do túnel plástico e a precipitação no segundo experimento.

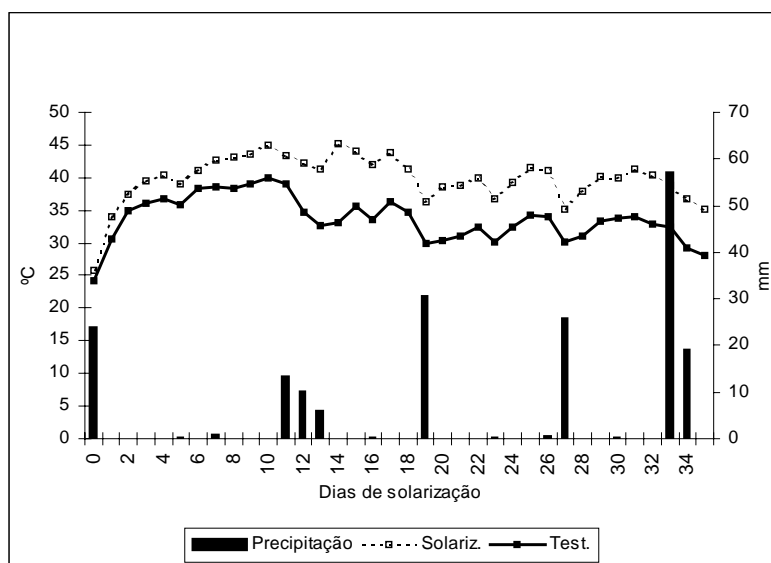


Figura 8. Temperaturas médias das máximas registradas nas áreas solarizadas e não solarizadas do campo e a precipitação no segundo experimento.

No primeiro período, a diferença entre a média máxima de temperatura da área solarizada e não solarizada no túnel em relação às áreas no campo foi de 5,8°C, sendo que a diferença, nas mesmas áreas no segundo período, foi de 4,9°C. Este diferencial ocorreu porque o túnel estando totalmente fechado com plástico para evitar o efeito de fatores do ambiente como vento, chuva, etc, favoreceu o acúmulo de calor no seu interior. Esta maior temperatura no túnel plástico foi constatada em outros trabalhos sendo que, com a entrada da radiação solar ultravioleta e a redução de perdas por fluxo de calor, as radiações infravermelho ficam “aprisionadas” no interior do túnel favorecendo a manutenção de altas temperaturas ocorridas na superfície do solo (Katan *et al.*, 1986; Welvaert & Poppe, 1986; Mahrer, 1991).

Estas diferenças expressam também que durante o primeiro experimento houve maiores temperaturas do que no segundo, conforme evidenciado pelas Figuras 5, 6, 7 e 8.

As precipitações nos dois períodos de solarização foram bem distribuídas e não prejudicaram o acúmulo de calor no solo. Outro fato consistente, foi a precisão na coleta de dados de temperatura do solo pelo aparelho DATALOGGER, registrando as oscilações da temperatura, observada nas duas áreas tratadas e não tratadas.

6.2 Avaliação da primeira etapa nos dois períodos (solarização)

Pelos resultados obtidos na primeira etapa dos dois experimento (Quadros 3 e 4; Figuras 9 e 10), pode-se verificar que a população das bactérias no túnel plástico, solarizado e testemunha, manteve-se durante todo o período das solarizações em níveis indetectáveis, o

que pode ser explicado pelo seguintes fatores que podem ter inviabilizado a sobrevivência das mesmas:

- Altas temperaturas no interior do túnel plástico, conforme figuras 5 e 7;
- Não reposição de umidade no solo durante os períodos de solarização, uma vez que o túnel foi inteiramente fechado com plástico para minimizar os efeitos da chuva;
- Ausência de raízes pela não ocorrência de plantas infestantes ou de qualquer outra cobertura vegetal durante todo o ano devido as altas temperaturas no seu interior;
- O método de plaqueamento direto, em meio de cultura, com diluições seriadas de amostras de solo não possui uma boa precisão para detectar baixas populações de bactérias no solo.

Quadro 3: População de *Pseudomonas* spp. fluorescentes durante o primeiro experimento de solarização do solo no túnel plástico e no campo.

Trat.	Períodos em dias					
	0	7	14	21	28	35
Túnel sol.	0* a ¹ A ¹	0 a A	0 a A	0 a A	0 a A	0 a A
Túnel test.	0 a A	0 a A	0 a A	0 a A	0 a A	0 a A
Campo sol.	1,6.10 ⁴ bA	1,1.10 ³ bB	0 a C	0 a C	0 a C	0 a C
Campo test.	1,4 .10 ⁴ bA	7,4.10 ² bB	2,3.10 ³ bC	1,4.10 ³ bB	1,2.10 ² aD	2,1.10 ² bD

CV (%)= 30.7;

* UFC/g solo seco;

¹ Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e, maiúscula na linha, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

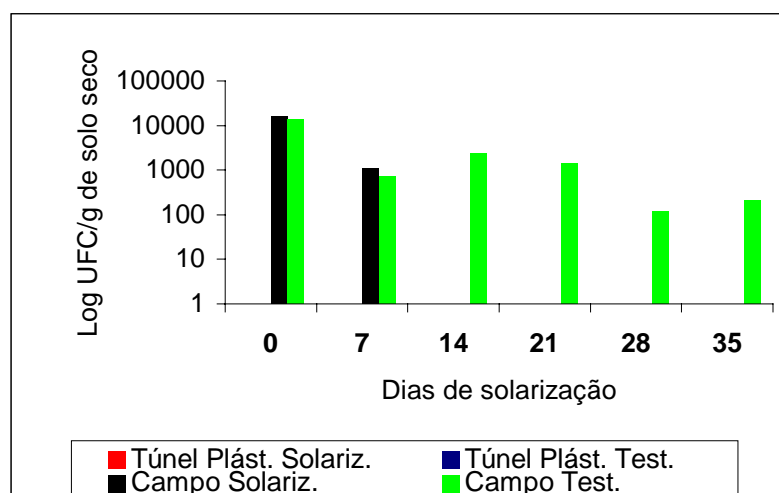


Figura 9: População de *Pseudomonas* spp. fluorescentes durante o primeiro experimento no túnel plástico e no campo.

Quadro 4: População de *Pseudomonas* spp. fluorescentes, durante o segundo experimento de solarização do solo no túnel plástico e no campo.

Trat.	Períodos em dias					
	0	7	14	21	28	35
Túnel sol.	0* a ¹ A ¹	0 a A	0 a A	0 a A	0 a A	0 a A
Túnel test.	0 a A	0 a A	0 a A	0 a A	0 a A	0 a A
Campo sol.	9,2.10 ² c A	2,0.10 ² c B	0 a C	0 a C	0 a C	0 a C
Campo test.	3,6.10 ³ b A	2,0.10 ³ b B	1,8.10 ³ b B	3,6.10 ² bC	0 a D	0 a D

CV (%)= 54.98;

* UFC/g solo seco;

¹ Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

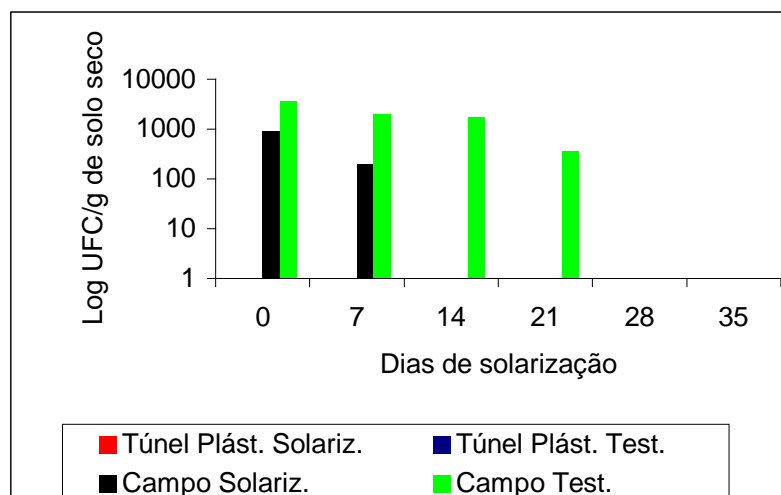


Figura 10. População de *Pseudomonas* spp. fluorescentes, durante o segundo experimento no túnel plástico e no campo.

Ainda pelos dados dos Quadros 3 e 4 e Figuras 9 e 10 relativos à primeira etapa dos dois experimentos no campo, pode-se notar que a população de bactérias nas áreas solarizadas manteve-se até os 7 dias, sendo posteriormente indetectável devido às altas temperaturas ocorridas no solo, em função do acúmulo de calor. Nesta área, notou-se claramente o efeito da solarização na população de bactérias, concordando com os relatos de Keinath (1995).

Na primeira etapa do primeiro experimento (Quadro 3; Figura 9) observou-se na área testemunha do campo uma flutuação da população durante os 21 dias de solarização, mas que ao final do experimento manteve-se constante. Já no segundo experimento, nesta mesma área, observou-se uma diminuição gradativa da população de bactérias, a qual não foi mais detectada após 21 dias. Explica-se esta diferença com relação ao primeiro experimento pela retirada da cobertura vegetal durante a instalação do experimento e na diminuição gradativa da umidade do solo. Outro fato observado na primeira etapa nos dois experimentos, foi a ocorrência de baixas populações de bactérias nestas áreas. Gamliel &

Katan (1991), constataram, em Israel, em área não solarizada, a 30°C, populações de 15×10^4 ufc/g de solo rizosférico e, a 40°C chegou a níveis indetectáveis, sendo que nas áreas solarizada, a 30 e 40°C, estas populações foram de 800×10^4 ufc/g de solo rizosférico e zero, respectivamente. Já em solo não rizosférico, na área solarizada e não solarizada, a 30 e 40°C, não foram detectadas populações de *Pseudomonas* spp. fluorescentes.

6.3 Avaliação da segunda etapa nos dois períodos (casa-de-vegetação)

Quadro 5. Germinação, determinação do índice médio de severidade do isolado de *Rhizoctonia solani* de soja e as populações de *Pseudomonas* spp. fluorescentes em condições de casa-de-vegetação do primeiro experimento.

Tratamentos	Dados médios de três períodos avaliados após a sementeira de feijão		
	Germinação %	Índice de severidade	População da bactéria
Túnel Sol. +Fungo	73,3	4,7 C*	4.10^3 C*
Túnel Não Sol. +Fungo	64,0	5,2 B	$6,3.10^3$ C
Campo Sol. + Fungo	24,7	6,2 A	$1,5.10^3$ D
Campo Não Sol. +Fungo	40,0	5,9 A	$1,4.10^3$ DE
Túnel Sol. - Fungo	92,0	0,0 D	$1,0.10^4$ B
Túnel Não Sol. - Fungo	94,3	0,0 D	$2,9.10^2$ E
Campo Sol. - Fungo	76,7	0,0 D	$6,0.10^3$ C
Campo Não Sol. - Fungo	84,0	0,0 D	$4,2.10^4$ A

CV (%) do índice médio de severidade= 5.2, DMS(5%)= 0.09

CV (%) da população média de *Pseudomonas* spp. fluorescentes= 24.3, DMS(5%)=19.8;

* Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

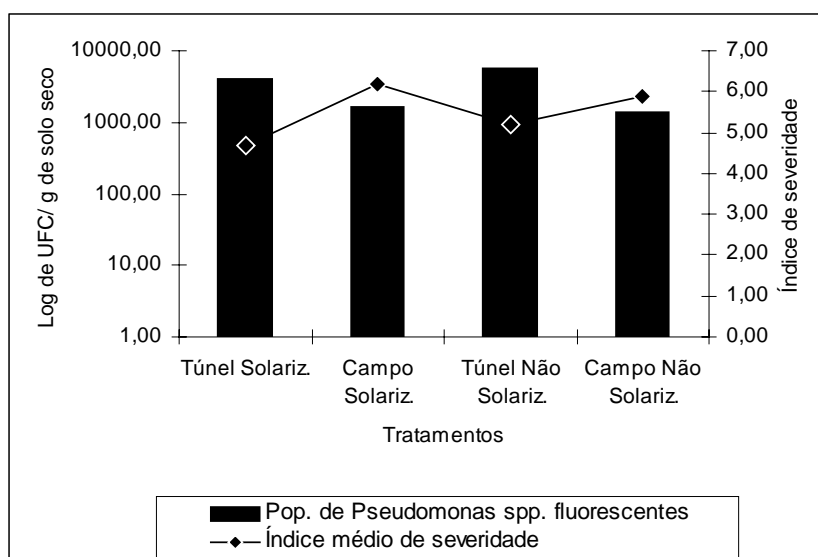


Figura 11. População média de *Pseudomonas* spp. fluorescentes do primeiro experimento, em vasos, com solo infestado com *Rhizoctonia solani* e o índice médio de severidade.

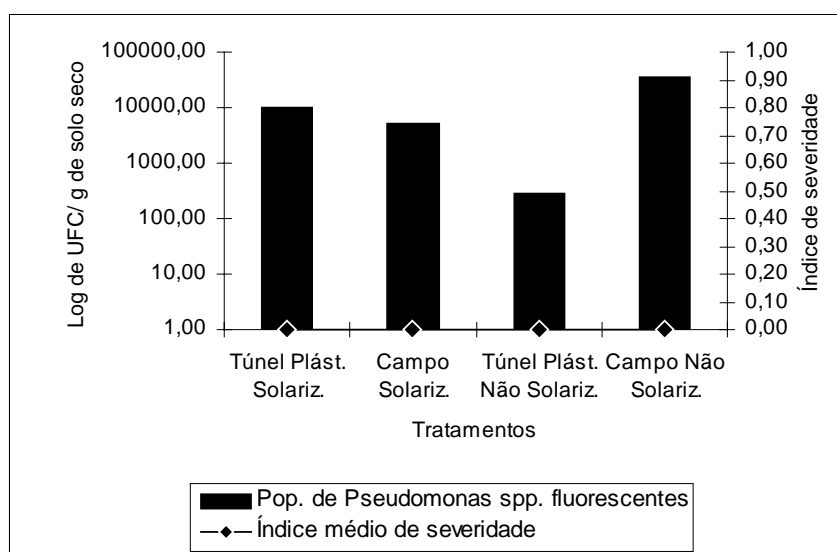


Figura 12. População média de *Pseudomonas* spp. fluorescentes do primeiro experimento, em vasos, com solo não infestado com *Rhizoctonia solani* e o índice médio de severidade.

Quadro 6. Germinação, determinação do índice médio de severidade do isolado de *Rhizoctonia solani* de soja e as populações de *Pseudomonas* spp. fluorescentes em casa-de-vegetação do segundo experimento.

Trat.mentos	Dados médios de três períodos avaliados após a semeadura de feijão		
	Germinação %	Índice de severidade	População da bactéria
Túnel Sol. + Fungo	36	5,7 AB*	$1,2 \cdot 10^3$ D*
Túnel Não Sol.+ Fungo	48	5,3 B	$1,4 \cdot 10^2$ FG
Campo Sol. + Fungo	29	5,8 A	$7,1 \cdot 10^2$ E
Campo Não Sol. + Fungo	33	6,0 A	$2,4 \cdot 10^3$ C
Túnel Sol. - Fungo	85	0,0 C	$9,3 \cdot 10^3$ A
Túnel Não Sol. - Fungo	96	0,0 C	$4,0 \cdot 10^1$ G
Campo Sol. - Fungo	83	0,0 C	$7,0 \cdot 10^2$ EF
Campo Não Sol. - Fungo	72	0,0 C	$6,5 \cdot 10^3$ B

CV (%) do índice médio de severidade = 5.3, DMS(5%)= 0.09;

CV (%) da população média de *Pseudomonas* spp. fluorescentes = 16.2, DMS (5%)= 7.7;

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

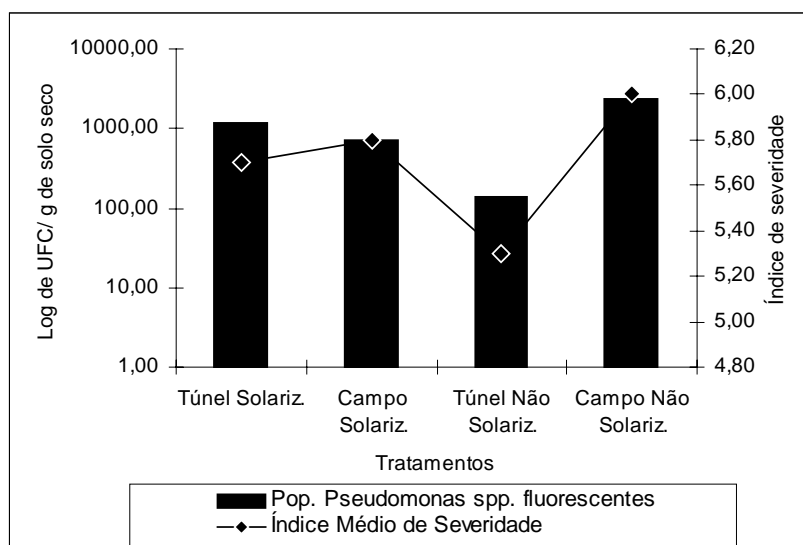


Figura 13. População média de *Pseudomonas* spp. fluorescentes do segundo experimento, em vasos, com solo infestado com *Rhizoctonia solani* e o índice médio de severidade.

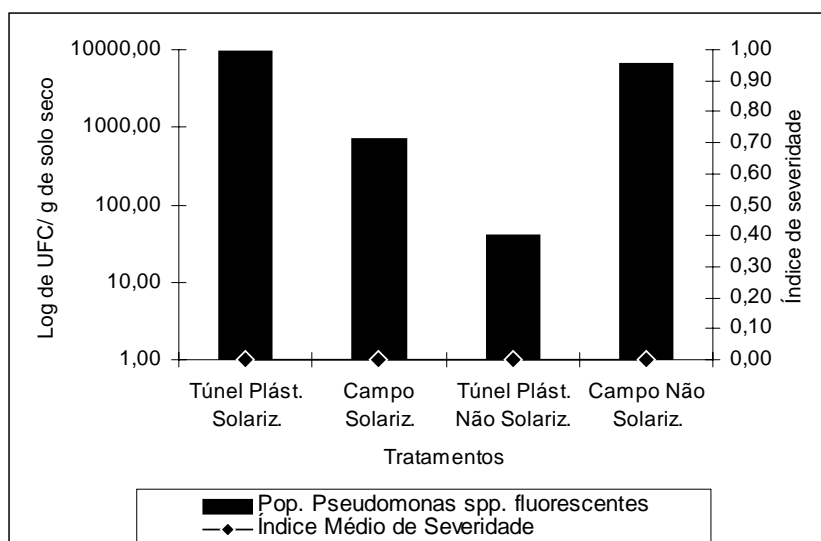


Figura 14. População média de *Pseudomonas* spp. fluorescentes do segundo experimento, em vasos, com solo não infestado com *Rhizoctonia solani* e o índice médio de severidade.

- **Solo inoculado com *Rhizoctonia solani***

Analisando os dados da etapa 2 do primeiro experimento em casa-de-vegetação (Quadro 5; Figuras 11), nota-se uma maior população de bactérias *Pseudomonas* spp. fluorescentes nas áreas referentes ao solo solarizado e não solarizado do túnel plástico do que nos mesmos tratamentos em campo. No solo não solarizado do túnel plástico, observa-se maior população de bactérias do que no solo solarizado do campo. Isto pode ser explicado pelo fato de que as altas temperaturas ocorridas no interior do túnel, possivelmente, inviabilizam a população de antagonistas das bactérias *Pseudomonas* spp e com o estímulo dos exsudados das sementes de feijão em germinação proporcionou este maior aumento.

Já no segundo experimento (Quadro 6; Figuras 13), constatou-se maior população de bactérias nas áreas referentes ao solo solarizado (campo e túnel plástico) e não solarizado do campo do que na área do solo não solarizado do túnel.

Nas áreas com maior população de bactérias, principalmente na etapa 2 do primeiro experimento, pôde-se notar uma tendência de menor severidade do fungo do que nas áreas com menor população de bactérias. Entretanto, essa relação não foi evidente no segundo experimento. Pelos dados pode-se afirmar que nos solos das áreas solarizada e não solarizada do túnel, devido ao efeito das altas temperaturas e maior população de bactérias, o índice médio de severidade foi menor em relação ao solo das áreas do campo solarizado e não solarizado, que possuíam menor população de bactérias. No primeiro experimento, essa tendência pode ser observada no Quadro 5; Figuras 11 e 12, onde os solos solarizado e não

solarizado do túnel plástico, referente à população média de *Pseudomonas* spp. fluorescentes, não diferiram entre si, mas diferiram dos solos do campo solarizado e não solarizado que, também, não diferiram entre si. No índice médio de severidade também observa-se diferença significativa dos solos solarizado e não solarizado do túnel, em relação aos solos solarizados e não solarizados do campo, mostrando um possível antagonismo das bactérias ao fitopatógeno *Rhizoctonia solani*. Os solos solarizados e não solarizados do túnel diferiram entre si, enquanto os solos solarizado e não solarizado do campo, não.

No segundo experimento, com relação a população de bactérias, os solos solarizados e não solarizados do túnel diferiram entre si e os solos solarizados e não solarizados do campo, que também diferiram entre si. No índice médio de severidade o solo não solarizado do túnel plástico não diferiu significativamente do solo solarizado do túnel e solo solarizado e não do campo, enquanto estes solos do campo não diferiram entre si. Os tratamentos do campo e túnel plástico inoculados com o fungo, em relação ao índice médio de severidade, não se observou-se significativamente diferenças entre si, ressaltando nenhuma correlação com a população de bactérias.

A tendência de antagonismo das bactérias ao fitopatógeno nas situações com maior população de bactérias é observada somente na etapa 2 do primeiro experimento do que no segundo, porém tal afirmativa mostra-se inconsistente em função do alto índice médio de severidade do isolado de *R. solani* nas plantas de feijão. Outro fato a ser observado é que no segundo experimento, os menores índices de severidade foram constatados nos mesmos tratamentos do primeiro experimento (área solarizada e não solarizada do túnel plástico), entretanto, neste segundo experimento não houve correlação com maior população de bactérias

- **Solo não inoculado**

Analisando os dados da etapa 2 do primeiro e segundo experimentos (Quadro 5 e 6; Figuras 12 e 14), constata-se uma tendência de maior população de bactérias nos solos solarizados do que nos solos não solarizados, sendo observada apenas uma exceção para o solo não solarizado do campo. Esta exceção ocorreu, provavelmente, porque na área havia na etapa 1 do primeiro experimento, população de bactérias até aos 35 dias e no segundo experimento até os 21 dias e como não havia competição por espaço e alimento com o fitopatógeno *R. solani*, estas alcançaram neste solo altas populações, enquanto que nos demais solos apesar da ausência também do fitopatógeno não havia qualquer população detectável.

Neste experimento sem inoculação do fungo, nota-se a tendência de maior população de bactérias em solos solarizado que nos não solarizado. O aumento populacional ocorreu devido a liberação de exsudados das sementes de feijão colocadas nos vasos. Outros trabalhos constataram, também, esta recomposição da população de bactérias em solos solarizados e correlacionaram este aumento com a liberação de exsudados de sementes em germinação e de raízes de plantas (Gamliel *et al.*, 1987; Gamliel & Katan, 1991; Gamliel & Katan, 1992a; Gamliel & Katan, 1992b).

Estatisticamente, segundo dados da etapa 2 do primeiro e segundo experimentos (Quadros 5 e 6), os solos solarizado e não solarizado do campo e túnel plástico, referentes à população de *Pseudomonas* spp. fluorescentes diferiram entre si, sendo constatado o mesmo em relação aos solos solarizado e não solarizado do campo e túnel plástico.

Nota-se a tendência de antagonismo das bactérias em relação ao isolado de *R. solani* nos solos solarizado e não solarizado do túnel plástico apenas no primeiro experimento, mas não ocorreu a supressividade destes solos, devido ao alto índice médio de severidade do fungo. Entretanto, a não supressividade no primeiro e segundo experimento, no solo solarizado (campo e túnel plástico) e no solo não solarizado do túnel pode ser explicada, através de algumas hipóteses:

A cobertura vegetal é importante no aumento populacional das bactérias, porque estimula o desenvolvimento destas, através da liberação de seus exsudados radiculares, segundo Gamliel & Katan (1992). Nas áreas do solo solarizado e não solarizado do túnel plástico, na etapa 1 do primeiro e segundo experimentos, não havia cobertura vegetal antes de solarizá-las, enquanto que nas correspondentes áreas do campo havia o capim *Brachiaria* spp. Não se sabe afirmar, se esta poácea é uma planta ideal para estimular um alto aumento populacional da bactéria pela eliminação dos seus exsudados radiculares no solo. De acordo com os dados dos Quadros 3 e 4, na área do campo solarizada e testemunha do primeiro e segundo experimentos, pôde-se observar uma população pequena de *Pseudomonas* spp. fluorescentes ao longo dos experimentos.

Outra hipótese, seria a não supressividade de solo para este tipo de patossistema (*R. solani* Kühn AG-4 HGI x *Pseudomonas* spp. fluorescentes), o que não poderia ser o mesmo talvez para fitopatógenos de solo que atacam diretamente o sistema radicular. Este grupo de anastomose de *R. solani* causa “damping-off” e podridão de colo especificamente, mas Homma (1996) relata que as *Pseudomonas* têm um alto potencial para reduzir o nível de inóculo de *R. solani* e resultar no seu biocontrole.

Uma questão que pode ser levantada nos experimentos da segunda etapa seria a forma de amostragem de solo para se determinar o nível populacional das bactérias, isto devido ao solo sem raízes não ser um local representativo, segundo Gamliel & Katan (1992) e Gamliel & Stapleton (1993). Café Filho & Lobo Júnior (2000), relataram que a atividade microbiana, patogênica ou não, é muito maior na rizosfera do que no restante do solo. A razão média entre a população de bactérias na rizosfera : solo é de 15:1, mas também pode chegar a 60:1. Já Brandão (1992) relata que as populações bacterianas são maiores na superfície do solo, uma vez que nessa faixa encontram-se maiores teores de matéria orgânica. No entanto, na segunda etapa destes experimentos, buscou-se obter conhecimento do nível populacional destas bactérias no solo sem raízes em função da forma de infestação deste grupo de anastomose de *R. solani* e ainda na forma de infestação deste patógeno ser via solo superficial e homogêneo neste horizonte nos vasos.

6.4 Testes com *Pseudomonas* spp. fluorescentes

6.4.1 População epífita em semente de feijão

Não houve crescimento de bactérias sobre o meio KB nas quatro repetições nas amostras de 50 e 100 sementes. No plaqueamento direto das sementes sobre o meio KB, também não cresceram bactérias.

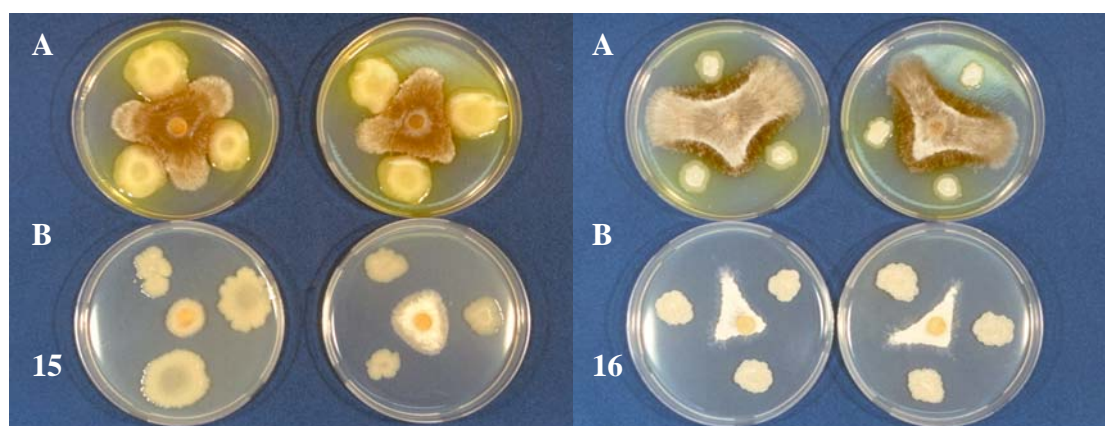
6.4.2 População endógenas em sementes de feijão

Não houve crescimento de bactérias.

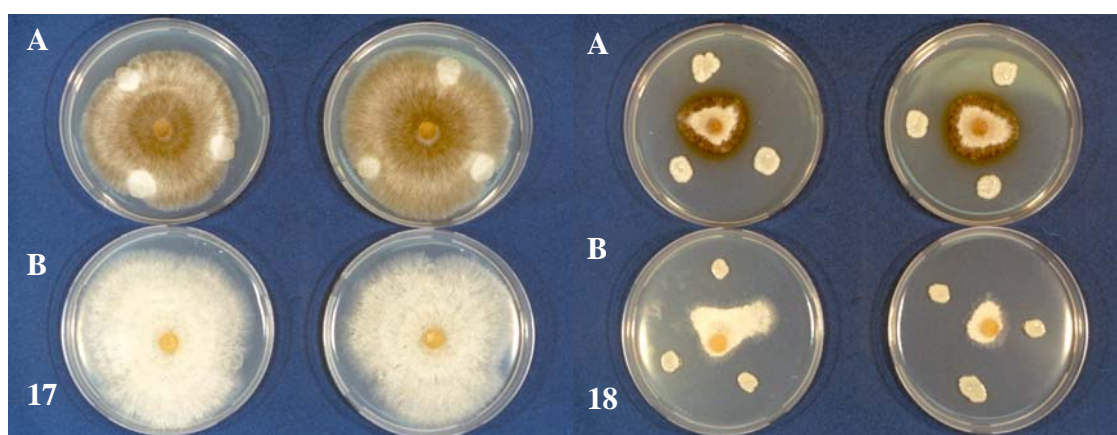
6.4.3 Antagonismo a *Rhizoctonia solani*

O isolado A fluorescente inibiu significativamente a colônia de *R. solani* nas quatro repetições nos dois meios (KB e BDA), enquanto que o isolado B fluorescente inibiu também nos mesmos meios, mas um pouco menos que o isolado A (vide Figuras 15 e 16). O isolado C não fluorescente não inibiu o crescimento de *R. solani* nos meios, enquanto que o isolado D não fluorescente inibiu significamente o crescimento de *R. solani* nos meios, inclusive com inibição maior em relação aos isolados fluorescentes (vide Figuras 17 e 18).

Observou-se que nas placas de BDA os halos de inibição ficaram maiores e mais evidentes que no meio KB, por ser o meio BDA mais rico em carboidratos do que o meio KB, favorecendo maior crescimento das bactérias e conseqüentemente maior produção de antibiótico.



Figuras 15 e 16: Isolados A e B de *Pseudomonas* spp. fluorescente nos meios KB(A) e BDA(B).



Figuras 17 e 18: Isolados C e D de *Pseudomonas* spp. não fluorescente nos meios KB(A) e BDA(B)

6.4.4 Identificação do gênero das bactérias fluorescentes isoladas

Quadro 7. Resultados dos testes de morfologia celular, bioquímicos e fisiológicos dos isolados das bactérias fluorescentes e não fluorescentes.

Testes/Isolados	Isolado A Fluorescente	Isolado B Fluorescente	Isolado A Não Fluorescente	Isolado B Não Fluorescente
Gram	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
KOH ¹ a 3%	Fio Viscoso	Fio Viscoso	Fio Viscoso	Fio Viscoso
O/F ² - sem óleo	Amarelo	Amarelo	Amarelo	Amarelo
O/F - com óleo	Verde	Verde	Verde	Verde
Asparagina	Turvo	Turvo	Turvo	Turvo
B de King	Fluorescente	Fluorescente	Não Fluorescente	Não Fluorescente
Poli-β-hidroxibutirato	Não acumula	Não acumula	Acumula	Acumula

¹ Hidróxido de potássio; ² Oxidação / Fermentação.

Pelos resultados pôde-se afirmar que as bactérias *Pseudomonas* spp. fluorescentes não se encontram epífitas ou endofíticas nas sementes de feijão da cultivar ‘IAC Carioca’. No entanto, Gnanamanickam et al. (1994), relataram que *Pseudomonas* fluorescentes encontram-se normalmente como contaminantes na endosperma de sementes de arroz. Estas bactérias suprimem a detecção de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, principal bactéria em arroz, devido ao crescimento rápido e antagonismo das *Pseudomonas* fluorescentes.

No teste de antagonismo ‘in vitro’, os dois isolados fluorescentes e um isolado não fluorescente inibiram o crescimento do isolado agressivo de *R. solani* GA 4 HGI isolado de soja. Gamliel & Katan (1991), constataram atividade antagônica ‘in vitro’ de *Pseudomonas* fluorescentes isoladas de solo, rizosfera e raízes de plantas de tomate, em solo

solarizado e não solarizado, em relação aos isolados de *Sclerotium rolfsii* e *Macrophomina phaseolina*. Sindhu et al. (1999), constataram em teste “in vitro” antagonismo pelos isolados de *Pseudomonas* spp. da rizosfera de grama verde (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) em relação à *R. solani* e a outros fungos. Arndt et al. (1998), também relataram controle “in vitro” de *R. solani* e *Pythium ultimum*, que causam “damping-off” em plântulas de pepino, por isolados de *Pseudomonas* fluorescentes. No entanto, segundo Weller (1988) não existe correlação entre antagonismo ‘in vitro’ e ‘in vivo’, inclusive neste experimento, notou-se claramente este fato. Trabalhou-se com a bactéria nativa do solo ao contrário dos trabalho de controle biológico onde o organismo é isolado e reintroduzido no solo ou em algum órgão de propagação para o controle de fitopatógenos. Cardoso & Echandi (1990) relataram que muitos microrganismos têm sido relatados como potenciais para o controle biológico, mas nenhum deles têm sido efetivo no controle a campo.

As bactérias fluorescentes registradas nas etapas 1 e 2 pertencem ao gênero *Pseudomonas* em função dos testes morfológicos, bioquímicos e fisiológicos realizados. As bactérias não fluorescentes testadas ‘in vitro’, apesar de não serem avaliadas, também, pertencem ao gênero *Pseudomonas* de acordo com os dados do Quadro 7 e com a chave de identificação de gêneros de bactérias de Ferreira (1995) e Klement et al. (1990).

7 CONCLUSÕES

- A solarização do solo e a ausência de cobertura vegetal reduzem a população de *Pseudomonas* spp. fluorescentes a níveis indetectáveis em túnel plástico e em campo;

- A técnica de solarização não induz a supressividade do solo no túnel plástico e no campo para o fitopatógeno estudado;

- *Pseudomonas* spp. fluorescentes não são encontradas em sementes de feijão tanto epífita como endofiticamente;

- No teste "in vitro", observa-se antagonismo das *Pseudomonas* spp. fluorescentes à *R. solani* Kühn GA 4 HGI isolada de soja.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

ALABOUVETE, C., COUTEAUDIER, V., LOUVET, J. Soils suppressive to *Fusarium* wilt: Mechanisms and management of suppressiveness. In: PARKER, C.A., ROVIRA, A.D., MOORE, K.J., WONG, P.T. *Ecology and management of soilborne plant pathogens*. St. Paul: American Phytopathological Society, 1985. p.101-6.

ALVAREZ, E., BRAUN, E.J., MCGEE, D.C. New assays for detection of *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* in soybean seed. *Plant Dis.*, v.79, p.12-4, 1995.

* UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA. Faculdade de Ciências Agrônomicas. *Normas para a elaboração de dissertações e teses*. Botucatu, 1997. 35p.

ARNDT, W., KOLLE, C., BUCHENAUER, H. Effectiveness of fluorescent pseudomonads on cucumber and tomato plants under practical conditions and preliminary studies on the mode of action of the antagonists. *J. Plant Dis. Prot.* v.105, n.2, p.198-215, 1998.

BAKER, R., CHET, I. Induction of suppressiveness. In: SCHNEIDER, R.W. *Suppressive soils and plant disease*. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1982. p. 35-50.

BRANDÃO, E.M. Os componentes da comunidade microbiana do solo. In: CARDOSO, E.J.B.N., TSAI, S.M., NEVESW, M.C.P. *Microbiologia do solo*. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p.1-16.

BUENO, C.J., MASUDA, Y., AZEVEDO, F.A., AGUILLERA, M.M. SOUZA, N.L. Efeito direto e residual da solarização do solo no controle de *Verticillium dahliae* e plantas infestantes na cultura da berinjela (*Solanum melongena*), em campo naturalmente infestado. *Summa Phytopathol*, v.26, n.4, p.445-9, 2000.

CARDOSO, E.J.B.N., FREITAS, S.S. A rizosfera. In: CARDOSO, E.J.B.N., TSAI, S.M., NEVESW, M.C.P. *Microbiologia do solo*. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo 1992. p.41-58.

CARDOSO, J.E., ECHANDI, E.A. A greenhouse method for selecting biological agents to control *Rhizoctonia* root rot of beans. *Fitopatologia Bras.*, v.15, p.42-5, 1990.

- CARVALHO, W.A., ESPÍNOLA, C.R., PACCOLA, A.A. Levantamento de solos da Fazenda Experimental “Presidente Médici”. Bol. Cient. Fac. Cienc. Agron. UNESP (Botucatu), n.1, p.1-95, 1983.
- CERESINI, P.C., SOUZA, N.L. Associação de *Rhizoctonia* spp. binucleadas e de *R. solani* Kühn GA 4 HGI e GA 2-2 IIIB ao feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) no estado de São Paulo. *Summa Phytopathol.*, v.23, p.14-24, 1997.
- CHET, I., BAKER, R. Induction of suppressiveness to *Rhizoctonia solani* in soil. *Phytopathology*, v.70, p.994-8, 1980.
- CHUNG, V.R., HOITINIK, H.A.J., DICK, W.A., HERR, L.J. Effects of organic matter decomposition level and cellulose amendment on the inoculum of *Rhizoctonia solani* in hardwood bank media. *Phytopathology*, v.78, p.836-40, 1988.
- COLIN, J.E., MARAITE, H. Spectrophotometric characterization and biological activity of siderophores of fluorescent *Pseudomonas*, antagonists of phytopathogenic bacteria. *Parasitica*, v.43, n.4, p.163-75, 1987.
- COX. C.D. Iron uptake with ferripyochelin and ferric citrate by *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.*, v.142, p.581-7, 1980.

- DAFFARI, E.F., ALBA, C.G., GARCÍA, E.G. *La desinfección del suelo por energía solar: solarización*. Andalucía: Junta de Andalucía, Consejería de Agricultura y Pesca, 1994. 24p. (Comunicación I+D Agroalimentaria, 8/94).
- DAVEY, C.B., PAPAVIDAS, G.C. Effect of organic soil amendments on the *Rhizoctonia* disease of snap beans. *Agron. J.*, v.51, p.493-6, 1959.
- FENILLE, R.C. *Influência da incorporação de materiais orgânicos e da umidade do solo na patogenicidade de Rhizoctonia solani Kühn AG-4 HGI ao feijoeiro (Phaseolus vulgaris L.)* Botucatu, 1997. 82p. Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista.
- FENILLE, R.C., SOUZA, N.L. Efeitos de materiais orgânicos e da umidade do solo na patogenicidade de *Rhizoctonia solani* GA 4 HGI ao feijoeiro. *Pesquisa Agropec. Bras.*, v.34, p.1959-67, 1999.
- FERREIRA, L.P., SALGADO, C.L. Bactéria. In: BERGAMIN FILHO, A., KIMATI, H., AMORIN, L. *Manual de fitopatologia*. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. p.97-131.

CAFÉ FILHO, A.C., LOBO JÚNIOR, M. Manejo de fatores físicos e culturais para o controle de patógenos de solo. In: LUZ, W.C., FERNANDES, J.M., PRESTES, A.M., PICININI, E.C. (Ed.) *Revisão anual de patologia de plantas*. Passo Fundo: Revisão Anual de Patologia de Plantas, 2000. p.267-301.

GAMLIEL, A., HADAR, E., KATAN, J. Microbial phenomena related to increased growth response in solarized soils and to monoculture systems. In: 7 CONGRESS OF THE MEDITERRANEAN PHYTOPATHOLOGICAL UNION, 7, 1987, Granada. *Proceedings*. Spain: Sociedad Española de Fitopatologia, 1987. p.72-3.

GAMLIEL, A., KATAN, J. Influence of seed and root exudates on fluorescent *Pseudomonas* and fungal in solarized soil. *Phytopathology*, v.82, p.320-37, 1992a.

GAMLIEL, A., KATAN, J. Involvement of fluorescent pseudomonas and other microorganisms in increased growth response of plants in solarized soils. *Phytopathology*, v.81, p.494-2, 1991.

GAMLIEL, A., KATAN, J. Chemotaxis of fluorescent *Pseudomonas* towards seed exudates and germinating seeds in solarized soil. *Phytopathology*, v.82, p.328-32, 1992b.

GAMLIEL, A., STAPLETON, J. Control, rhizosphere microorganisms and lettuce growth. *Plant Dis.* v.77, p.886-91, 1993.

GARIBALDI, A., TAMIETTI, G. Attempts to use soil solarization in closed glasshouse in northern Italy for controlling corky root of tomato. *Acta Hortic., Wageningen*, v.152, p.237-43, 1984.

GARIBALDI, A., TAMIETTI, G. Il riscaldamento solare del terreno mediante pacciamatura com materiali plastici nella lotta contro la radice suberosa del Podomodoro di serra. *Difesa Dellepiante*, v.3, p.143-50, 1981.

GHINI, R., BETTIOL, W. & SOUZA, N.L. Solarização do solo para o controle de *Verticillium dahliae* em berinjela. *Fitopatol. Bras.*, v. 17, p.384-88, 1992.

GNANAMANICKAM, S.S., SHIGAKI, T., MEDALLA, E.S., MEW, T.W., e ALVAREZ, A.M. Problems in detection of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice seed and potential for improvement using monoclonal antibodies. *Plant Dis*, v.78, p.173-8, 1994.

GREENBERGER, A., YOGEV, A., KATAN, J., SZTEJNBERG, A., FREEMAN, S. Biological control of soil-borne pathogens in solarized soils. *Phytoparasitica*, v.14, n.13, p.256, 1986.

GREENBERGER, A., YOGEV, A., KATAN, J. Induced-suppressiveness in solarized soil. *Phytopathology*, v.77, p.1663-7, 1987.

- HARDY, G.E.S.T.J., SIVASITHAMPARAM, K. Soil solarization effects on *Fusarium* wil of carnation and *Verticillium* wil of eggplant. In: PARK, C.A. *et al.* *Ecology and management of soil-borne plant pathogens*. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1985. p. 279-81.
- HAWKSWORHT, D.L., KIRK, P.M., SUTTON, B.C., PEGLER, D.N. *Ainsworth & Bisby's Dictionary of the fungi*. New York: CAB International, 1995. 616p.
- HENIS, Y., GHAFAR, A., BAKER, R. Factors affecting suppressiveness to *Rhizoctonia solani* in soil. *Phytopathology*, v.69, p.1164-9, 1979.
- HOMMA, Y. Antibiotic and siderophore producing bacteria. In: SNEH, B., JABAJI-HARE, S., NEATE, S., DIJST, G. *Rhizoctonia* Species: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control. Netherlands: Kluwe Academic Publishers, 1996. p.445-54.
- HORIUCHI, S. Soil solarization in Japan. In: KATAN, J., DEVAY, J.E. *Soil solarization*. Boca Raton: CRC Press. 1991. p.215-35.
- HORNBY, D. Suppressive soils. *Ann. Ver. Phytopathol.*, v.21, p.65-85, 1983.
- HUBER, D.M., SCHNEIDER, R.W. The description and occurrence of suppressive soils. In: SCHNEIDER, R.W. *Suppressive soils and plant disease*. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1982. p. 01-08.

- KAO, C.W., KO, W.H. Nature of suppression of *Pythium splendens* in a pasture soil in South Kohala, Hawaii. *Phytopathology*, v.73, p.1284-9, 1983.
- KATAN, J. Soil solarization for the control of diseases caused by *Rhizoctonia* spp. In: SNEH, B., JABAJI-HARE, S., NEATE, S., DIJST, G. *Rhizoctonia* species: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control. Netherlands: Kluwe Academic, 1996. p.423-32.
- KATAN, J., DEVAY, J.E. *Soil solarization*. London: CRC, 1991. 267p.
- KATAN, J., GREENBERGER, A., ALON, H., GRINSTEIN, A. Solar heating by polyethylene mulching for the control of diseases caused by soilborne pathogens. *Phytopathology*, v.66, p.683-8, 1976.
- KATAN, J., GRINSTEIN, A., GREEBBERGER, A., YARDEN, A., DEVAY, J.E. The first decade (1976-1986) of soil solarization (solar heating): a cronological bibliography. *Phytoparasitica*, v.15, p.229-55, 1987.
- KATAN, J., MAHRRER, I., AVISSAR, R., NOAT, O., GAMLIEL, A. Intensified soil solarization with closed glass houses. *Phytopathology*, v. 76, p. 1094, 1986 (Abstr.).
- KEINATH, A.P. Reductions in inoculum density of *Rhizoctonia solani* and control of belly rot on pickling cucumber with solarization. *Plant Dis.*, v.79, p.1213-9, 1995.

- KLEMENT, Z., RUDOLPH, K., SANDS, D.C. *Methods in phyto bacteriology*. Budapest: Akademiai Kiadó, 1990. 568p.
- KLOEPPER, J.W., SCHROTH, M.N. e MILLER, T.D. Effects of rhizosphere colonization by plant growth promoting rhizobacteria on potato plant development and yield. *Phytopathology*, v.70, p.1078-82, 1980.
- KODAMA, T., FUKUYU, T. Solar heating in closed plastic house for control for soil-borne diseases V. application for control of *Fusarium* wilt of strawberry. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.*, v. 48, p.570-7, 1982.
- LIU, S. DA, BAKER, R. Mechanisms of biological control in soil suppressive to *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, v. 70, p.404-12, 1980.
- MAHRER, Y. Physical principles of solar heating of soils by plastic mulching in fields and in glasshouses and simulation models. In: KATAN, J., DEVAY, J.E. *Soil solarization*. London: CRC, 1991. p.75-86.
- MARIANO, R.L., KLOEPPER, J.W. Método alternativo de biocontrole: resistência induzida por rizobactérias. In: LUZ, W.C., FERNANDES, J.M., PRESTES, A.M., PICININI, E.C. *Revisão anual de patologia de plantas*. Passo Fundo: Revisão Anual de Patologia de Plantas, 2000. p.121-37.

- MARINGONI, A.C. *Apontamentos de técnicas em fitobacteriologia*. Botucatu: FEPAF, 1995. 29p.
- NAKATA, K., HARADA, M., SUMITOMO, K., YONEDA, K. Enhancement of plant stem growth by flocculation of the antibiotic-producing bacterium, *Pseudomonas fluorescens* S272, on the roots. *Biosc. Biotechnol. and Biochem.*, v.64, p.459-65, 2000.
- POZZER, L., CARDOSO, J.E. Supressividade natural de um latossolo vermelho-escuro a *Rhizoctonia solani*. *Fitopatol. Bras.*, v.15, p.206-10, 1990.
- ROVIRA, A.D. Organisms and mechanisms involved in some soils suppressive to soilborne plant diseases. In: SCHNEIDER, R.W. *Suppressive soils and plant disease*. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1982. p. 23-33.
- SANDS, D.C., ROVIRA, A.D. Isolation of fluorescent pseudomonas with a selective medium. *Appl. Microbiol.*, v.20, p.513-4, 1970.
- SCHER, F.M., BAKER, R. Mechanism of biological control in a *Fusarium*-Suppressive soil. *Phytopathology*, v.70, p.421-7, 1980.

SINDHU, S.S., GUPTA, S.K., DADARWAL, K.R. Antagonistic effect of *Pseudomonas* spp. on pathogenic fungi and enhancement of growth of green gram (*Vigna radiata*). *Biol. Fertil. Soils.*, v.29, n.1, p.62-8, 1999.

SIQUEIRA, J.O. *Biologia do solo*. Lavras: ESAL/FAEPE, 1993. p.230.

SNEH, B., BURPEE, L., OGOSHI, A. *Identification of Rhizoconia species*. Saint Paul: American Phytopathological Society, 1991. 133p.

SOUZA, N.L. Solarização do solo. *Summa Phytopathol.*, v.20, n.1, p.3-15, 1994.

STANDIFER, L.C., WILSON, P.W., PORCHE-SORBET, R. Effects of solarization on soil weed seed populations. *Weed Sci.*, v.32, p.569-73, 1984.

SUGUINO, E., MARINGONI, A.C. Comportamento de variedades de feijoeiro a *Rhizoctonia solani*. *Summa Phytopathol.*, v.21, p.124-6, 1995.

TEINZE, M., HOOSAIN, M.B., BARNES, C.L., LEONG, J., VAN DER HELM D. Structure of ferric pseudobactin, a siderophore from a plant growth promoting *Pseudomonas*. *Biochemistry*. v.20, p. 6446-57, 1981.

WELLER, D.M. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Ann. Rev. Phytopathol.*, v.26, p.379-7, 1988.

WELVAERT, W., POPPE, J. Influence of plast mulching and disinfection on the fungal flora of soil in Belgium. Eppo (Eur. Mediterr. Plant Prot. Org.) Bull., v.16, p.311-6, 1986.

APÊNDICE

Quadro 8: Temperaturas de solo e do ar (°C) diárias registradas, a 10 cm de profundidade e a 1 metro da superfície do solo, respectivamente, durante a primeira solarização realizada no período de 19/11/99 a 24/12/99.

Dias	Solarizado				Testemunha				TarTP ³				TarC ⁴					
	TP ¹ Méd.	TP ¹ Máx.	TP ¹ Mín.	TP ¹ Méd.	C ² Méd.	C ² Máx.	C ² Mín.	TP ¹ Méd.	TP ¹ Máx.	TP ¹ Mín.	C ² Méd.	C ² Máx.	C ² Mín.	TarTP ³ Méd.	TarTP ³ Máx.	TarTP ³ Mín.	TarC ⁴ Méd.	TarC ⁴ Máx.
0	38,2	46,2	30,9	33,9	41,3	27,7	31,2	37,4	25,3	27,5	33,9	22,1	31,8	59,2	15,2	22,5	35,7	13,9
1	37,5	45,1	31,6	33,5	40,0	29,1	31,0	36,8	26,3	27,4	33,0	23,6	27,8	54,9	16,6	21,5	31,7	15,0
2	37,7	45,4	31,1	33,2	39,0	28,3	31,4	37,2	26,2	27,2	33,0	22,4	32,7	54,4	18,0	23,2	30,1	16,6
3	37,6	43,3	32,4	32,8	37,5	29,4	31,7	36,0	27,6	27,5	31,8	24,6	25,0	40,7	19,3	21,1	28,4	18,0
4	36,9	45,4	31,0	36,2	40,4	28,2	21,3	37,5	26,6	26,6	32,8	22,7	30,3	50,0	18,5	22,9	31,0	16,9
5	38,3	47,2	31,4	34,1	39,9	29,4	32,3	38,6	27,1	27,8	33,2	23,6	31,8	49,3	18,3	24,8	32,7	17,0
6	39,3	47,8	31,8	36,1	43,3	29,9	33,0	39,1	27,4	28,9	34,2	24,1	33,0	49,3	17,4	26,1	33,7	18,1
7	37,6	41,5	33,9	34,2	36,9	31,2	32,3	35,2	29,5	27,0	29,7	24,3	29,8	45,5	20,7	23,0	28,0	17,5
8	37,9	46,0	31,3	34,1	39,7	29,2	32,6	38,1	27,5	25,5	29,3	22,3	33,5	50,8	19,4	25,8	32,3	19,6
9	39,4	47,4	32,4	36,4	43,2	30,6	33,7	39,3	28,3	26,7	32,7	21,4	33,0	55,1	18,6	24,5	30,7	18,7
10	40,2	49,6	32,5	37,5	44,9	31,2	34,4	40,8	28,8	28,4	35,0	23,1	33,4	54,6	17,5	23,6	32,8	16,6
11	41,1	50,0	33,7	38,5	45,8	32,5	35,4	41,2	30,0	29,5	35,9	24,3	33,2	56,9	17,0	24,0	32,3	16,2
12	41,6	50,7	34,4	38,9	45,9	33,1	35,9	41,8	30,7	30,5	36,6	25,7	34,0	56,1	18,4	24,3	33,2	17,1
13	42,0	50,8	34,4	39,5	47,0	33,1	36,2	41,8	30,8	31,6	37,5	26,4	34,9	54,2	18,9	25,6	35,7	17,8
14	40,6	46,0	35,8	38,3	43,6	35,0	35,8	39,5	32,2	30,7	34,8	28,2	30,9	47,9	22,0	24,3	32,9	19,9
15	38,8	45,8	34,2	35,4	39,5	32,6	34,4	39,0	31,2	28,4	32,7	25,6	30,9	48,2	21,3	24,0	33,2	19,4
16	41,6	51,1	34,3	36,9	43,7	31,3	36,3	42,6	31,1	29,0	35,0	24,1	35,2	56,9	19,9	25,2	33,0	18,1
17	39,7	45,9	35,5	36,6	41,9	33,8	35,1	39,2	32,2	28,8	33,9	26,2	30,6	51,8	21,8	23,8	32,1	19,2
18	39,8	48,6	34,0	34,9	41,4	30,9	35,2	41,0	31,1	27,5	32,3	24,4	32,4	55,9	21,2	23,3	31,4	18,7
19	40,2	47,0	34,6	35,1	40,4	31,2	35,7	40,3	31,6	27,2	30,8	24,2	33,2	52,0	21,5	23,9	32,7	19,0
20	39,0	44,0	34,9	34,4	38,1	31,6	34,9	38,4	31,9	26,8	29,9	24,5	31,6	48,7	23,0	23,9	30,0	20,2
21	37,5	43,1	33,3	34,0	38,6	30,7	33,6	37,6	30,4	25,5	28,7	23,7	29,8	45,8	21,2	23,3	29,5	19,8

Continuação...

Dias	Solarizado						Testemunha						TarTP						TarC		
	TP			C			TP			C			TP			C			Méd.	Mín.	Máx.
	Méd.	Máx.	Mín.	Méd.	Máx.	Mín.	Méd.	Máx.	Mín.	Méd.	Máx.	Mín.	Méd.	Máx.	Mín.	Méd.	Máx.	Mín.			
22	34,3	37,1	32,5	30,8	33,2	29,3	31,3	33,5	29,8	24,1	25,8	22,8	25,1	34,9	20,5	27,7	24,9	18,7			
23	32,2	34,2	29,9	29,4	30,9	27,7	29,5	31,0	27,7	23,5	25,2	21,8	25,5	34,4	19,9	21,6	25,4	19,0			
24	30,5	31,9	29,5	27,4	29,2	25,7	28,1	29,4	27,1	22,9	23,9	22,1	22,8	30,2	20,2	19,8	22,7	18,2			
25	30,3	34,5	27,8	26,5	29,2	24,6	27,6	30,8	25,7	22,9	25,2	21,3	25,6	39,0	19,7	21,7	28,2	18,1			
26	35,2	43,8	28,7	30,2	37,0	25,3	31,2	37,3	26,3	24,1	27,1	22,0	30,9	44,4	19,6	24,7	30,3	19,0			
27	38,9	49,4	30,8	34,6	43,3	28,0	33,7	40,8	27,6	24,3	29,1	20,6	33,4	43,8	19,8	26,1	32,3	20,5			
28	40,6	49,3	32,9	37,0	44,3	30,6	35,1	41,3	29,4	26,1	31,5	21,5	35,2	54,7	19,2	26,4	33,9	19,2			
29	41,4	51,0	33,6	38,3	46,0	31,8	35,9	42,3	30,2	28,1	33,6	23,4	35,3	57,2	19,0	25,7	33,5	17,8			
30	41,4	49,4	34,7	38,7	45,2	33,4	36,1	41,4	31,2	29,5	34,2	25,6	34,3	56,8	21,1	26,3	33,5	19,4			
31	43,1	53,3	35,2	40,3	48,5	34,0	37,2	43,9	31,6	31,5	37,3	27,0	38,6	59,0	23,3	29,2	37,0	23,2			
32	43,8	53,6	35,7	40,9	48,9	34,4	37,8	44,2	32,0	32,4	38,1	27,5	37,0	58,0	20,3	26,9	36,4	18,8			
33	42,9	50,5	37,5	40,0	46,0	35,7	37,1	42,2	33,1	32,0	36,7	29,0	32,7	55,1	22,4	25,4	34,7	20,1			
34	40,1	45,3	35,5	36,7	40,4	33,2	35,0	38,7	31,5	30,3	33,8	27,3	31,8	46,5	21,2	24,4	31,1	19,8			
35	40,5	49,2	33,6	37,1	44,8	31,8	35,1	41,2	30,0	30,3	36,1	26,6	32,5	55,6	18,8	23,9	33,3	18,2			
Média	39,93	47,44	33,92	36,35	42,25	31,59	34,40	39,90	30,20	28,51	33,27	24,86	32,56	51,65	20,31	24,98	32,58	18,95			

¹Área do túnel plástico;

²Área do campo;

³Temperatura do ar no túnel plástico;

⁴Temperatura do ar no campo.

Quadro 9. Temperaturas de solo e do ar (°C) diárias registradas, a 10 cm de profundidade e a 1 metro da superfície do solo, respectivamente, durante a segunda solarização do solo realizada no período de 17/02/00 a 23/03/00.

Dia	Solarizado						Testemunha						TarTP ³						TarC ⁴			
	TP ¹			C ²			TP ¹			C ²			TP ³			C ²			Méd.	Mín.	Méd.	Mín.
	Méd.	Máx.	Mín.	Méd.	Máx.	Mín.	Méd.	Máx.	Mín.	Méd.	Máx.	Mín.	Méd.	Máx.	Mín.	Méd.	Máx.	Mín.				
0	28.51	29.18	27.54	24.60	25.79	23.30	27.48	28.51	26.13	22.45	24.22	20.60	21.37	24.92	18.39	18.83	20.05	17.90				
1	31.44	40.45	25.37	26.39	34.04	20.95	28.20	34.87	23.44	23.12	30.49	18.06	28.25	50.04	15.98	21.41	29.24	15.75				
2	35.26	43.44	29.20	29.97	37.33	24.59	29.96	36.90	24.75	25.94	34.83	19.89	30.88	53.68	16.81	22.55	32.10	16.41				
3	37.76	44.48	32.57	32.98	39.39	28.18	31.87	37.59	27.16	28.37	36.01	22.45	32.09	54.08	18.51	24.00	32.63	18.05				
4	38.63	46.24	32.59	33.96	40.35	28.50	32.53	39.18	27.08	29.35	36.70	23.45	33.82	55.24	18.11	25.08	34.14	17.34				
5	39.65	44.76	35.58	34.92	39.08	31.35	33.42	37.58	30.06	30.65	35.79	26.24	33.33	50.64	22.37	25.37	32.61	20.52				
6	38.92	46.04	34.10	34.94	41.12	30.65	33.03	39.33	28.74	31.45	38.27	26.65	33.43	52.40	22.27	25.55	33.66	20.99				
7	39.65	46.28	34.34	35.87	42.64	30.93	33.76	40.34	28.80	31.93	38.61	26.97	34.69	54.08	22.07	26.14	33.20	21.29				
8	40.24	47.28	35.20	36.40	43.08	31.51	34.74	41.61	29.84	31.28	38.25	25.91	34.86	56.84	22.15	26.31	34.15	20.47				
9	40.90	48.36	35.17	37.10	43.68	31.94	35.43	42.08	30.01	32.34	39.14	26.96	35.87	55.77	21.78	26.73	34.97	20.49				
10	41.62	48.76	36.44	38.07	44.96	33.24	36.38	43.16	31.49	33.20	40.05	28.34	35.20	57.92	23.23	26.17	33.74	21.26				
11	40.90	46.08	36.78	38.44	43.48	34.69	36.24	41.18	32.40	33.37	39.00	29.35	33.91	54.92	23.63	26.04	33.43	20.84				
12	39.97	46.08	36.17	36.70	42.24	33.34	35.83	41.56	32.34	30.18	34.70	27.29	32.32	54.40	23.74	24.67	32.02	20.95				
13	39.91	45.96	35.82	35.52	41.33	32.02	35.94	41.52	32.12	28.09	32.75	25.38	31.55	53.28	23.21	23.98	31.40	20.84				
14	40.12	49.44	35.43	35.90	45.28	31.45	36.25	44.98	31.89	27.77	33.09	24.29	32.52	55.08	22.12	25.53	32.64	20.79				
15	40.09	47.44	34.43	36.84	44.04	31.71	36.18	42.84	30.99	28.87	35.58	24.04	34.65	54.60	20.64	26.23	33.61	19.89				
16	40.71	45.51	36.73	37.94	42.10	34.44	37.13	41.81	33.33	29.51	33.63	25.90	32.37	50.60	21.81	25.43	30.90	20.79				
17	39.82	47.72	34.81	37.14	43.88	32.68	36.35	43.32	31.87	30.23	36.22	25.81	34.61	57.08	22.28	26.41	34.20	21.34				
18	40.20	44.20	36.90	37.56	41.36	34.51	36.67	40.30	33.41	30.81	34.67	27.83	33.31	56.00	24.53	26.54	32.72	22.97				
19	36.77	38.96	35.03	34.42	36.41	31.92	33.76	35.51	32.17	28.19	29.98	25.41	27.75	38.37	22.37	23.44	27.24	19.42				
20	36.71	42.88	32.56	32.85	38.64	29.17	33.73	39.25	30.01	25.43	30.39	21.80	28.41	44.52	18.76	21.32	26.99	17.57				
21	36.42	42.72	31.88	33.05	38.71	29.25	33.10	38.76	28.97	24.71	31.03	20.33	27.97	50.32	16.50	21.09	29.73	16.03				

Continuação...

Dia	Solarizado					Testemunha					TarTP ³					TarC ⁴				
	TP ¹		C ²			TP ¹			C ²			TarTP ³			TarC ⁴					
	Méd.	Máx.	Mín.	Méd.	Máx.	Mín.	Méd.	Máx.	Mín.	Méd.	Máx.	Mín.	Méd.	Máx.	Mín.	Méd.	Máx.	Mín.		
22	37.04	43.60	31.83	33.96	39.85	29.38	33.69	39.63	28.91	26.30	32.31	21.83	30.60	50.56	17.98	22.42	31.05	17.17		
23	36.62	40.18	33.14	33.46	36.78	30.66	33.41	36.65	30.25	26.73	30.22	23.73	29.17	46.04	20.07	22.38	28.29	18.23		
24	36.51	43.04	31.64	33.39	39.38	29.34	33.36	39.23	29.03	26.79	32.41	23.01	30.71	51.64	19.66	23.14	30.07	18.55		
25	37.67	45.84	31.41	34.51	41.56	29.02	34.30	41.57	28.48	27.54	34.28	22.33	31.29	53.88	16.72	22.82	31.09	16.52		
26	38.01	44.12	32.88	35.25	41.04	30.57	34.62	40.23	29.82	28.40	33.94	23.91	30.60	52.24	18.15	22.90	31.21	16.98		
27	35.96	39.64	33.30	32.65	35.25	30.54	32.92	36.10	30.55	26.66	30.15	24.41	27.74	47.60	20.90	22.33	31.00	18.77		
28	36.35	43.28	32.05	32.59	37.95	29.14	33.44	39.29	29.81	26.40	31.12	23.27	31.11	51.28	21.22	24.04	30.90	20.04		
29	38.09	45.00	33.34	34.48	40.08	30.53	34.91	40.71	30.90	28.06	33.35	24.40	32.99	51.08	22.61	25.05	31.71	21.01		
30	38.25	43.48	34.42	35.03	39.97	31.80	35.09	39.51	31.85	29.02	33.69	26.10	31.12	51.56	22.79	24.04	30.76	20.70		
31	37.35	43.56	32.80	35.30	41.40	31.01	34.49	39.80	30.49	28.53	33.94	24.82	29.10	50.88	20.46	22.98	30.44	19.66		
32	36.27	41.84	31.68	35.03	40.35	30.78	33.59	38.44	29.47	27.93	32.80	24.03	28.12	49.20	18.45	22.13	29.98	17.77		
33	35.87	41.15	31.93	34.40	38.81	31.29	33.24	37.71	29.90	27.86	32.31	24.97	29.53	49.48	21.01	23.13	30.25	19.74		
34	35.73	39.85	32.41	32.92	36.80	29.99	33.28	36.83	30.37	25.99	29.16	23.69	29.08	44.56	21.92	22.80	28.73	19.81		
35	34.70	38.40	31.69	31.80	35.12	29.20	32.68	36.14	29.90	24.99	28.12	22.72	27.63	42.72	21.06	22.72	28.72	19.38		
Média	38,82	45,01	34,26	35,32	40,95	31,24	34,89	40,40	30,76	29,10	34,61	25,03	32,06	52,21	21,26	24,62	31,99	19,89		

¹ Área do túnel plástico;

² Área do campo;

³ Temperatura do ar no túnel plástico;

⁴ Temperatura do ar no campo.