

Controle da ferrugem do cafeeiro com produtos à base de *Bacillus subtilis**

Wagner Bettiol¹; Maria L. Saito & Mariette S. B. Brandão

CNPMA/EMBRAPA, Caixa Postal 69, 13820-000 - Jaguariúna, SP, Brasil. ¹Bolsista do CNPq.

* Projeto financiado pela FAPESP.

Aceito para publicação em: 22/03/94.

RESUMO

Bettiol, W.; Saito, M.L.; Brandão, M.S.B. Controle da ferrugem do cafeeiro com produtos à base de *Bacillus subtilis*. *Summa Phytopathologica*, v. 20, p.119-122, 1994.

Metabólitos de *Bacillus subtilis* (isolado AP-3) produzidos em meio de glicose 1%, peptona 1%, extrato de levedura 0,5%, NaCl 0,3%, KH₂PO₄ 0,1% e MgSO₄ 0,05% (GPL) ou meio contendo 5% do resíduo da fermentação glutâmica de melaço (AMI), fermentado por diferentes períodos, foram obtidos por meio de precipitação com sulfato de amônio (A) ou ácido clorídrico (D). A pulverização desses extratos nas concentrações de 1000 e 10000 ppm, 24 horas antes da inoculação de uredíniosporos de *Hemileia vastatrix*, em plantas de café da variedade Catuaí reduziu a porcentagem de fo-

lhas lesionadas, o número de lesões por folha e o número de lesões por folha lesionada em praticamente 100%. Também o caldo, contendo 5% do resíduo da fermentação glutâmica do melaço, onde *B. subtilis* foi multiplicado por 15 dias, sob agitação constante, quando pulverizado em mudas de café da variedade Catuaí nas concentrações de 10, 25, 50 e 100% controlou efetivamente a ferrugem do cafeeiro, quando avaliados os mesmos parâmetros anteriores. O extrato GPLA(13)12 não apresentou ação sistêmica nas direções ascendente, descendente e lateral.

Palavras-chave: Controle biológico, antibióticos, *Hemileia vastatrix*, *Coffea*.

ABSTRACT

Bettiol, W.; Saito, M.L.; Brandão, M.S.B. Control of coffee leaf rust (*Hemileia vastatrix*) with metabolites of *Bacillus subtilis*. *Summa Phytopathologica*, v.20, p.119-122, 1994.

Metabolites from *Bacillus subtilis* (isolate AP-3) were produced in glucose 1%, pepton 1%, yeast extract 0.5%, NaCl 0.3%, KH₂PO₄ 0.1% and MgSO₄ 0.05% (GPL) medium or a foliar fertilizer derived from the glutamic fermentation of molasses 5% (AMI), under different periods of fermentation. The extracts were obtained by precipitation of metabolites with ammonium sulphate (A) or chloridric acid (D) at pH 2.0. Twenty four hours before the inoculation of *Hemileia vastatrix* urediniospores in coffee plants, cv. Catuaí, extracts concentrations of 1,000 and 10,000 ppm were sprayed. The results

showed a reduction on (1) the percentage of infected leaves; (2) number of lesions per leaf and (3) number of lesions per infected leaf. The extract GPLA(13)12 have no systemic action in the ascendant, descendant and lateral directions. The direct application of fermentative material of the foliar fertilizer derived from the glutamic fermentation of molasses (concentrations of 10, 25, 50 and 100%) showed an effective control of coffee leaf rust when considered the above parameters.

Key-words: Biological control, antibiotics, *Hemileia vastatrix*, *Coffea*.

O controle da ferrugem do cafeeiro baseia-se principalmente na utilização de fungicidas e vem apresentando resultados satisfatórios. Entretanto, devido aos possíveis problemas, como o desequilíbrio biológico (9), acúmulo de produtos no solo e nas águas, seleção de linhagens resistentes do patógeno entre outros, há necessidade de estudar alternativas a esse método. Em relação ao controle biológico, *Verticillium lecanii* (8, 13) e *Bacillus subtilis* (4, 11) vêm apresentando resultados promissores no controle da doença.

Bacillus subtilis (Ehrenberg) Cohn e seus metabólitos vêm sendo estudados com alternativas ao controle químico de fungos fitopatogênicos com relativo sucesso (1, 2, 3, 4, 5, 12, 14, 15, 17). Essa bactéria apresenta grande capacidade em inibir os fitopatógenos causadores de ferrugens tais como: *Uromyces phaseoli* (1, 2, 5, 6, 14); *Puccinia pelargonii-zonalis* (19) e *Hemileia vastatrix* (4, 11). Além de *B. subtilis*, outras espécies de *Bacillus* têm ação sobre ferrugens como: *B. cereus* em *Puccinia allii* (7); *B. pumilus* em *Puccinia recondita*, *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* e *Puccinia coronata* (15).

Considerando esses aspectos, o presente trabalho teve por objetivos avaliar o efeito de produtos obtidos de *B. subtilis* sobre a ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix* Berk.) e o potencial

sistêmico dos metabólitos de *B. subtilis* em cafeeiro.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção de metabólitos produzidos por *B. subtilis*. Para retirar as células bacterianas, os caldos onde *B. subtilis* foi multiplicado foram previamente centrifugados em centrífuga tipo "Sharpless" a 23.000 rpm e vazão em torno de 55 ml por minuto. Os metabólitos foram obtidos por precipitação utilizando-se duas técnicas: adição de sulfato de amônio até obter solução a 40% (A) e diminuição do pH até aproximadamente 2,0 com solução de HCl (D). Para facilitar a separação dos precipitados e dos filtrados com funil de vidro sinterizado, o caldo com o precipitado foi deixado em repouso para decantação.

Os precipitados foram codificados utilizando-se as iniciais do meio de cultura (três primeiras letras); tipo de extração (quarta letra), tempo de fermentação, em dias (número entre parênteses) e a seqüência em que foram obtidos. Neste trabalho foram testados os extratos GPLA(13) 12 [meio glicose 1%, peptona 1%, extrato de levedura 0,5%, NaCl 0,3%, KH₂PO₄ 0,1%, MgSO₄ 0,05%; com 13 dias de fermentação e precipitação A (sulfato de amônio)]; GPLA(21) 11, GPLD(21) 11 (D = precipitação com HCl); AMIA(13) 13 [meio com 5% de resíduo da fermentação glutâmica do melaço].

ço, com fermentação por 13 dias e precipitação com sulfato de amônio]; AMID(13) 13 (D = precipitação com HCl); BDAA(4) [batata, dextrose], BDAA(7), BDAA(8) e BDAA(11).

Efeito de extratos e de células formuladas de *B. subtilis* na germinação de uredíniosporos de *H. vastatrix*. Os extratos BDAA(4), BDAA(7), BDAD(4), BDAA(8); BDAA(11) e GPLA(13) 12 e a formulação pó molhável de código AM-62 ($2,5 \times 10^8$ UFC/ml) (5), na concentração de 1000 ppm, foram avaliados quanto à capacidade de inibir a germinação de uredíniosporos de *H. vastatrix*, coletados um dia antes. Gotas contendo as concentrações indicadas dos extratos ou das formulações foram colocadas sobre 3 lâminas de vidro, sendo duas gotas por lâmina e a seguir foram adicionados os uredíniosporos, com auxílio de uma ponta de agulha. Após 6 horas de incubação em câmara úmida e escura, com temperatura de, aproximadamente, 20°C foi determinada a germinação dos uredíniosporos em microscópio ótico (aumento 250x) em 10 campos por gota. Considerou-se como uredíniosporos germinados aqueles que apresentaram tubo germinativo, independente de seu comprimento.

Efeito de diferentes concentrações do extrato GPLA(13) 12 de *B. subtilis* no controle da ferrugem do cafeeiro. Atomizou-se em plantas de café da variedade Catuaí, com aproximadamente 40 folhas jovens, o extrato GPLA(13) 12 nas concentrações de 0, 1, 10, 100, 1000 e 10.000 ppm com auxílio de pistola de pintura "Steula" acoplada a um compressor (10 lb/pol²), na superfície adaxial de todas as folhas 24 horas antes da inoculação do patógeno. Esta foi realizada por meio da pulverização de uma suspensão contendo 120 mg de uredíniosporos por 300 ml, em solução de Tween 20 a 0,01%, com auxílio da pistola descrita anteriormente na superfície adaxial das folhas. O atomizador foi mantido a, aproximadamente, 20 cm de distância da folha, por cerca de 4 segundos.

Após a inoculação, as plantas permaneceram em câmara úmida e escura a 21°C e, após 24 horas foram transferidas para as condições ambientes de casa de vegetação. Determinou-se a porcentagem de folhas lesionadas e o número de lesões por folha e por folha lesionada 35 dias após a inoculação.

O delineamento experimental foi o de blocos causalizados com quatro repetições (uma planta por repetição).

Efeito de extratos de *B. subtilis* no controle da ferrugem do cafeeiro. Utilizando-se metodologia semelhante à descrita no item anterior, com plantas de café da variedade Catuaí, contendo aproximadamente 30 folhas jovens, foram testados os seguintes extratos de *B. subtilis* nas concentrações de 1000 e 10000 ppm: GPLA(21) 11, GPLD(21) 11, AMIA(13) 13 e AMID(13)13, em comparação com a testemunha (água), no controle da ferrugem do cafeeiro. A inoculação foi realizada com suspensão contendo 74 mg de uredíniosporos/300 ml de água com Tween 20 a 0,01%, em cinco repetições (uma planta por repetição), no delineamento inteiramente causalizado. Transcorridos 48 dias da inoculação foi determinada a porcentagem de folhas lesionadas e o número de lesões por folha e por folha lesionada.

Potencial do extrato GPLA(13) 12 de *B. subtilis* para o controle sistêmico da ferrugem do cafeeiro. Utilizando-se metodologia e concentração de uredíniosporos semelhantes à

do item que estudou o efeito de diferentes concentrações do extrato, avaliou-se num delineamento inteiramente causalizado, com quatro repetições (uma planta por repetição) o potencial sistêmico de extrato concentrado de *B. subtilis*. Para tanto pulverizou-se o extrato GPLA(13)12 em folhas dos ramos inferiores, superiores ou folhas de metade dos ramos de cafeeiro da variedade Catuaí, na concentração de 10000 ppm, 24 horas antes da inoculação do patógeno em toda a planta. Transcorridos 41 dias da inoculação, determinou-se a porcentagem de folhas lesionadas separadamente nas folhas pulverizadas e não.

Efeito do caldo, onde *B. subtilis* foi multiplicado, no controle da ferrugem. Para meio contendo 5% de resíduo da fermentação glutâmica de melaço mais 95% de água, foram transferidas células de *B. subtilis*, sendo colocadas para fermentar em condições de 27°C ± 2°C com agitação constante por 15 dias.

O caldo fermentado nas concentrações de 10, 25, 50 e 100% foi comparado com a testemunha (água) no controle da ferrugem do cafeeiro. A metodologia foi semelhante à utilizada no item que estudou o efeito de extratos de *B. subtilis* no controle da ferrugem, sendo a inoculação realizada com uma suspensão contendo 74 mg de uredíniosporos/300 ml de água com Tween 20 a 0,01%, em quatro repetições (uma planta por repetição), no delineamento inteiramente casualizado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Efeito dos extratos e de células formuladas de *B. subtilis* na germinação de uredíniosporos de *H. vastatrix*. Os extratos obtidos de caldo fermentado por *B. subtilis* através da precipitação com sulfato de amônio ou ácido clorídrico, bem como a formulação (AM-62), na concentração de 1000 ppm, inibiram totalmente a germinação dos uredíniosporos de *H. vastatrix*. Resultados semelhantes foram obtidos em relação à *U. appendiculatus* var. *appendiculatus*, com uso de extratos concentrados e de células formuladas de *B. subtilis* e com suspensão de células de bactéria (6, 14). BETTIOL & VARZEA (4) verificaram que *B. subtilis*, além de inibir a germinação de uredíniosporos de *H. vastatrix*, não apresentou especificidade em relação as diferentes raças do patógeno.

Efeito de diferentes concentrações do extrato GPLA(13) 12 de *B. subtilis* no controle da ferrugem do cafeeiro. Pelas equações apresentadas na Figura 1 pode-se afirmar que para o cálculo da porcentagem de controle da doença podem ser utilizadas a porcentagem de folhas lesionadas, o número de lesões por folha e por folha lesionada, pois suas tendências foram semelhantes. Apesar da mesma tendência, a resposta foi quadrática para a porcentagem de folhas lesionadas e linear para o número de lesões por folha e por folha lesionada (Figura 1).

O controle da ferrugem do cafeeiro foi diretamente proporcional à concentração de extrato pulverizado nas folhas (Figura 1). Na concentração de 10000 ppm, o controle foi total enquanto que na de 1000 ppm foi de 97%, quando considerados os dados originais da porcentagem de folhas lesionadas.

Utilizando dados ajustados para a equação do número de lesões por folha (Figura 1) verifica-se que as doses que controlam a doença em 90 e 95% são de 4966 e 7943 ppm, respectivamente. Entretanto, o controle da doença foi superior quando o cálculo foi realizado através dos dados originais do número de lesões por folha. Possivelmente, essa diferença

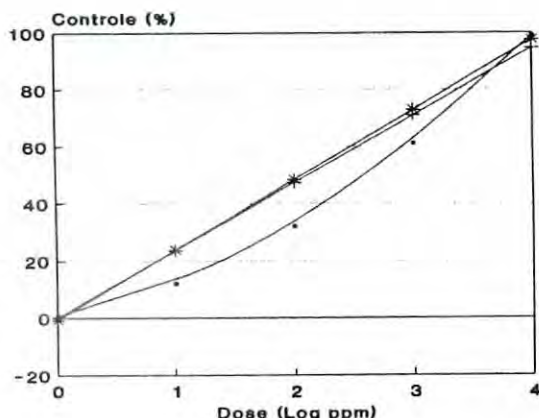


Figura 1. Controle da ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix*) com diferentes concentrações (Log ppm) do extrato GPLA(13)12 de *Bacillus subtilis* calculado através da porcentagem de folhas lesionadas (■ % FL), número de lesões por folha (▲ NL/F) e número de lesões por folha lesionada (✱ NL/FL). Dados transformados (arc. sen. $\sqrt{x/100}$), ajustados a equações de regressão.

■ % FL $Y = 0,50723 + 6,99910X + 4,39951X^2$ ($R^2 = 0,878$)
 ▲ NL/F $Y = -0,80101 + 24,56229X$ ($R^2 = 0,920$).
 ✱ NL/FL $Y = -0,00216 + 23,63734X$ ($R^2 = 0,927$).

deve-se à alta variabilidade de controle obtida nas concentrações de 1, 10 e 100 ppm. Nas concentrações de 1, 10 e 100 ppm, o extrato GPLA(13)12 não foi eficiente no controle da doença (Figura 1). Esses dados coincidem com os obtidos por BETTIOL et al. (5) para a ferrugem do feijoeiro.

Compostos peptidolipídicos, do grupo da iturina, produzidos por *B. subtilis* apresentam propriedades antifúngicas (10, 12, 16) sendo possivelmente os compostos inibidores presentes no extrato GPLA(13)12 pertencentes a esse grupo. Essa determinação é uma necessidade em trabalhos futuros.

Efeito de extratos de *B. subtilis* no controle da ferrugem do cafeeiro. Os extratos GPLA(21)11 e AMIA(13)13, nas concentrações de 1000 e 10000 ppm, controlaram totalmente a ferrugem em folhas de cafeeiro quando pulverizados 24 horas antes da inoculação do patógeno. O extrato GLPD(21)11 nas concentrações de 1000 e 10000 ppm apresentou 0,46 e 0,64% de folhas lesionadas, equivalente ao controle de 98,3 e 97,6% da ferrugem, respectivamente. O extrato AMID(13)13 na concentração de 10000 ppm inibiu totalmente a ocorrência da ferrugem, enquanto com 1000 ppm a porcentagem de inibição foi de 85,7% (Quadro 1). Todos os extratos e concentrações testados diferiram estatisticamente da testemunha nos parâmetros avaliados. Esses resultados, obtidos em casa de vegetação, indicam a efetividade dos extratos obtidos de caldo fermentado por *B. subtilis* em controlar a ferrugem do cafeeiro (Figura 1 e Quadro 1).

Potencial do extrato GPLA(13)12 de *B. subtilis* para o controle sistêmico da ferrugem do cafeeiro. Em torno de 90% das folhas não tratadas com o extrato apresentaram-se lesionadas, sendo o número de lesões por folha maior do que 9.

Quadro 1. Efeito de extratos obtidos de caldos fermentados por *Bacillus subtilis* no controle da ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix*).

Tratamento	Folhas lesionadas (%)	Controle ² (%)	Nº de lesões/folha	Nº de lesões/folha lesionada
Testemunha	26,37 a ¹	-	3,88 a	7,87 a
GPLA(21)11 ³ -10000ppm	0,00 b	100,0	0,00 b	0,00 b
GPLA(21)11-1000ppm	0,00 b	100,0	0,00 b	0,00 b
GLPD(21)11 ⁴ -10000ppm	0,64 b	97,6	0,005 b	0,25 b
GLPD(21)11-1000ppm	0,46 b	98,3	0,004 b	0,25 b
AMIA(13)13 ⁵ -10000ppm	0,00 b	100,0	0,00 b	0,00 b
AMIA(13)13-1000ppm	0,00 b	100,0	0,00 b	0,00 b
AMID(13)13 ⁶ -1000ppm	0,00 b	100,0	0,00 b	0,00 b
AMID(13)13-1000ppm	3,76 b	85,7	0,06 b	0,67 b

¹ Para análise estatística os dados foram transformados em arc sen $\sqrt{X + 0,5/100}$. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si (Tukey 5%).

² % de controle baseada na % de folhas lesionadas.

³ GPLA(21)11-extrato obtido de caldo fermentado por *B. subtilis* em meio de glicose 1%, peptona 1%, ext. de levedura 0,5%, NaCl 0,3%, KH₂PO₄ 0,1% e MgSO₄ 0,05% por 21 dias e precipitação com sulfato de amônio.

⁴ GLPD(21)11 idem ao 3, sendo a precipitação com HCl.

⁵ AMIA(13)13 extrato obtido de caldo fermentado por *B. subtilis* em meio contendo 5% de resíduo da fermentação glutâmica do melaço, por 13 dias e precipitação com sulfato de amônio.

⁶ AMID(13)13 idem ao 5, sendo a precipitação com HCl.

Por outro lado, não ocorreu ferrugem nas folhas tratadas (Quadro 2). Quando o extrato GPLA(13)12 foi pulverizado nos ramos superiores, 89,33% das folhas dos ramos inferiores dessas plantas apresentaram lesões de ferrugem. Quando o extrato foi pulverizado nos ramos inferiores, 91,43% das folhas dos ramos superiores estavam lesionadas e quando somente a metade dos ramos foi pulverizada, 81,94% das folhas do lado oposto apresentavam lesões (Quadro 2). Entretanto, todas as folhas tratadas, independentemente de ter sido as da planta toda, as dos ramos superiores, inferiores ou metade dos ramos, não apresentavam a doença.

Os dados apresentados no Quadro 2 demonstram que o extrato concentrado dos metabólitos de *B. subtilis* [GPLA(13)12], não apresenta ação sistêmica nas direções ascendente, descendente e lateral.

Quadro 2. Potencial sistêmico de extratos de *Bacillus subtilis* em cafeeiro para o controle da ferrugem.

Tratamento	Folhas lesionadas (%)	
	Tratadas ¹	Não tratadas ²
Testemunha	-	96,54
GPLA(13)12-planta toda	0,00	-
GPLA(13)12-metade dos ramos	0,00	81,94
GPLA(13)12-ramos inferiores	0,00	91,43
GPLA(13)12-ramos superiores	0,00	89,33

¹ Folhas que foram pulverizadas com o extrato GPLA(13)12 na concentração de 10000 ppm.

² Folhas não pulverizadas.

Efeito do caldo onde *B. subtilis* foi multiplicado no controle da ferrugem do cafeeiro. A pulverização do caldo contendo 5% do resíduo da fermentação glutâmica do melaço, onde *B. subtilis* foi multiplicado por 15 dias em mudas da variedade Catuaf, na concentração de 10%, controlou a ferrugem acima de 95% quando avaliada a porcentagem de folhas lesionadas e o número de lesões por folha (Quadro 3). E, com o aumento da concentração ocorreu maior controle da doença. Mesmo na maior concentração não foi verificada fitotoxicidade aparente. Essas informações são importantes porque podem viabilizar a aplicação do meio fermentado por *B. subtilis* para controlar a doença e dependendo do meio servir como adubo foliar para a cultura.

Quadro 3. Efeito do caldo¹ fermentado por *Bacillus subtilis* (isolado AP-3) no controle da ferrugem do cafeeiro.

Conc. do caldo (%)	Folhas lesionadas (%)	Controle ³ (%)	Nº de lesões/folha	Nº de lesões/folha lesionada
0	50,72 a ²	—	3,22 a	5,69 a
10	2,91 b	94,3	0,13 b	2,08 ab
25	0,46 b	99,1	0,004 b	0,25 b
50	0,56 b	98,9	0,005 b	0,25 b
100	0,00 b	100,0	0,00 b	0,00 b

¹ Caldo — meio contendo 5% do resíduo da fermentação glutâmica do melaço fermentado por *B. subtilis* por 15 dias.

² Para análise estatística os dados foram transformados em $\text{arc sen } \sqrt{x + 0,5/100}$. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si (Tukey 5%).

³ % de controle baseada na % de folhas lesionadas.

LITERATURA CITADA

- BAKER, C.J.; STAVELY, J.R.; THOMAS, C.A.; SASSER, M.; MACFALL, J.S. Inhibitory effect of *Bacillus subtilis* on *Uromyces phaseoli* and on development of rust pustules on bean leaves *Phaseolus vulgaris*. *Phytopathology*, St. Paul, v.73, 1148-1152, 1983.
- BAKER, C.J.; STAVELY, J.R.; MOCK, N. Biocontrol of bean rust by *Bacillus subtilis* under field conditions. *Plant Disease*, St. Paul, v.69, p.770-772, 1985.
- BETTIOL, W.; KIMATI, H. Efeito de *Bacillus subtilis* sobre *Pyricularia oryzae* agente causal da brusone do arroz. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.25, p.1165-1174, 1990.
- BETTIOL, W.; VARZEA, V.M.P. Controle biológico da ferrugem (*Hemileia vastatrix*) do cafeeiro com *Bacillus subtilis* em condições controladas. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.17, p.91-95, 1992.
- BETTIOL, W.; BRANDÃO, M.S.B.; SAITO, M. Controle da ferrugem do feijoeiro com extratos e células formuladas de *Bacillus subtilis*. *Summa Phytopathologica*, Jaguariúna, v.18, p.153-159, 1992.
- CENTURION, M.A.P.C. Controle biológico da ferrugem (*Uromyces phaseoli*) do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*). In: BETTIOL, W., org. *Controle biológico de doenças de plantas*. Jaguariúna: EMBRAPA/CNPDA, 1991. p.365-382.
- DOHERTY, M.A.; PREECE, T.F. *Bacillus cereus* prevents germination of uredospores of *Puccinia allii* and development of rust disease of leek, *Allium porrum* in controlled environments. *Physiological Plant Pathology*, Orlando, v.12, p.123-132, 1978.
- ESKES, A.B.; MENDES, M.D.L.; ROBBS, C.F. Laboratory and field studies on parasitism of *Hemileia vastatrix* with *Verticillium lecanii* and *V. leptobactrum*. *Café Cacao Thé*, Paris, v.34, n.4, oct. dez., 1991.
- FULTON, R.H. Chemical control of coffee leaf in Central America. In: FULTON, R.H., ed. *Coffee rust in the America*. St. Paul: American Phytopathological Society, 1984. p.57-83.
- KLICH, M.A.; LAX, A.R.; LAND, J.M. Inhibition of some mycotoxicogenic fungi by iturin A, a peptidolipid produced by *Bacillus subtilis*. *Mycopathologia*, Dordrecht, v.116, p.77-80, 1991.
- MARTINS, E.M.F.; BERETTA, M.J.G.; ROVERATTI, D.S.; MORAES, W.B.C. Comparative induced protection to *Hemileia vastatrix* in coffee plants by non-specific inducers from different fungal and bacterial origins. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.10, n.3, p.521-529, 1985.
- MCKEEN, C.D.; REILLY, C.C.; PUSEY, P.L. Production and partial characterization of antifungal substances antagonistic to *Monilinia fructicola*. *Phytopathology*, St. Paul, v.76, p.136-139, 1986.
- MENDGEN, K.; FROMMER, W.; SEWIFY, G. Use of *Verticillium lecanii* for biological control. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF PLANT PATHOLOGY, 5, Kyoto, 1988. Abstracts. Kyoto (Japan), p.114, 1988.
- MIZUBUTI, E.S.G. Controle da ferrugem do feijoeiro com *Bacillus subtilis*. Viçosa, UFV, 1992. 87p. (Tese Mestrado).
- MORGAN, F.L. Infection inhibition and germ-tube lysis of three cereal rusts by *Bacillus pumillus*. *Phytopathology*, St. Paul, v.53, p.1346-1348, 1963.
- PUSEY, P.L. Use of *Bacillus subtilis* and related organisms as biofungicides. *Pesticide Science*, London, v.27, p.133-140, 1989.
- PUSEY, P.L.; WILSON, C.L. Postharvest biological control of stone fruit brown rot by *Bacillus subtilis*. *Plant Disease*, St. Paul, v.68, p.753-756, 1984.
- PUSEY, P.L.; WILSON, C.L.; HOTCHKISS, M.W.; FRANKLIN, J.D. Compatibility of *Bacillus subtilis* for postharvest control of peach brown rot with commercial fruit waxes, dicloran, and cold-storage conditions. *Plant Disease*, St. Paul, v.70, p.587-590, 1986.
- RYTTER, J.L.; LUKEZIC, F.L.; CRAIG, R.; MOORMAN, G.W. Biological control of Geranium rust by *Bacillus subtilis*. *Phytopathology*, St. Paul, v.79, p.367-370, 1989.