Seleção de microrganismos endofíticos como agentes de biocontrole da ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix*).

Harllen S. A. Silva¹; João P. L. Tozzi²; César R. F. Terrasan³; Itamar S. Melo²; Wagner Bettiol².

¹Instituto Biológico, CP 70, 13001-970, Campinas/SP. E-mail: harllen@biologico.sp.gov.br; ²Embrapa Meio Ambiente, CP 69, 13820-000, Jaguariúna/SP. ³UNESP, C.P. 199, 13506-900, Rio Claro/SP.

Isolados de bactérias (216) e de fungos (17) endofíticos do cafeeiro foram submetidos a ensaios para seleção de agentes de biocontrole da ferrugem. Na primeira etapa, sobre a face abaxial de discos de folhas (cv. Mundo Novo), com 2,0 cm de diâmetro, aplicaram-se os endófitas bacterianos com 24 horas de crescimento e concentração ajustada para 108 ufc mL-1. Para os fungos, uma suspensão de 10⁶ esporos mL⁻¹ foi preparada quando houve esporulação do isolado. Na ausência de esporos, preparou-se uma suspensão de micélio triturado, ajustada para $OD_{540} = 0.5$. Os endófitas foram aplicados 72 e 24 horas antes e após a inoculação com urediniosporos do patógeno (1 mg mL⁻¹), e simultaneamente à inoculação. Alíquotas de 25 μL foram aplicadas sobre os discos, tanto dos endofíticos quanto do patógeno. Os discos foram acondicionados sobre espuma umedecida, em bandejas, e tampadas com lâmina de vidro (12 h de luz, 22 °C e UR 100%). O delineamento foi inteiramente casualizado com três repetições por isolado e com quatro discos para cada intervalo de aplicação. A avaliação foi realizada 25 dias após a inoculação por meio de escala de notas (0 a 5, de acordo com a % de área lesionada do disco). O teste Scott-Knott (5%) foi empregado para a comparação das médias. Os endófitas de melhor desempenho foram os isolados bacterianos: 3F, 14F, 36F, 109G, 115G, 116G, 119G, 123G e 137G, aplicados nos intervalos de 72 e 24 horas antes da inoculação. Esses isolados foram selecionados e utilizados no ensaio com mudas de café sadias com sete pares de folhas expandidas (cerca de oito meses de idade). Os endofíticos foram introduzidos 72 e 24 horas antes e simultaneamente à inoculação do patógeno por pulverização de suspensão de células. A inoculação deu-se via suspensão de urediniosporos a 2,0 mg mL⁻¹ e, após, as plantas permaneceram em câmara de crescimento, no escuro, por 24 horas, sob condições controladas (22 °C ± 2, UR ≈ 100%) e a seguir foram transferidas para casa de vegetação. Decorridos 25 dias realizaram-se contagens de pústulas, "flecks" e de folhas por planta e estimou-se o número de lesões/folha. O delineamento foi inteiramente casualizado com seis repetições (vasos com duas plantas) por tratamento e plantas onde apenas pulverizou-se água compuseram o controle. As médias foram comparadas pelo teste Tukey (5%). Os melhores níveis de controle foram obtidos quando da aplicação dos endófitas 72 horas antes da inoculação. O isolado 119G foi o que proporcionou o maior nível de controle (média de 0,27 lesão/folha, comparado ao controle com 2,47 lesões/folha).